



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
DIRECCION DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA EN MECÁNICA Y CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
EN AGRICULTURA TROPICAL SOSTENIBLE**

**TRANSMISIÓN DEL VIRUS DEL MOSAICO (ScMV) EN EL CULTIVO
DE CAÑA DE AZÚCAR EN ECUADOR**

Por

REINA CONCEPCIÓN MEDINA LITARDO

**Guayaquil, Ecuador
2004**





**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
DIRECCION DE POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERIA MECANICA Y CIENCIAS DE LA
PRODUCCION.**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN EDUCACION E
INVESTIGACION EN AGRICULTURA TROPICAL SOSTENIBLE.**

Rectores:

Dr. M.Sc. Carlos Cedeño Navarrete U.G.

Dr. Moisés Tagle Galárraga ESPOL

Director Posgrado U.G.

Econ. M.Sc. Washington Aguirre

Decanos:

Ing. José Cuenca Vargas Facultad CCNN – U.G.

M.Sc. Eduardo Rivadeneira Pazmiño FIMCP- ESPOL

Director Maestría

Dr. Wilson Pozo Guerrero

Directora Académica

Dra. Carmen Triviño Gilces

Queda prohibida la reproducción o transmisión total o parcial del contenido de la presente obra en cualquier forma, sea electrónica o mecánica, sin el consentimiento previo del autor.

Ing. Reina Concepción Medina Litardo

E- mail: recomely@yahoo.com

Maestría en Ciencias en Agricultura Tropical Sostenible

www.fccnn@ug.edu.ec Telf.: 042494270

Guayaquil.- Ecuador





**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
DIRECCION DE POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERIA MECANICA Y CIENCIAS DE LA
PRODUCCION.**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN EDUCACION E
INVESTIGACION EN AGRICULTURA TROPICAL SOSTENIBLE.**

Rectores:

Dr. M.Sc. Carlos Cedeño Navarrete **U.G.**

Dr. Moisés Tagle Galárraga **ESPOL**

Director Posgrado U.G.

Econ. M.Sc. Washington Aguirre

Decanos:

Ing. José Cuenca Vargas **Facultad CCNN – U.G.**

M.Sc. Eduardo Rivadeneira Pazmiño **FIMCP- ESPOL**

Director Maestría

Dr. Wilson Pozo Guerrero

Directora Académica

Dra. Carmen Triviño Gilces

Queda prohibida la reproducción o transmisión total o parcial del contenido de la presente obra en cualquier forma, sea electrónica o mecánica, sin el consentimiento previo del autor.

Ing. Reina Concepción Medina Litardo

E- mail: recomely@yahoo.com

Maestría en Ciencias en Agricultura Tropical Sostenible

www.fccnn@ug.edu.ec Telf.: 042494270

Guayaquil.- Ecuador





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN

PROGRAMA DE MAESTRÍA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
EN AGRICULTURA TROPICAL SOSTENIBLE

TRANSMISIÓN DEL VIRUS DEL MOSAICO (ScMV) EN EL CULTIVO
DE CAÑA DE AZÚCAR EN ECUADOR

Por
REINA CONCEPCIÓN MEDINA LITARDO

Esta Tesis fue aceptada en su presente forma por el Comité Consejero y el Consejo Asesor del Programa de Educación e Investigación en Agricultura Tropical Sostenible de la Universidad de Guayaquil, como requisito parcial para optar al grado de:

Magíster en Ciencias con énfasis en la Agricultura Tropical Sostenible

COMITÉ CONSEJERO

Freddy Garcés Obando (M.Sc)

Jorge Mendoza Mora (M.Sc)

CONSEJO ASESOR

Carmen Triviño Gilces (Ph.D)

Gilberto Páez Bogarín (Ph.D)

Wilson Pozo Guerrero (Ph.D. Candidate)

Guayaquil, Ecuador
2004



DEDICATORIA

A Díos, por su benevolencia y generosidad de iluminar con sabiduría mis criterios para realizar esta investigación.

CIB "GONZALO ZEVALLA" E.I.M.C.P
CONTROL DE INVENTARIOS DE LIBROS.

Inventario: D-65756

Clasificación: _____
Título: Trascurran del Viento del momento

Autor: Reino Concepción Pedraza Litardo
Fecha de Ingreso: 29/05/09

Precio: 110
Especialización: Monte Carmel - F.M.C.P. Espol

Observaciones: _____


Coord. CIBGZ

...stante e inmensurable amor, apoyo y ternura son un pilar fundamental de mi vida.

...en a su corta edad me recordaba la

...regio este esfuerzo como ejemplo en el

...ión se socialice y abra sus puertas a los talentos.

DEDICATORIA

A Dios, por su benevolencia y generosidad de iluminar con sabiduría mis criterios para realizar esta investigación

A mis padres, Sabino y Pabla por su constante e inmensurable amor, apoyo y comprensión, quienes con humildad ya entereza son un pilar fundamental de ejemplo, esfuerzo y voluntad en la formación de mi vida.

A la memoria de mi hermana Rosita, quien a su corta edad me recordaba la ternura para soportar la dureza de la vida.

A mis hermanos, sobrinas y sobrinos, les entrego este esfuerzo como ejemplo en el logro de las metas que uno se propone

Como un comentario final: Que la investigación se socialice y abra sus puertas a los pobres para evitar la pérdida despiadada de talentos.

AGRADECIMIENTO A:

Al M.Sc. Dr. Carlos Cedeño Navarrete rector de la Universidad de Guayaquil por su invaluable y fructífera labor talentosa de orientar y apoyar los programas de educación universitaria de cuarto nivel

Al Dr. Wilson Pozo Guerrero, coordinador del programa de Maestría de la Universidad de Guayaquil y Facultad de Ciencias Naturales, por la gestión eficiente y positiva en beneficio académico de los maestrantes del ciclo 2002 – 2004.

A los Directivos del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), por el aporte decidido y valioso en la investigación aplicada y permitir que transparentemente el Ecuador se ubique al nivel de los Países con respaldo científico en el manejo sostenible de la caña de azúcar

A los directivos del Instituto Tecnológico Agropecuario de Vinces de la Universidad de Guayaquil

Al Ing. Agr. M.Sc. Freddy Garcés Obando, Jefe Fitopatología del CINCAE y Director de Tesis, por su asistencia, dirección técnica y ayuda generosa que de manera espontánea recibí durante la elaboración de este trabajo de investigación.

Al Ing. Agr. M.Sc. Jorge Mendoza, Jefe Entomología del CINCAE y Codirector de Tesis, por sus ideas, apoyo y colaboración en el mejoramiento del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Agr. M.Sc. Edison Silva Fitomejorador del CINCAE, por sus comentarios que fueron un positivo aporte en lo concerniente a la estadística

Al Ing. Agr. Galo Salcedo Rosales, Coordinador de la Unidad de Centros de Clases de Prácticas Integradas, del Instituto Tecnológico Agropecuario de Vinces por su solidaridad y su colaboración en la realización de esta experimentación.

A la Blga. Carmen Valladares por su ayuda y colaboración, demostrando solidaridad.

Al técnico Geovanny Quiridumbay por su valiosa ayuda en la ejecución de labores agrícolas.

A mi amiga Ing. Zaira López por su ayuda y solidaridad.

A mis compañeros y amigos de la maestría, Eloy Orellana y Carmen Muñoz por compartir los trabajos en grupo y en todo lo concerniente al desarrollo de la maestría.

A mi amigo Thomas Carriel quién me ayudo a darle formato a este trabajo

A Todos y cada una de las personas, que de una u otra manera apoyaron, en la culminación de esta investigación

BIOGRAFÍA

Reina Concepción Medina Litardo nació en Vinces provincia de Los Ríos el 6 de enero de 1978 realizó sus estudios primarios en su ciudad natal, se graduó de bachiller en físico - matemático en el colegio de señoritas Vinces de la misma ciudad. Recibió el título de Tecnólogo en Banano y Frutas Tropicales en el Instituto de Vinces de la Universidad de Guayaquil en el año 1999 y obtuvo el título de ingeniera agrónoma en el año 2003 de la misma universidad.

Realizo su estudios de Posgrado en Agricultura Tropical Sostenible 2002-2004 de la Universidad de Guayaquil en alianza con Escuela Superior Politécnica del Litoral, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) Universidad Jaume I de España, realizando su tesis de maestría en el Centro de Investigación de la Caña de azúcar (CINCAE) por espacio de dos y medio. Defendió su tesis de grado en Noviembre del 2004.

Sus inicios laborables fueron en la hacienda Agrícola del Rin (1999) hacienda Santa Rita (2001) y la hacienda Clementina (2002) en calidad de asesor técnico.

En la actualidad se desempeña como docente, en las cátedras de Prácticas de cultivo de banano, uva y caña de azúcar y Laboratorio de Nutrición Agrícola en el Instituto de Vinces de la Universidad de Guayaquil.

Ha recibido varios premios como Premio Accesit al Contenta de la Universidad de Guayaquil por haber obtenido las más altas calificaciones (2002-2003) Diploma de la Universidad de Guayaquil e Instituto Tecnológico Agropecuario de Vinces como Mejor Egresada de la Carrera de Ingeniería Agronómica (2001-2002) y mención como a la mejor estudiante años 1998, 1999 y 2001 que otorga la Benemérita Sociedad Filantrópica del Guayas.

e-mail:recomely@yahoo.com.

ÍNDICE

<u>CONTENIDO</u>	<u>Página</u>
Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Biografía	v
Índice	vi
Resumen	ix
Summary	xi
Lista de cuadros	xii
Lista de figuras	xiv
Lista de anexos	xvi
	Tema
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	4
1.1.1. General:	4
1.1.2. Específicos:	4
1.2. Hipótesis:	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. Sintomatología de la enfermedad	6
2.2. Importancia de la enfermedad	7
2.2.1. Distribución e incidencia	7
2.2.2. Efecto en la producción	8
2.3. Agente causal	9
2.3.1. Clasificación	9
2.3.2. Característica	9
2.3.3. Razas	10
2.4. Diagnostico	11
2.5. Transmisión del virus del mosaico	12
2.5.1. Transmisión por vectores	12
2.5.1.1. Relaciones entre el virus del mosaico y sus vectores	14

2.5.1.2. Descripción, ciclo biológico y hábitos de los áfidos del cultivo de caña y <i>P. saccharicida</i>	16
3.5.2. Transmisión mecánica	17
3.6. Epidemiología	18
3.7. Resistencia	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Localización	23
3.2. Materiales y equipos	23
3.3. Establecimiento y mantenimiento de colonias	24
3.4. Obtención de plantas sanas y enfermas.	29
3.5. Bioensayo Transmisión del virus por insectos asociados al cultivo la caña de Azúcar.	30
3.5.1. Bioensayo de periodos óptimo de ayuno de <i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch)	32
3.5.2. Bioensayo de periodo de acceso a la adquisición del virus ScMV por <i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch)	33
3.5.3. Bioensayo de periodo acceso a la inoculación del virus ScMV por <i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch)	34
3.6. Preferencia del vector	34
3.7. Reacción de 220 variedades del banco de germoplasma, al virus del mosaico.	37
3.7.1. Preparación y siembra del material vegetativo	37
3.7.2. Preparación y método de inoculación	37
3.7.3. Manejo del experimento	39
3.8. Evaluación de experimentos	39
3.8.1. Bioensayos de transmisión de ScMV	39
3.8.2. Reacción de 220 variedades	41
3.9. Análisis estadístico	42
3.9.1. Bioensayo de transmisión de ScMV por <i>M.</i> <i>sacchari</i> , <i>S. flava</i> , <i>R. maidis</i> y <i>P. saccharicida</i>	42

3.9.2.	Bioensayos de Ayuno, Adquisición e inoculación	43
3.9.3.	Bioensayo de preferencia	45
3.9.4.	Bioensayo de reacción de 220 variedades	46
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1.	Capacidad de transmisión del virus del mosaico de caña de azúcar (ScMV) por <i>Melanaphis sacchari</i> (Zehntner), <i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch), <i>Perkinsiella saccharicida</i> (Kirkaldy) y <i>Sipha flava</i> (Forbes), en Ecuador.	48
4.1.1.	Establecimiento y mantenimiento de colonias	48
4.1.2.	Evaluación de plantas sanas y enfermas para la transmisión	48
4.1.3.	Bioensayo de transmisión del virus ScMV por insectos asociados al cultivo de la caña de azúcar.	50
4.1.4.	Periodos de ayuno del vector	52
4.1.5.	Periodos de adquisición del virus	53
4.1.6.	Periodos de Inoculación del virus	55
4.2.	Preferencia del vector en materiales de caña de azúcar.	56
4.2.1.	Preferencia del vector <i>R. maidis</i> .	56
4.3.	Grado de resistencia de las variedades de caña de azúcar al ScMV.	58
4.3.1.	Reacción de 220 variedades de caña de azúcar al virus ScMV.	58
5.	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN	62
5.1.	Conclusiones:	62
5.2.	Recomendaciones:	62
6.	BIBLIOGRAFÍA	63
7.	ANEXOS	69

RESUMEN

En Ecuador, uno de las principales enfermedades de la caña de azúcar es el mosaico común ScMV-Potyvirus, el cual ha causado disminución en la producción hasta del 50%, en condiciones experimentales. El programa de mejoramiento genético del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE) ha llegado a eliminar hasta el 40% de las plántulas en el Estado I de selección.

Existen tres insectos asociados al cultivo de la caña de azúcar, el áfido blanco, *Melanaphis sacchari*, el áfido negro del maíz *Rhopalosiphum maidis* y el pulgón amarillo *Sipha flava*, con los cuales fue necesario determinar bajo muestras condiciones, su capacidad de transmisión y preferencia varietal, con el fin de entender mejor la relación del virus su vector y el hospedero. Por otro lado para detectar germoplasma resistente al virus del mosaico, se determinó el grado de resistencia al ScMV de 220 variedades de caña de azúcar presentes en la Colección Universal del CINCAE, mediante la inoculación mecánica y evaluación en terraza y campo.

Se demostró que los insectos *M. sacchri*, *S. flava*, y *P. sacharicida*, no transmiten virus del mosaico, pero si lo realiza el áfido negro de maíz, *R. maidis*, presentándose en el 75% de plantas sometidos a la prueba inicial de transmisión. Se determinó que el período óptimo de ayuno del insecto fue de 120 minutos; el de acceso a la adquisición de 30 minutos; y el de acceso a la inoculación de 30 minutos, con un grupo de 30 individuos por planta bajo condiciones controladas.

En los clones evaluados, *R. maidis* presentó baja preferencia, estableciéndose especialmente en el clon ECSP98-392 con 10.5 áfidos promedio por planta.

De acuerdo a la prueba de transmisión mecánica, el 53.33% de las variedades en estudio calificaron como resistente, indicando que existen buenas fuentes de resistencia genética, útil para el programa de mejoramiento del CINCAE.

SUMMARY

One of the major virus diseases of sugarcane is the *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). Mosaic is found in fewer locations but, when present, yield losses can reach 1.14 tons of cane/ha per 1% incidence. Experiments were conducted to identify insect vectors of SCMV in Ecuador, and to determine optimal acquisition times of viruses by insects and vector preference. Seven ECSP selected sugarcane clones and four commercial varieties were used to determine the insect vector variety preference. The virus transmission was verified by tissue blot immunoassay (TBIA) and dot-blot immunoassay (DBIA). Additionally, screening for mosaic resistance was performed by mechanical inoculation with the CINCAE sugarcane variety collection.

SCMV was transmitted by the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis* Fitsh, but not by the yellow sugarcane aphid, *Sipha flava* Forbis, or *P. saccharicida*. Efficient transmission of SCMV by *R. maidis* was obtained with 120 minutes for virus ingestion from the host plant, 30 minutes for insect fasting period and 30 minutes for the inoculation access period. *R. maidis* showed low preference, the clone ECSP98-392 was colonized by *R. maidis*, with 10.5 aphids per plant.

Sixty days after mechanical inoculation, 53.3% of sugarcane varieties from the CINCAE collection were ranked resistant to SCMV. Promising parental clones are therefore available for the breeding program of CINCAE.

Keywords: Transmission, *Potyvirus*, *Polerovirus*, *Saccharum* sp., DBIA, TBIA.

LISTA DE CUADROS

<u>CONTENIDO</u>	<u>Página</u>
Cuadro 1 Escala de evaluación de Huttehinson.	22
Cuadro 2 Tratamientos para cada bioensayo de transmisión de ayuno, acceso a la adquisición y acceso a la inoculación.	44
Cuadro 3 Análisis de la varianza del ensayo de transmisión del ScMV por insectos vectores. CINCAE, 2004.	50
Cuadro 4 Comparación de medias del ensayo de transmisión del ScMV por insectos vectores. CINCAE, 2004.	51
Cuadro 5 Análisis de la varianza del ensayo período de ayuno del insecto vector. CINCAE, 2004.	52
Cuadro 6 Comparación de medias del ensayo de ayuno del insecto vector. CINCAE, 2004.	53
Cuadro 7 Análisis de la varianza del ensayo de acceso a la adquisición del insecto vector. CINCAE, 2004.	54
Cuadro 8 Comparación de medias del ensayo de acceso a la adquisición del insecto vector. CINCAE, 2004.	54
Cuadro 9 Análisis de la varianza del ensayo de acceso a la inoculación del insecto vector. CINCAE, 2004.	55
Cuadro 10 Comparación de medias del ensayo de acceso a la inoculación del insecto vector. CINCAE, 2004.	56
Cuadro 11 Análisis de la varianza de la prueba de preferencia del insecto vector. CINCAE, 2004.	57
Cuadro 12 Comparación de medias del ensayo de preferencia del insecto vector. CINCAE, 2004.	57
Cuadro 13 Andeva de Ládice Rectangular. CINCAE, 2004.	59
Cuadro 14 Andeva de Parcelas Divididas. CINCAE, 2004.	60
Cuadro 15 Comparación de medias de las evaluaciones realizadas en el campo. CINCAE, 2004.	60

Cuadro 16 Calificación a los 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 ddi de acuerdo a la escala de Huttchinson de las 220 variedades de colección universal. CINCAE, 2004.

61

LISTA DE FIGURAS

<u>CONTENIDO</u>	<u>Página</u>
Figura 1 Metodologías utilizadas para el establecimiento y mantenimiento de las colonias de <i>M. sacchari</i> , <i>S. flava</i> y <i>R. maidis</i> . CINCAE, 2004.	26
Figura 2 Metodología utilizadas para el establecimiento y mantenimiento de la colonia de <i>P. saccharicida</i> CINCAE, 2004	28
Figura 3 Material vegetativo sembrado sobre sustrato de ceniza en vasos de icopor. CINCAE, 2004.	30
Figura 4 Alimentación de <i>S. flava</i> (a), <i>M. sacchari</i> (b) <i>R. maidis</i> (c) y <i>P. saccharicida</i> (d) virulífero en plántulas sanas. Cilindros entomológicos en los cuales se evito contaminación en las pruebas, con <i>P. saccharicida</i> (e) y, <i>S. flava</i> <i>M. saachari</i> y <i>R.maidis</i> , en plantas de la variedad B74-132 (f).CINCAE, 2004.	30
Figura 5 Técnicas serológicas Tissue-Blot inmuno assay (der) y Dot inmuno assay (izq). CINCAE.2004.	31
Figura 7 Metodología utilizada para prueba de preferencia de <i>R. maidis</i> . CINCAE, 2004.	35
Figura 6 Esquema de las diferentes fases en el proceso de transmisión del ScMV por <i>R. maidis</i> y <i>P. saccharicida</i> . CINCAE, 2004.	36
Figura 8 Ubicación de las 220 variedades inoculadas con el virus del mosaico, en las camas de germinación. CINCAE, 2004.	39
Figura 9 Síntomas característicos de mosaico asociado con el ScMV en el campo. CINCAE, 2004.	40
Figura 10 Toma de datos en el campo, contando el número de tallos sanos y enfermos. CINCAE, 2004	41

- Figura 11** A: Der. Adulto de *M. sacchari* y Izq. *S. flava*. B: Colonia establecidas bajo condiciones de invernadero. CINCAE, 2004. 48
- Figura 12** Izq. Colonia establecidas bajo condiciones de invernadero, Der. Adulto de *R. maidis*. CINCAE, 2004 49
- Figura 13** Adultos de *P. saccharicida* establecidos bajo condiciones de invernadero CINCAE, 2004. 49

LISTA DE ANEXOS

<u>CONTENIDO</u>	<u>Página</u>
Anexo 1 Matriz de decisión para metodología de establecimiento de colonias de <i>M. sacchari</i> , <i>S. fiaba</i> . CINCAE, 2004	
Anexo 2 Matriz de decisión para metodología de establecimiento de colonias de <i>R. maidis</i> . CINCAE, 2004	
Anexo 3 Matriz de decisión para metodología de establecimiento de colonias de <i>R. maidis</i> . CINCAE, 2004	
Cuadro 4A Resultado de diagnóstico de la transmisión de ScMV por <i>S. flava</i> , <i>M. sacchari</i> , <i>R. maidis</i> y <i>P. saccharicida</i> (30, 60 y 90 días después de la transmisión).CINCAE, 2004.	
Cuadro 6A Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de ayuno de ScMV por <i>R. maidis</i> (30, 60 días después de la transmisión). CINCAE, 2004.	
Cuadro 8A Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de acceso a la adquisición de ScMV por <i>R. maidis</i> (30, 60 días después de la transmisión). CINCAE, 2004	
Cuadro 10A Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de acceso a la inoculación de ScMV por <i>R. maidis</i> (30, 60 días después de la transmisión).CINCAE, 2004.	
Anexo 4. Clasificación de las variedades en estudio de acuerdo a su origen. CINCAE, 2004	

- Anexo 5.** Reacción de las diferentes variedades en estudio al virus del mosaico, durante diferentes tiempos de evaluación. CINCAE, 2004.
- Anexo 6** Calificación de la reacción mosaico de las 220 variedades CINCAE, 2004.

1. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es un cultivo de gran importancia en el ámbito mundial por la gran demanda de materia prima para su industrialización, ya que a partir de ella se obtiene el 70% del azúcar comercial. Anualmente, la producción se disminuye hasta en un 30% a consecuencia de los ataques virales, lo que representa una gran pérdida para los cañicultores (Castillón, 2000).

De acuerdo al SICA (2004) la contribución de este cultivo al producto interno es del 1.4 % y con relación al PIB agrícola es del 12%, lo que determina que es uno de los rubros agrícolas que más aporta divisas al País.

En los últimos años, se ha dado una integración vertical cada vez más significativa del sector, convirtiéndose en una de las agroindustrias más relevantes de la Nación. En época de zafra laboran 30.000 personas directamente y 80.000 indirectamente, que representan el 9 por ciento de la población económicamente activa del sector agropecuario (SICA, 2004).

Uno de los factores que afecta considerablemente la producción del cultivo de caña son las enfermedades. Entre los agentes causales de dicho problema se ha registrado la presencia de los siguientes virus: mosaico de la caña de azúcar (ScMV); el virus de la hoja amarilla (ScYLV), y el baciliforme de la caña de azúcar (ScBV).

Además, cabe resaltar que síntomas asociados con el mosaico común, han sido observados en diferentes variedades de manera aislada, entre ellas la Ragnar (sembrada en un 80% de toda el área), desconociéndose cuales han sido los vectores que han transmitido la enfermedad en el campo (Garcés, 2000).

En el Ecuador, el virus del mosaico común (ScMV) es considerado como una de las enfermedades importantes en la caña de azúcar. Los efectos negativos son económicos y sociales, que se pueden expresar en bajas producciones, contaminación por pesticidas y baja de los salarios, reduciendo la fuerza laboral.

Con criterio sustentable, Koike y Guillaspie (1989), sostienen que las pérdidas causadas por el mosaico de la caña de azúcar (ScMV) difieren en función de la variedad sembrada, de las variantes (serogrupos) del virus presente en la zona, de la interacción de la enfermedad con la población vectora, fertilidad del suelo, incidencia de la enfermedad y la presencia de otras enfermedades, con disminución de la cosecha hasta del 86%. En Ecuador, de acuerdo con Garcés (2000) en evaluaciones realizadas en el CINCAE, se presentaron disminuciones en la producción de 1,14 y 0,15 toneladas en B76-78 y B74-132 respectivamente, por cada 1% de infección del virus, indicando la susceptibilidad diferencial por variedad y el efecto que puede causar bajo nuestras condiciones agro ecológicas.

Existen diversos medios de diseminación del virus del mosaico de la caña de azúcar (ScMV) y los insectos se encuentran como unos de los principales. La forma de reproducción vegetativa facilita la diseminación de este patógeno sistémico en extensas áreas de cultivo, como ha ocurrido con la variedad B74-132, sembrada en el Ingenio San Carlos, la cual dejó de multiplicarse.

En el programa de mejoramiento, la importancia de este virus ha aumentado debido a que desde el año 1998 la eliminación de los clones susceptibles del estado I de selección pasó de 0.05% al 40% en el 2003, probablemente debido a una menor fuente de resistencia genética presente en los progenitores.

En el Ecuador existe la presencia de varias especies de áfidos, registrados como transmisores de virus, entre los cuales están el áfido blanco, *Melanaphis sacchari* (Zehntner), el áfido negro del maíz *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) y el pulgón amarillo *Sipha flava* (Forbes), a los cuales es necesario determinar bajo nuestras condiciones, la capacidad de transmisión, con el fin de puntualizar mejor la relación del virus con el vector y el hospedero.

En Ecuador, no se han realizado evaluaciones que determinen cual o cuales son los vectores, así como la eficiencia de transmisión y existencia de fuentes de germoplasma resistentes, por lo que el presente trabajo espera dilucidar dichos aspectos, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

Objetivos

1.1.1. General

- Estudiar la epidemiología del virus del mosaico de la caña de azúcar en Ecuador.

1.1.2. Específicos

- Determinar la capacidad de transmisión del virus del mosaico de caña de azúcar (ScMV) por *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Perkinsiella saccharicida* (Kirkaldy) y *Sipha flava* (Forbes), en Ecuador.
- Determinar el grado de preferencia del vector hacia cuatro variedades comerciales y siete ECSP del CINCAE.
- Evaluar el grado de resistencia al ScMV de las variedades de caña de azúcar presentes en la Colección Universal del CINCAE.

1.2. Hipótesis

- El áfido *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) en el Ecuador, es un vector que transmite el virus del mosaico de la caña de azúcar.
- *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Sipha flava* (Forbes) y *Perkinsiella saccharicida* (Kirkaldy), son vectores del mosaico de la caña de azúcar.
- Existe germoplasma promisorio en el CINCAE que es resistente al virus del mosaico de la caña de azúcar.

- Existe baja preferencia del insecto vector del virus del mosaico de la caña de azúcar (ScMV), hacia diferentes variedades de caña de azúcar.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Sintomatología de la enfermedad

Los síntomas característicos del mosaico de la caña son la presencia de áreas cloróticas o ligeramente coloreadas en las hojas; algunas veces esas partes se transforman en rayas o manchas irregulares rodeadas por áreas verdes normales. Los síntomas externos clásicos del mosaico son el resultado de una distribución irregular de la clorofila en las partes verdes de la planta. El más típico consiste en la presencia de zonas cloróticas alargadas en las hojas, ligeramente coloreadas, en forma de rayas irregulares rodeadas de tejido sano, de color verde normal; en algunas ocasiones sólo unas cuantas rayas que van del verde pálido amarillento al verde oscuro (Koike y Guillaspie, 1989).

De acuerdo con Grisham (2000) la intensidad de los síntomas varía con la variedad, condiciones de crecimiento, temperatura y razas del virus. Las áreas cloróticas son más evidentes en el tercio basal de las hojas jóvenes en rápido crecimiento. En hojas maduras los síntomas tienden a desaparecer. Los síntomas crónicos se pueden extender a la vaina de la hoja, especialmente en las cañas nobles.

Los síntomas también se manifiestan causando enanismo a las plantas, disminución del grosor de los tallos y paralización del crecimiento. En variedades muy susceptibles a la enfermedad aparecen síntomas secundarios en los tallos como presencia de estrías, acortamiento de los entrenudos y la aparición de lalas al paralizarse el crecimiento apical. También dependiendo de los factores como variedades, condiciones de clima, temperatura, precipitación, altitud y raza de virus, los síntomas pueden llegar a desaparecer debido a un fenómeno de recuperación aparente (enmascaramiento). Sin embargo, si la variedad que es afectada por el virus se traslada a una zona de condiciones adecuadas para su

desarrollo y se somete a condiciones de estrés, los síntomas de la enfermedad se presentarán de nuevo (Alfaro, 1995).

Las plantas afectadas son severamente atrofiadas con una apariencia generalmente amarilla, a menudo mueren o suspenden su crecimiento dejando grandes parches descubiertas en el campo. En invernadero, a temperatura de 25 a 30°C las plantas afectada se presentan cloróticas con estrías en todas las partes, siendo estas estrías largas, anchas y visibles en algunas vainas de la hoja (Rott, *et al.*, 2000, citado por Grisham, 2000).

SCMV-B es la raza más predominante y la de mayor daño en el cultivo de la caña de azúcar. Produce en las hojas de las plantas infectadas un moteado severo con rayas finas, alargadas, cloróticas o blancas, las cuales varían en el grado de necrosis (Rea, *et al.*, 1994).

2.2. Importancia de la enfermedad

2.2.1. Distribución e incidencia

El virus del mosaico de la caña de azúcar se encuentra distribuido en todo el mundo. Sus numerosas variantes infectan al maíz, sorgo, pasto Johnson entre otras gramíneas; es uno de los miembros más antiguos de la familia Potyviridae y fue registrado por primera vez en 1919 desde los Estados Unidos por Brandes. Se comprendió la importancia de su naturaleza cuando fue introducido a Argentina desde Java a través de material vegetativo (Jean, *et al.*, 1998).

El mosaico de la caña de azúcar es una enfermedad que ha ocasionado la eliminación de las llamadas cañas nobles (*Saccharum officinarum* L.) cultivadas en diferentes partes del mundo en las primeras épocas de desarrollo de la industria azucarera. En Venezuela, la enfermedad causó

la desincorporación de cultivares híbridos como PR62-258, Co740, C 14-1223, V632 y H38-2915 (Rea *et al.*, 1994).

Garcés (2000) señala que la enfermedad fue observada por primera vez en Ecuador por Victoria (1990) en las variedades Q66, Q78 y CP72-1312 importadas de Centro América. En canteros comerciales y semilleros se han observado síntomas de mosaico con altas incidencias en las variedades B74-132 y Q96 y en focos aislados en B76-78, B73-16, PR67-1070 y Ragnar. Actualmente, la variedad B74-132, presentó comercialmente una incidencia del 28.69%, alcanzando niveles hasta el 52.66% (Garcés, 2003).

2.2.2. Efecto en la producción

De acuerdo a Rea *et al.* (1994) en estudios realizados en Brasil, entre 1971 y 1972, se encontró que el virus del mosaico de la caña de azúcar en clones tolerantes con un 100% de infección, produjo pérdidas de un 18% de la cosecha; mientras que, en clones susceptibles, con un 25% de infección produjo pérdidas de hasta un 75.5%.

En Ecuador, por cada 1% de incidencia el virus mosaico de la caña de azúcar en las variedades de B76-78 y B74-132, causó una disminución de 1.14 y 0.15 toneladas de caña respectivamente (Garcés, 2000).

Por otro lado, el mosaico en combinación con otras enfermedades, puede disminuir aun más el crecimiento y la producción que si actuaran separadamente (Grisham, 2000).

De acuerdo Alfaro (1995) el mosaico es la enfermedad virosa más importante que ataca a la caña de azúcar, causando un desarrollo caquético de los tallos debido a la disminución de la actividad fotosintética de las plantas afectadas, ya que el virus causa una

destrucción de los cloroplastos y con ello disminuye la cantidad de clorofila reduciendo el crecimiento de las plantas.

De acuerdo con Alfaro (1995) la permanencia de cultivares muy susceptibles al virus del mosaico puede ocasionar problemas indirectos tales como:

- Pérdida de tolerancia de las variedades que la poseen, debido a la alta presión de inóculo.
- Aumenta la posibilidad de que en un futuro aparezcan razas más severas del virus.
- Mayor dificultad para mantener libre de virus a las variedades susceptibles y de alta producción.
- Es una fuente para los insectos vectores.

2.3. Agente causal

2.3.1. Clasificación

De acuerdo con Jain *et al.* (1998) el virus del mosaico de la caña de azúcar pertenece al género de los Potyvirus de la familia Potyviridae; este potyvirus posee varios sinónimos como Grass mosaic virus, Maize dwarf mosaic virus (Persley, 1980).

2.3.2. Característica del virus del mosaico (SCMV).

Se caracteriza por presentar partículas de aspecto flexuosas y filamentosas, de unos 730-755 nm de longitud y 13 nm de ancho y compuestas de un tipo de polipéptidos de 28000 - 35000 Daltons constituidos de 264 -328 residuos de aminoácidos en una sola cadena (Jain *et al.*,1998).

Garrido y Trujillo (1988) indican que el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV), agente causal del mosaico de la caña de azúcar, es una partícula en forma de filamento flexuoso, de aproximadamente 750 nm de largo y 12,13 nm de ancho.

El ScMV tiene una densidad 13327 g/cm³ en CSLS, con un coeficiente de sedimentación de 148-176 S, con un punto de inactivación térmica de 50-60° C (Persley, 1980).

La partícula viral de los potyvirus está compuesta por una sola cadena de ARN de 9500 nucleótidos de sentido mensajero, rodeada por aproximadamente dos mil copias de la proteína de la cápsida viral (Martínez, 2001).

El ARN genómico de los potyvirus lleva unida covalentemente una proteína VPg en su extremo 5' y una cola de poliadenilada en el 3'. La molécula de RNA, probablemente varias proteínas, incluyendo la proteína de la capsida (Smith *et al.*, 1996).

El virión contiene un 94- 94.5% de proteína, con un tamaño de 34998 Da. De acuerdo a la citopatología del virión, este encuentra en el mesófilo, citoplasma y aparato de golgi (Persley, 1980).

2.3.3. Razas

De acuerdo con Shukla *et al.* (1992) citado por Viswanathan y Mohanraj (2001) el virus del mosaico ahora contienen las razas SCMV-A,-B,-D,-E y MDMV-B. Mientras que el virus mosaico del sorgo (SrMV) contiene las razas SCMV-H,-J y -M se ha demostrado que las razas A, B, y D son las más distribuidas mundialmente y que las razas H predominan en Louisiana. En Cuba se han reportado las razas A, B, y D con predominio de la segunda (Piñón, 1997).

De acuerdo con Jain *et al* (1998) y Victoria (1995) en Argentina se encuentra las razas B; en Colombia las razas A, B, C, D, E; en Puerto Rico las razas A, B, E; en México las razas B, E, D. Mientras que en Brasil se encuentra las razas A, B, J; en Jamaica las razas B; en Estados Unidos las razas A, B, C, D, E F, G, H, I, L, K, L, M; en Sur África las razas A, D, J y en Australia las razas A, J (Flores, 1997).

Entre los virus del mosaico de caña y sorgo, diferentes variantes se han identificado basadas en los síntomas de plantas indicadoras. Actualmente se usa una técnica molecular conocida como RT-PCR- FLP, gracias a esto se han agrupado en cuatro grupos así: Sugarcane mosaic virus (SCMV), Sorghum mosaic virus (SrMV), Johnsongrass mosaic virus (JGMV) y el maize dwarf mosaic virus (MDMV) (Viswanathan y Mohanraj, 2001).

2.4. Diagnóstico

La Elisa o la RT-PCR son usadas con poca frecuencia para el Diagnóstico rutinario en campo, pero han sido muy útiles para algunos clones de *S. spontaneum* en el cual los síntomas son difíciles de observar debido a que son hojas muy delgadas, o no se producen síntomas.

Las pruebas inmunológicas y las pruebas moleculares son útiles para certificar en cuarentena en los procesos de multiplicación de semilla, que están libres del mosaico (Grisham, 2001).

De acuerdo con Viswanathan (1997), la técnica Dot Blot Immunossay (DBIA) empleando sondas determinó que era una técnica segura para la detección del virus del mosaico de la caña de azúcar. Estudios previos han establecido que ISEM fue muy sensible en la detección del virus del mosaico de la caña de azúcar.

De acuerdo con Guzmán y Victoria (2001) indican que la técnica TBIA ha sido empleada para el diagnóstico comercial del virus del mosaico. En el CINCAE se ha venido empleando la TBIA (Tissue blot immunossay) establecida por Comstock (2000) para la detección del ScMV en cuarentena y en semilleros Garcés (2000).

2.5. Transmisión del virus del mosaico

El virus es fácilmente transmitido por grafito, por inoculación mecánica y por áfidos de manera no persistente (Jain *et al.*, 1998).

No existen evidencias de transmisión de ScMV o SrMV a caña de azúcar a través de la semilla verdadera (fuzz). Sin embargo, algunos investigadores citan bajos porcentajes de transmisión a través de la semilla para SCMVJ (Alfaro, 1995 y Grisham, 2001).

2.5.1. Transmisión por vectores

Según Koike y Guillaspie (1989) en trabajos de transmisión del ScMV el número de días requerido para la aparición de síntomas luego de la transmisión mecánica o por insectos son en general de 10 días, aunque también pueden aparecer a los 6 ó 7 días o tardar los 20 a 30 días ó más, dependiendo de las razas del virus, la variedad, la edad de la caña y las condiciones ambientales.

La mayoría de los Potyvirus son transmitidos por pulgones en un proceso definido como de tipo no circulativo y no persistente, se ve favorecida por tiempos de adquisición cortos. El vector retiene los virus en forma infectivas por períodos breves, de minutos a horas. De los mecanismos de transmisión en los que participan los pulgones como organismos vectores, el tipo no persistente, por sus características descritas anteriormente, es el que presenta mayor problema en cuanto a las

estrategias de prevención a las enfermedades virales de interés económico. Esta situación dificulta el uso de plaguicidas para controlar el vector, llegando a incrementar la dispersión de la enfermedad al favorecer el desplazamiento de los áfidos (Martínez *et al.*, 2001).

Las especies de áfidos son importantes en la diseminación del mosaico, entre ellos están *Dactynotus ambrosiae*, *Melanaphis sacchari* y *Rhopalosiphum maidis*, *Hysteroneura setariae*, *Longiunguis sacchari*, *Toxoptera graminum*, *Acyrtosiphon pisum*, *Amphorophora sonchi*, *Aphis gossypii*, *Aphis nerii*, *Carolinaria cyperi*, *Lipaphis pseudobrasicae*, *Melanaphis idiosacchari*, *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum rufiadorum*, *Shizaphis graminum* (Grisham, 2000).

El virus se transmite más rápidamente a plantas de maíz y sorgo que hacia caña de azúcar (Jain *et al.*, 1998).

Lawas y Fernández (1949) citado por Rao y Ford (2001) reportaron un período de incubación del virus en la planta de 2 a 23 días, mientras para Ordosgoitti *et al.*, (1996) el periodo de incubación en la planta es de 4 a 12 días y los insectos pueden transmitir el virus inmediatamente después de alimentarse de un tejido enfermo. Las partículas virales se encuentran sin orden en las células.

Brandes (1990) citado por Rao *et al.*, (2001) fue el primero en demostrar que el *R. maidis* puede transmitir el virus del mosaico de caña de azúcar de plantas enfermas a sanas en forma natural. Subsecuentemente 27 especies de áfidos fueron reconocidas como vectores en diferentes trabajos.

Rizvi y Bhargva (1973), citado por Rao (2001) mencionan que *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum maidis* y *Rhopalosiphum rufiadorum* ocurren en y alrededor de caña de azúcar durante todo el

año en la India, Charpentier (1953) citado por Rao y Ford (2001) reportó que el pasto Jhonson fue un factor en la diseminación de la enfermedad ya que siempre fue la mejor planta hospedera para la alimentación de los áfidos y su reproducción, favoreciendo el rápido crecimiento alrededor de campos de caña.

Cuando varias especies de insectos pueden transmitir un virus, hacen que no se pueda conocer la importancia relativa de la transmisión. El principal vector es algunas veces el insecto menos prevalente (Rao y Ford, 2001).

De acuerdo con Yang (1998) citado por Rao (2001) señala que *R. maidis* presentó una alta transmisión entre 70-80 % a partir de maíz y caña de azúcar enfermas a plantas sanas.

En Ecuador existen en caña de azúcar insectos chupadores asociados a ella, entre los que se encuentra *Perkinsiella saccharicida* el cual no se ha registrado como vector del virus del mosaico de la caña de azúcar, sin embargo, es importante como agente transmisor de la enfermedad del mal de "Fiji" y de un fitoplasma en Sudáfrica (Gaviria, 1995). Por otro lado, *M. sacchari*, y *S. flava* se han observado afectando la caña de azúcar en canteros comerciales (Mendoza, 2003).

2.5.1.1. Relaciones entre el virus del mosaico y sus vectores

Un estudio realizado por French y Hebert citado por González (1985) se refieren a la relación vector-virus y anotan que la mayor transmisibilidad de los virus transportados por áfidos se obtienen con períodos cortos de alimentación sobre la planta infectada, y puede transmitirse a plantas de prueba con períodos similarmente cortos (no persistente). Los áfidos pueden adquirir los virus durante una sola penetración de menos de un

Rhopalosiphum maidis, proveniente de una cría sana los que fueron sometidos inicialmente a un período de ayuno de 60 minutos, después a un período de acceso a la adquisición de 1-10 minutos y finalmente a un período de acceso a la inoculación de 120 minutos utilizando 10 plantas en estado de 3 a 4 hojas y 15 a 20 áfidos por planta.

2.5.1.2. Descripción, ciclo biológico y hábitos de *R. maidis*, *S. flava*, *M. sacchari* y *P. saccharicida*

Rhopalosiphum maidis es de color verde gris a verde azulado, a menudo se encuentra viviendo en grandes colonias en ambas superficies de la hoja en el cogollo y en las partes ocultas de la flor de sorgo y maíz. Las ninfas son producidas partenogenéticamente por hembras aladas o ápteras, el tiempo de generación es de 8 a 10 días. El rápido incremento de la población es favorecido por períodos de tiempo seco (King, 1984).

La reproducción de los áfidos en el trópico es permanente y no existen machos, todos los individuos dan origen a las hembras ápteras o aladas (Mendoza, 2003). Las generaciones son partenogenéticas y solo hay migración de huéspedes primarios hacia secundarios, a través de la reproducción de formas aladas (Bustillo, 1988).

Los ápteros de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) son de color verde, mas oscuro en las áreas cercanas a los corniculos, pardo en la parte anterior, mas oscuro en la cabeza, cauda oscura cilíndrica, corniculos oscuros, cortos y cilíndricos; mientras que los alados la cabeza y el tórax son negros; abdomen verde pálido con áreas laterales oscuras con los segmentos abdominales anteriores a los corniculos; apéndices y corniculos cortos y oscuros (Bustillo, s/f).

Los áfidos *Melanaphis sacchari* son insectos chupadores que viven en colonias en el envés de la hojas y se reproducen por partenogénesis. Son

de coloración gris o blanco y mide de 1.5 mm de largo. Debido a su hábito alimenticio, en ataques intensos ocurre la formación de fumagina. (*Capnodium sp*). Las mayores poblaciones de estos insectos se presentan durante la época seca y en variedades susceptibles (Mendoza, 2003).

La especie *S. flava* forma colonias en el envés de las hojas, las cuales están constituidas casi siempre por hembras ápteras y pequeñas ninfas de color amarillo. Pueden encontrarse en cañas de todas las edades, pero prefieren aquellas que tienen de 2 y 7 meses de edad (Mendoza, 2003).

Perkinsiella saccharicida Kirkaldy pertenece al orden homóptera de la familia Delphacidae se encuentra presente en el cultivo de caña. Los adultos son pequeñas chicharritas de 5 mm de largo, de color marrón claro. La mayoría son macropteros y un pequeño porcentaje de hembras no tienen alas (braquípteras). Las hembras llegan a ovipositar alrededor de 500 huevos, en grupos de 3 a 6, incrustados en la nervadura de la hoja. Cuando la infestación es elevada y persistente, provocan debilitamiento de la planta que se manifiesta por amarillamiento de las hojas, acortamiento de los entrenudos y muerte de los brotes jóvenes, causando una reducción de hasta 36 % de la producción (Mendoza, 2003).

3.1.1. Transmisión mecánica

En cuanto a los métodos mecánicos que se utilizan para la transmisión del virus, se conocen el de pistola de aire, el abrasivo y la picadura con alfileres (Flores 1997).

Madríz (1992) al evaluar 23 cultivares híbridos de caña de azúcar a la inoculación mecánica con el MDMV- raza venezolana (MDMV-V) y SCMV-B, encontró que el 78.26 por ciento de los cultivares mostró síntomas de mosaico suave y severo al SCMV-B.

De acuerdo con Guillaspie (1971) citado por Flores (1997) el éxito de inoculación depende de la infectividad del jugo, de la susceptibilidad del hospedero y el método empleado.

Victoria (1995) señala que el virus del mosaico de la caña de azúcar fue inoculado de manera artificial por frotamiento del follaje con extracto infectado adicionando un abrasivo o mediante aspersión con alta presión. Para la inoculación se toma tejido infectado en cantidades de 250 gramos y se maceran durante 5 minutos, con 1000 ml de 0.1 N de sulfito de sodio adicionando 0.8 ml de mercaptoetanol en un licuadora y luego se filtra a través de una gasa. Al extracto obtenido se le adiciona 7 gramos de carborundo por cada 250 ml de sustrato. Luego es empleado este extracto en las inoculaciones por frotamiento con un pedazo de gasa o por altas presiones (120 lbs/pulg²).

Para realizar la transmisión mecánica se utiliza plantas enfermas del virus del mosaico, picadas y molidas en un molino de carne, se le agrega al jugo infectado 960 ml de agua destilada y 40 ml de solución amortiguadora. Se inoculan plantas de 30 días de edad, hiriéndolas con un cepillo de alambre sumergido previamente en la solución del inóculo (González *et al.*, 2000).

3.2. Epidemiología

En Ecuador se emplea la metodología descrita por Victoria (1999) para seleccionar clones resistente, en el Estado I de selección del programa, de mejoramiento del CINCAE (Garcés, 2000).

La transmisión por áfidos del virus del mosaico en el campo, involucra la interacción entre vector, plantas y el virus. La distribución e incidencia del mosaico es mayor en áreas subtropicales que en áreas tropicales, esto es probablemente causado por una alta transmisión por

áfidos que se mueven de malezas, que se mueren en otoño y primavera a plantas jóvenes de caña y de rápido crecimiento en su estado más susceptibles de crecimiento (Grisham, 2000).

La velocidad con que se disemina la enfermedad está dada por la susceptibilidad del cultivo, las razas existentes del virus, fuentes de inóculo, actividad de los vectores condicionada por el clima y otros factores que modifican la susceptibilidad de las plantas y favorecen la actividad de los áfidos. La diseminación por parte de los vectores es mayor en el follaje joven, que en el viejo, ya que es un material succulento y suave que atrae al insecto a alimentarse, además las plantas jóvenes son más susceptibles que las plantas viejas a la infección por virus, sin embargo el áfido transmite el virus en rápidas chupadas de prueba que realiza sobre el tejido succulento para determinar si puede alimentarse de él (Alfaro 1995).

El rango de hospederos del virus ScMV, está restringido a los miembros de Poaceae, un número de gramíneas tanto en malezas como en cultivos, los cuales sirven como reservorios. Entre los más importantes están el maíz y sorgo en la dispersión cuando son cultivos en áreas adyacentes de caña de azúcar (Jain, *et al*, 1998).

En Louisiana la dispersión y la incidencia del mosaico es alta; esto es debido probablemente a las altas poblaciones de áfidos a través de largos períodos en otoño y primavera cuando la caña es pequeña con áfidos que se mueven de malezas secas del verano en el otoño a malezas muertas del invierno en primavera (Brenda, 1979 citado por Rao y Ford, 2001).

La mayoría de los áfidos de la región tropical, desarrolla en todo el año numerosas generaciones de hembras partenogénicas que dan lugar a una progenie vivípara. Cuando estas colonias se hacen demasiado densas comienzan a aparecer muchos individuos alados los cuales migran de

hospederos primarios a hospederos secundarios y es allí donde se inicia la dispersión del ScMV durante la búsqueda de alimento (González, 1985).

3.3. Resistencia

En la determinación del grado de resistencia que las variedades presentan a la adquisición de las enfermedades, se debe tener en cuenta que existen varias razas de patógenos, además, que una variedad susceptible en una región puede ser resistente en otros lugares; que una caña enferma al perder vigor, tiene menor desarrollo y por lo tanto es susceptible de adquirir otras enfermedades; que hay ciertas variedades que manifiestan resistencia para difundir al patógeno y otras en la que los síntomas no se presentan con rapidez (Flores, 1997).

En Java se han producidos gran número de híbridos, algunos de los cuales han mostrado resistencia al mosaico, entre ellos. POJ28-78, POJ27-14 y POJ27-25 que han salvado a la industria azucarera mundial de los graves daños causados por el virus del mosaico de la caña de azúcar (Flores, 1997).

En el mejoramiento la resistencia del mosaico ha sido el principal objetivo de muchos programas de mejoramiento de varios países, ya que es la medida más pragmática para el manejo del virus. Las fuentes de resistencia al virus del mosaico son cañas "rústicas" y la base genética de la resistencia no es conocida. Las especies *S. spontaneum* y *S. barberi* han sido principalmente empleados en programa de mejoramientos con el fin de generar resistencia en clones comerciales. Numerosos clones han sido identificados como tolerantes y resistentes en otros países. Por ejemplos en Cuba las variedades B43-62, B42-231, en la India: CO212, CO11-48, COS802, COS93-232; Taiwán ROC1, ROC3, ROC5, Sudáfrica: N2 y en Filipinas: Phil6723, Phil7495 (Jain *et al*, 1998). En Colombia

las variedades CC85-92, CC85-63, CC84-75, PR61-632, CP72-370, POJ28-78, Mex68-808, RD75-11, CC83-25 (Jain *et al.*, 1998; Victoria, 1996).

Para evaluar la incidencia de la enfermedad se realiza a 4 y 4.5 meses de edad donde se determinan la población total de la parcela y el número de tallos con síntomas, para luego calcular el porcentaje de infección en cada clon o variedad bajo evaluación. Las variedades con 10 por ciento o más tallos afectados son considerados susceptibles (Victoria, 1996).

Garcés (2003) para evaluar la incidencia de la enfermedad del mosaico y determinar el grado de reacción de los clones EC del CINCAE en el campo, utiliza la escala de Huttchinson (Cuadro1) mediante el cual se califica el grado de reacción de 1 a 9; donde, 1 es altamente resistente y 9 altamente susceptible.

Cuadro 1. Escala de evaluación de Huttchinson*.

Escala de calificación de la reacción	Descripción de la reacción	Incidencia	
1	Altamente resistente	0.0	1.0
2	Muy resistente	1.1	3.0
3	Resistente	3.1	5.0
4	Moderadamente resistente	5.1	10.0
5	Intermedia	10.1	15.0
6	Moderadamente susceptible	15.1	20.0
7	Susceptible	20.1	30.0
8	Muy susceptible	30.1	70.0
9	Altamente susceptible	70.1	100.0

- Citado por Garcés (2003).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

Esta investigación se realizó en los invernaderos, laboratorios y campo del Centro Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador (CINCAE), localizado en el km 49,5 vía Durán – Tambo, a 5 km del cantón El Triunfo, provincia del Guayas, a 02° 19' 33'' de Latitud Sur y 79° 26' 83'' de Longitud Oeste, a 60 msnm. La temperatura promedio es de 25.5° C, con una precipitación media anual de 1202.2 mm y una humedad relativa de 80.1 por ciento.

3.2. Materiales y equipos

Las principales herramientas que se utilizaron en el trabajo fueron:

Materiales de laboratorio y campo: caja entomológica, jaulas de acrílico, caja petri, tijeras, esponja orgánica, fundas de polietileno, etiquetas de identificación, mortero, machete, fiolas, pipetas, micro tubos, probeta, papel de aluminio, papel toalla, vasos térmicos (plumafón), pinzas, hielera., mortero, gasas, guantes y mascarilla.

Reactivos: carborundum (300 mesh), sulfito de sodio (0.01 N), mercaptoetanol, membrana de nitrocelulosa, cloroformo, tris cloro, antisuero policlonal ATCC PVAS 115, conjugado, sodium diethyldithiocarbamate trihydrate (DIECA), cloruro de sodio, cloruro de magnesio, 5-bromo-4chloro-3-indolyphosphate (BCIP), nitro blue tetrazolium (NBT) y amonio cuaternario (desinfectante).

Equipos: centrífuga, balanza de precisión, agitador magnético, potenciómetro, saca yemas, termómetro, licuadora industrial, vehículo. estéreo microscopio, bio-rat centrífuga, balanza analítica.

3.3. Establecimiento y mantenimiento de colonias

a) Recolección de insectos en el campo

Los áfidos *R maidis*, *M. sacchari*, *S. flava* y *P. saccharicida*, fueron recolectados en forma manual en el campo con la ayuda de un pincel, encontrándose el primero alrededor de los canteros en plantas de maleza *Sorghum halepense* (pasto Jhonson) y los tres últimos en plantas de caña. Una vez ubicadas las plantas se procedió a cortarles la parte donde se encontraban las colonias, colocándola en el interior de cajas petri plásticas con un orificio sellado con tul en la parte superior. Luego se transportaron en una caja entomológica de madera pequeña, cubierta con tul hasta al invernadero. Allí se establecieron colonias no virulíferas evaluando diferentes metodologías, para cada insecto así:

b) Establecimiento de las colonias del afido blanco, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) y afido amarillo, *Sipha flava* (Forbes).

Para el establecimiento y mantenimiento se probaron varias metodologías entre las que están:

- En pequeño trozo de hoja dentro de una caja petri con una perforación en la tapa (Fig.1a).
- En trozo de hoja sobre esponja orgánica aislado con una botella plástica 250 cc con una perforación en la parte superior (Fig.1b).
- En plantas de caña, sobre esponja orgánica húmeda cubierta totalmente con un botella plástica con una perforación en la parte superior (Fig.1c).
- Pedazos de trozos de hoja frescas de aproximadamente 30cm de longitud en esponja orgánicas húmedas y estas dentro de una jaula entomológica (Fig.1d).
- En pequeñas plántulas de caña en vasos térmicos (plumafon) y estas dentro de una jaula entomológica (Fig.1e).



Figura 1. Metodologías utilizadas para el establecimiento y mantenimiento de las colonias de *M. sacchari*, *S. flava* y *R. maidis*; a) pequeños trozos de caña en caja petrix; b) trozos de hoja en esponja orgánica cubierta en una botella plástica; c) trozos de hoja cubierta con botella plástica con una perforación en la parte superior; d) en trozos de hoja frescas en esponja orgánicas dentro de una jaula entomológica; e) en plántulas de caña en vasos térmicos dentro de una jaula entomológica; f) en plantas de *Sorghun halepense* sembradas en macetas ubicadas dentro de jaula entomológica. CINCAE, 2004.

c) **Establecimiento de la colonia del afido negro del maíz, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)**

Para el establecimiento y mantenimiento se probaron varias metodologías entre las que tenemos:

- En pequeño trozo de hoja dentro de una caja petri con una perforación en la tapa (Fig. 1a).
- En pequeñas plántulas de caña en vasos térmicos (plumafón) y estas dentro de una jaula entomológica (Fig.e).
- Pedazos de trozos de hoja de cañas frescas de aproximadamente 30 cm de longitud en esponja orgánica húmeda y estas dentro de una jaula entomológica (Fig.1d).
- En pequeñas plantas de sorgo variedad Río sembradas en vasos térmicos (plumafón) y cubierta con botellas plásticas de 200 cc.
- En plantas de *Sorghun halepense* sembradas en macetas y cubiertas con cilindro acrílico. Plantas de maíz sembradas en macetas y cubiertas con cilindro acrílico.
- Plantas de *Sorghun halepense* sembradas en macetas ubicadas dentro de jaula entomológica (Fig.1f).
- Plantas de sorgo variedad Río sembradas en gavetas dentro de jaula entomológicas a pruebas de insectos.

Para escoger la metodología que se empleó en el establecimiento de las colonias de los áfidos *M. sacchari* y *S. flava*, *R. maidis* se optó por una matriz de decisión creada de acuerdo a los criterios de evaluación. Se calificó de acuerdo a una escala subjetiva, donde 1 es muy malo y 5 es muy bueno para las diferentes metodologías. Mientras que para el costo el rango fue de 1 como muy alto y 5 muy bajo (ver Anexo 1 y 2).

d) Establecimiento del Saltahojas hawaino, *Perkinsiella saccharicida* (Kirkaldy).

Para el caso de *P. saccharicida*, se la realizó en varias jaulas entomológicas debidamente confeccionadas con un tamaño 40 cm x 40 cm de base por 60 cm de altura, de madera forradas con tela tul. Dentro de la jaula se colocó esponja orgánica humedecida. Con el fin de mantener un buen estado los pedazos de hojas

Las hojas fueron lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.3 por ciento por un tiempo de inmersión de 5 minutos, donde se colocaron insectos adultos de *P. saccharicida* aprovechando las posturas de los mismos para la formación de colonias puras (Fig.2).



Figura 2. Metodología utilizada para el establecimiento y mantenimiento de la colonia de *P. saccharicida*. CINCAE, 2004.

3.4. Obtención de plantas sanas y enfermas.

El material de caña de azúcar usado para el ensayo fue la variedad B74-132 que bajo condiciones de campo había mostrado una alta susceptibilidad al virus del mosaico de la caña de azúcar (ScMV).

Las semillas de caña fueron sembradas en vasos térmicos (plumafón), los cuales contenían una mezcla de suelo y cachaza en proporción 2:1, respectivamente.

También se realizó la siembra del material requerido para la prueba de preferencia, sembrando yemas individuales como semilla vegetativa de las variedades: B76-78, Ragnar, PR67-1070, CR74-250, y 7 clones del estado IV del programa de mejoramiento del CINCAE. Este material se ubicó en un invernadero a pruebas de insectos, hasta que alcanzaron de 3 a 4 hojas completamente abiertas para la realización de prueba de preferencia (Fig.3).

Para la siembra del material se utilizaron fundas plásticas con un tamaño 20 x 40 cm, empleando como sustrato una mezcla de suelo y arena en proporción de 2:1, respectivamente.

La semilla sana se obtuvo de un lote sembrado con vitroplantas de la variedad B74-132, del cual se seleccionaron plantas con seis meses de edad, escogiendo las mejores yemas para ser sembradas. La semilla enferma se la obtuvo de un lote sembrado de plantas enfermas de la misma variedad.

Una vez sembradas las yemas sanas y enfermas, se ubicaron en el invernadero para evitar que fueran contaminadas por insectos diferentes al utilizado en la prueba, donde permanecieron durante 25 días hasta que tuvieron una altura promedio de 15 cm y dos a tres hojas.



Figura 3. Material vegetativo sembrado sobre sustrato de ceniza en vasos de icopor. CINCAE, 2004.

3.5. Bioensayo transmisión del virus por insectos asociados al cultivo de la caña de azúcar.

Una vez establecida la colonia de áfidos, *R. maidis*, *M. sacchari*, *S. flava* y *P. saccharicida*, se las colocó, en las plantas de caña con la ayuda de un pincel húmedo, con tubo de ensayo, previo a un periodo de ayuno de 60 minutos para el primero y 30 para los demás insectos, dejándolos durante 24 horas alimentándose. Una vez transcurrido el tiempo de acceso a la adquisición, se trasladó a plantas sanas de la variedad B74-132, donde se las dejó alimentándose por 24 horas con el fin de que estos inocularan el virus, protegidos con un cilindro de acrílico por cada planta, la cual fue tomada como unidad experimental. Finalmente fueron eliminados con un insecticida (clorpirifos 2cc/l de agua). Se colocaron 30 insectos de *M. sacchari*, *S. flava*, *R. maidis* y *P. saccharicida* por planta con 20 repeticiones (ver Figura 5).

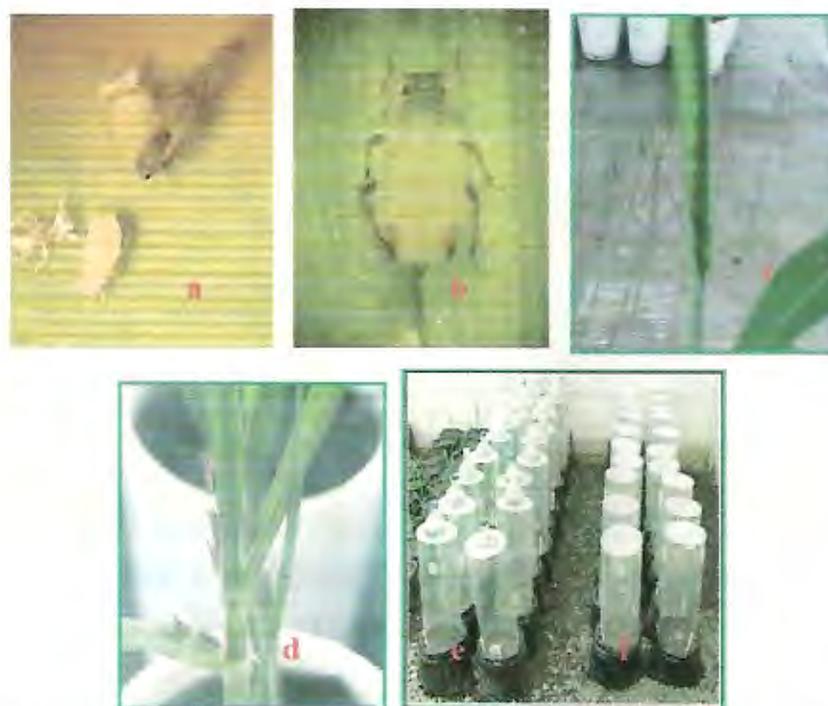


Figura 4. Alimentación de *S. flava* (a); *M. sacchari* (b); *R. maidis* (c) y *P. saccharicida* (d); virulífero en plántulas sanas. Cilindros entomológicos en los cuales se evito contaminación en las pruebas, con *P. saccharicida* (e) y *S. flava* *M. sacchari* y *R. maidis*, en plantas de la variedad B74-132 (f).CINCAE, 2004.

La transmisión del virus con el insecto se verificó a los 30, 60 y 90 días después de realizada la prueba, mediante las técnicas serológicas Tissue-Blot inmuno assay (TBIA) y Dot inmuno assay (DBIA). (Fig.5).

Una vez confirmada la inoculación y conociendo a *R. maidis* como vector de ScMV, se estudiaron diferentes aspectos del proceso de transmisión, que se detallan a continuación.



Figura 5. Técnicas serológicas Tissue-Blot immuno assay (der) y Dot immuno assay (izq). CINCAE, 2004.

3.5.1. Bioensayo de periodo óptimo de ayuno de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)

Para determinar el tiempo óptimo de ayuno se ensayaron cuatro períodos de ayuno de 5,30,60 y 120 minutos, mas el testigo absoluto, manteniendo constante en 60 minutos la adquisición y en 24 horas el acceso a la inoculación del ScMV con el fin de que el áfido aumentara su voracidad.

Los distintos periodos de ayuno a los cuales se sometieron los insectos, se realizaron en cajas de petri selladas, con papel filtro en el fondo y con una perforación en la tapa para facilitar la respiración.

Después de transcurrido el periodo de ayuno se colocaron los insectos, con ayuda de un pincel sobre plantas de caña de azúcar de la variedad B74-132 infectadas con el ScMV, para que allí adquieran el virus. Luego del periodo de adquisición, los áfidos se llevaron a plantas de caña de azúcar sanas (vitroplantas de B74-132) con ayuda del mismo pincel. A A

A las 24 horas se eliminaron los insectos con la aplicación de un insecticida (clorpirifos 3cc/l de agua).

Las plantas de caña de azúcar sometidas a la prueba de transmisión se colocaron en un invernadero, evitando cualquier otro tipo de transmisión, en el cual permanecieron durante 60 días. Se realizaron evaluaciones diarias de aparición de síntomas y mediante las técnicas diagnósticas de Dot Blot Immuno assay (DBIA) y Tissue Blot Immuno assay (TBIA) a los 30 y 60 días después de la realizada la prueba.

El número de áfidos utilizados para cada tratamiento fue de 30 por planta, el tamaño de la muestra fue de 10 plantas para cada tratamiento con un testigo sin inoculación (Fig. 6).

3.5.2. Bioensayo de periodo de acceso a la adquisición del virus ScMV por *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)

Una vez que se determinó el tiempo óptimo de ayuno se obtuvo el tiempo óptimo de acceso a la adquisición. Para ello se evaluaron 4 periodos de alimentación sobre plantas enfermas, necesarios para adquirir el virus: así: 5, 30, 60, y 120 minutos, más un testigo absoluto, con 10 repeticiones cada uno, manteniendo constante 120 minutos de ayuno y 24 horas de inoculación del ScMV. Transcurrido cada periodo de acceso a la adquisición, los insectos se trasladaron a plantas sanas de 30 días de edad, donde permanecieron por 24 horas; posteriormente se aplicó un insecticida (clorpirifos 3 cc /l de agua) con el fin eliminar los insectos. Las plantas de caña de azúcar en estudio se colocaron en invernadero a prueba de insectos, donde permanecieron durante 60 días. Se realizaron evaluaciones diarias de aparición de síntomas y mediante las técnicas diagnósticas de Dot Blot Immuno assay (DBIA) y Tissue Blot Immuno assay (TBIA) a los 30 y 60 días se determinó la presencia del ScMV. El

número de insectos empleados para cada uno de los tratamientos fue de 30 áfidos por planta (Fig.6).

3.5.3. Bioensayo de periodo acceso a la inoculación del virus ScMV por *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)

Determinado los periodos óptimos de ayuno y de adquisición del virus, se evaluaron 4 periodos de inoculación del virus, a los 5, 30, 60 y 120 minutos, más el testigo absoluto, con 10 repeticiones cada uno, manteniendo constante 120 minutos de ayuno y 60 minutos de adquisición. Los áfidos se mantuvieron en cajas petri selladas con papel filtro en el fondo, se depositaron sobre las plantas enfermas con la ayuda de un pincel húmedo durante 60 minutos para que adquirieran el virus, más tarde se los trasladó a plantas sanas de la variedad B74132 donde se los mantuvo de acuerdo a los periodos de inoculación indicados, finalmente, se aplicó el insecticida (clorpirifos 3cc/l de agua) con el fin de eliminarlos.

El número de insectos empleados para cada uno de los tratamientos fue de 30 áfidos por planta. De la misma forma que en los bioensayos anteriores se realizaron las evaluaciones (Fig. 6).

3.6. Preferencia del vector

Para la prueba de preferencia se utilizaron siete clones del Estado IV serie 98 del Programa de Mejoramiento del CINCAE y 4 variedades comerciales. Se colocaron 3 plantas de *Sorghum halepense* (pasto jhonson) infestadas con *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) en el centro de las plantas, de cada variedad en estudio (11), con 10 repeticiones.

Se determinó el total de colonias establecidas por planta y variedad para asociarlo con el grado de preferencia de acuerdo a la capacidad de

multiplicación del insecto. Se realizaron 6 evaluaciones cada 3 días durante tres semanas (Fig.7).



Figura 7. Metodología utilizada para prueba de preferencia de *R. maidis*. CINCAE, 2004.

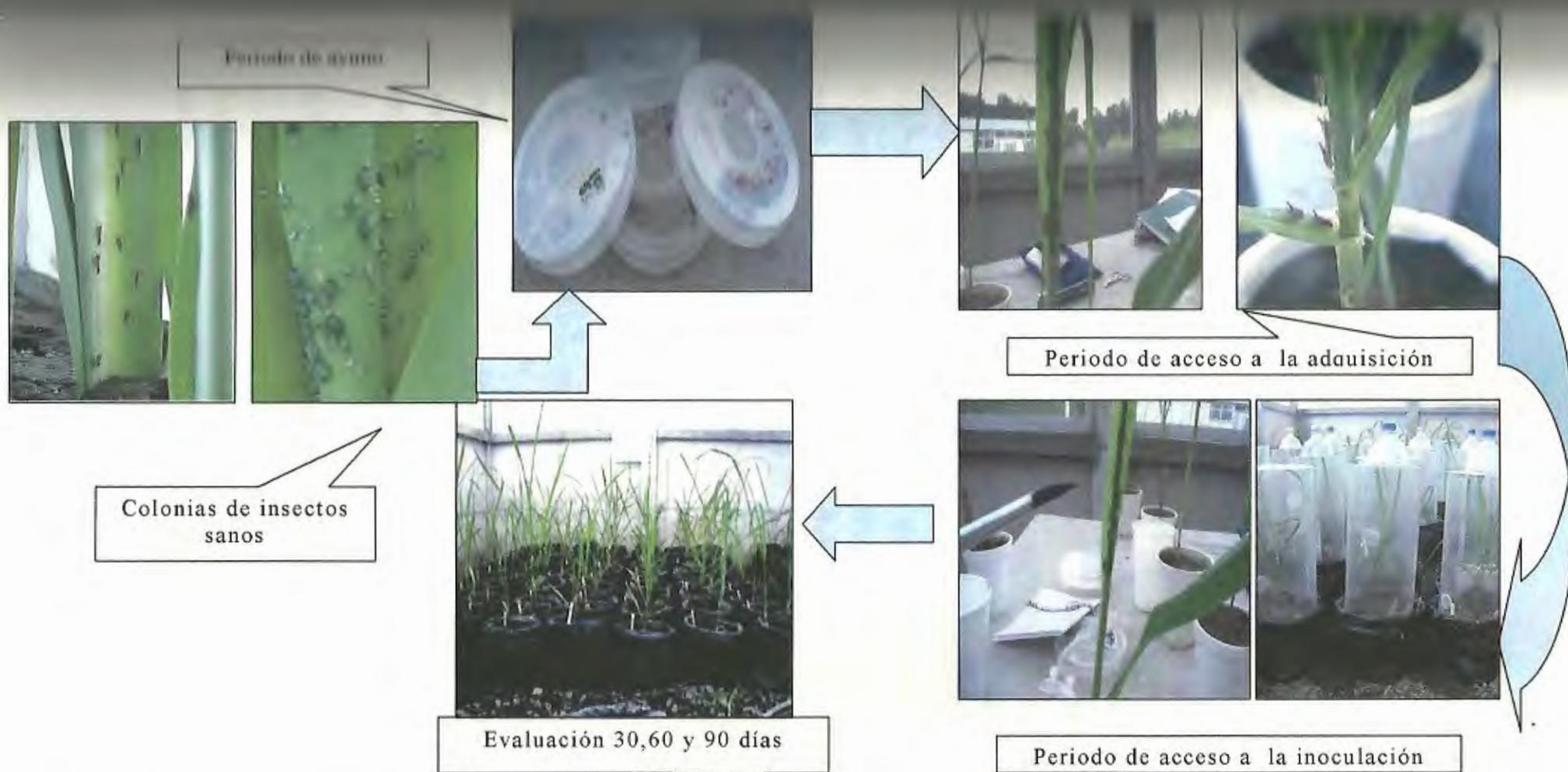


Figura 6. Esquema de las diferentes fases en el proceso de transmisión del ScMV por *R. maidis* y *P. saccharicida*. CINCAE, 2004.

3.7. Reacción de 220 variedades del banco de germoplasma, al virus del mosaico

3.7.1. Preparación y siembra del material vegetativo

El banco de germoplasma de caña de azúcar del CINCAE cuenta con 420 variedades. De esta colección previamente seleccionada por los mejoradores, se tomaron 220 variedades para fines de caracterización varietal. Durante el corte de semilla se desinfectaron las herramientas con amoníaco cuaternario al 1 por ciento. Todas las yemas fueron extraídas con la máquina sacabocado y se agruparon en fundas tipo malla, debidamente identificadas. Con el fin de mejorar la germinación se trató este material en agua corriente a 25°C por 48 horas y transcurrido este tiempo se realizó una inmersión en vitavax durante 5 minutos empleando 5 gramos por litro de agua. Se sembraron las yemas en la cama de germinación en un sustrato que contenía ceniza y cachaza en proporción 3:1. Se establecieron pequeñas parcelas de acuerdo a la variedad, dejándolas humedecidas y cubiertas con un plástico de color negro para acelerar su germinación.

Con el fin de contar con adecuada cantidad de inóculo del virus para la transmisión mecánica, se sembraron 30 gavetas de sorgo variedad Río, y a los 15 días después de la siembra, se realizó una inoculación mecánica con extracto de jugo infectado con el ScMV, para obtener el extracto del virus a partir de estas plantas e inocular las 220 variedades de caña en estudio, con sus respectivos testigos.

3.7.2. Preparación y método de inoculación

La transmisión mecánica se la realizó a los 26 días después de la siembra de las yemas en la cama de germinación.

Para realizar la transmisión se obtuvo un extracto de hojas de sorgo variedad Rio y hojas de caña de la variedad B74-132 infectadas con el virus del mosaico de la caña de azúcar (ScMV) en la proporción de 1:1. En una licuadora se agregó el buffer que contenía 0.01 N de Sulfito de sodio, mercaptoetanol (800 ul/l) y 250 gramos de hojas jóvenes infectadas con ScMV. Una vez obtenido el inóculo se lo mantuvo en refrigeración hasta comenzar la inoculación. Al extracto obtenido se le agregó 7.0 g de carborundo (300 mesh).

Con el jugo preparado, se procedió a inocular las variedades en estudio, efectuando heridas muy pequeñas en las hojas jóvenes, con una gasa impregnada de esta solución frotándola varias veces sobre el tejido foliar. También se inocularon dos variedades que se consideraron como testigos Ragnar y B76-78 y plántulas de sorgo variedad Rio para verificar que el inóculo que se utilizó para la transmisión del ScMV a las 220 variedades, resultara eficiente o no.

A los dos días de la inoculación se sembraron las plantas en fundas de polietileno de 1 kg de capacidad, que contenían un sustrato de suelo y cachaza en una proporción de 1:1. Cada una de las variedades se colocó en las camas de germinación en grupos de 30 (Fig.8).



Figura 8. Ubicación de las 220 variedades inoculadas con el virus del mosaico, en las camas de germinación. CINCAE, 2004.

3.7.3. Manejo del experimento

Se tomaron en cuenta todas las recomendaciones para el buen funcionamiento del mismo.

3.8. Evaluación de experimentos

3.8.1. Bioensayos de transmisión de ScMV

Para la evaluación de plantas sanas y enfermas, se realizó el diagnóstico por síntomas visibles y técnicas inmunoenzimáticas como la Tissue-blot immunoassay, empleando la metodología desarrollada por Scaliusi y Lockhart (2000) y modificada por Guzmán (2001) y la Dot blot immunoassay. Para obtener las muestras, se cortaron hojas y se realizaron impresiones con la nervadura de las mismas sobre la membrana de nitrocelulosa (MNC) de 0.45 μm , posteriormente se las depositó en la nevera por toda la noche. La prueba de diagnóstico consistió en 5 pasos (ver Anexo 4).

Los síntomas evaluados se pueden observar en la Fig. 9. característica fue el contraste de áreas cloróticas y de verde normal, con la presencia de parches con rayas.



Figura 9. Síntomas característicos de mosaico asociado con el ScMV en el campo. CINCAE, 2004.

Para el diagnóstico inmunoenzimático se colectaron muestras de hojas en las horas de la mañana. Las que se emplearon para el diagnóstico por DBIA fueron la TVD, en cambio para la TBIA se colectó la hoja con el último cuello visible. Durante todo el tiempo las muestras se tuvieron en nevera aproximadamente a 4°C.

Para la prueba DBIA se obtuvo un semipurificado del virus (ver Anexo 3). Una vez fijado el semipurificado se lo diluyó y se lo depositó en la membrana de NMC.

Para la prueba TBIA, a la hoja se le realizó un corte transversal a la altura de la base, para realizar una impresión sobre un papel de

nitrocelulosa y fijar el virus. Una vez fijadas las muestras en la membrana se siguió con la metodología descrita en el Anexo3.

El resultado fue positivo o negativo, de acuerdo a la presencia o ausencia de un precipitado de color púrpura en la membrana de MNC.

3.8.2. Reacción de 220 variedades

En la cama de germinación se hicieron dos evaluaciones de síntomas visuales a los 30 y 60 días después de la inoculación, mientras que en el lote definido para la siembra del experimento, se evaluó cada 30 días hasta los 240 días después de la inoculación.

Se determinó la incidencia de la enfermedad por variedad, contando el total de tallos con síntomas de mosaico así como los de la parcela para luego calcular la incidencia (Fig.10).

De acuerdo al porcentaje de incidencia se calificó cada variedad, en cada evaluación, con la escala de Huttchinson (Cuadro 1).



Figura 10. Toma de datos en el campo, contando el número de tallos sanos y enfermos. CINCAE, 2004.

3.9. Análisis estadístico

3.9.1. Bioensayo de transmisión de ScMV por *M. sacchari*, *S. flava*, *R. maidis* y *P. saccharicida*

Para este ensayo se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) teniendo como tratamientos *M. sacchari*, *S. flava*, *R. maidis* y *P. saccharicida* más el testigo absoluto y observando el comportamiento mediante diagnóstico en 3 tiempos diferentes. Cada uno contó con 20 repeticiones para realizar la transmisión, teniendo en cuenta una planta como unidad experimental. Además se realizó la comparación de medias utilizando la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Modelo matemático: $Y_{ijk} = \mu + V_i + \epsilon_{ij} + T_k + (V \times T)_{ik} + \epsilon_{ijk}$

Donde:

- Y_{ijk} : La observación correspondiente al tratamiento i y tiempo k
- μ : Media de la población
- V_i : Efecto del tratamiento (vectores)
- ϵ_{ij} : Error experimental del tratamiento (efecto aleatorio) (a)
- T_k : Efecto de la evaluación en el tiempo sobre el tratamiento
- $(V \times T)_{ik}$: Interacción del vector con el tiempo
- ϵ_{ijk} : Error experimental del tratamiento en el tiempo (b).

ANDEVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Vector	v-1	3
Error experimental (a)	v(r-1)	76
T (tiempo de evaluación)	t-1	2
VxT	(v-1)x(t-1)	6
Error experimental (b)	v(r-1)x(t-1)	152
Total	vrt-1	239

3.9.2. Bioensayos de Ayuno, Adquisición e inoculación

Al igual que en la primera prueba, las de ayuno, acceso a la adquisición y a la inoculación se realizaron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 4 tratamientos (tiempos) y 10 repeticiones, incluyendo un testigo (Cuadro 2). Se observó el comportamiento, mediante diagnóstico en tres tiempos diferentes, tomando en cuenta que cada planta se fue una unidad experimental. La comparación de medias de los tratamientos se la realizó con la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Modelo matemático: $Y_{ijk} = \mu + V_i + \epsilon_{ij} + T_k + (V \times T)_{ik} + \epsilon_{ijk}$

Donde:

- Y_{ijk} : La observación correspondiente al tratamiento i y tiempo j
- μ : Media de la población
- V_i : Efecto del tratamiento (vector)
- ϵ_{ij} : Error experimental del tratamiento (efecto aleatorio) (a).
- D_k : Efecto de la evaluación en el tiempo sobre el tratamiento
- $(V \times T)_{ik}$: Interacción del vector con el tiempo
- ϵ_{ijk} : Error experimental del tratamiento en el tiempo (b).

ANDEVA DE ENSAYOS DE AYUNO, ADQUISICIÓN E INOCULACIÓN

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Tiempo (tratamiento)	t-1 3
Error experimental (a)	t(r-1) 36
E (época de evaluación)	d-1 1
TxE	(t-1)(e-1) 3
Error experimental (b)	t(r-1)x(e-1) 36
Total	tre-1 79

Los tratamientos de ayuno, acceso a la adquisición y acceso a la inoculación fueron estudiados en dos tiempos diferentes como se indica en el siguiente cuadro 2

Cuadro 2. Tratamientos para cada bioensayo de transmisión de ayuno, acceso a la adquisición y acceso a la inoculación.

Bioensayos Tratam.	Periodo de ayuno¹	Periodo de acceso a la adquisición	Periodo de acceso a la inoculación
T₀	0	0	0
T₁	5	5	5
T₂	30	30	30
T₃	60	60	60
T₄	120	120	120

¹/ Tiempo en minutos

El análisis de varianza y comparación de media se realizó con los datos previa transformación por medio $\sqrt{X+0.5}$ y con la ayuda del programa estadístico de MSTAT-C.

4.1.7. Bioensayo de preferencia

El ensayo se realizó bajo un diseño de bloques al azar (DBCA) con 11 tratamientos (Variedades) y 10 repeticiones, divididas en el tiempo para cada tratamiento, con un total de 110 unidades experimentales. Todos los datos previos al ANDEVA fueron transformados a $\sqrt{X+0.5}$ y se realizó la comparación de medias utilizando DMS al 0.05 de probabilidad.

Modelo matemático: $Y_{ijk} = \mu + V_i + B_j + \epsilon_{ij} + T_k + (V \times T)_{ik} + \epsilon_{ijk}$

Donde:

- Y_{ij} : La observación correspondiente al tratamiento i y tiempo j
- μ : Media general de un tratamiento
- V_i : Tratamiento particular (variedad)
- B_j : Bloque
- ϵ_{ij} : Error experimental del tratamiento
- T_k : Efecto del tiempo sobre el tratamiento
- $(V \times T)_{ik}$: Interacción de la preferencia del vector en el bloque en el tiempo
- ϵ_{ijk} : Error experimental del tratamiento en el bloque en el tiempo

ANDEVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Variedades (tratamientos)	$v-1$	10
Bloque	$r-1$	9
Error experimental (a)	$(v-1)(r-1)$	90
T (tiempo de evaluación)	$t-1$	5
$V \times T$	$(t-1)(v-1)$	50
Error experimental (b)	$v(r-1)(t-1)$	495
Total	$Vrt-1$	659

4.1.8. Bioensayo de reacción de 220 variedades

Para determinar la mejor época de evaluación se realizó un análisis de parcelas divididas en el tiempo. El experimento de transmisión mecánica del virus del mosaico se distribuyó en el campo siguiendo un diseño de Látiçe (0,1) Rectangular 20 x 11 no balanceados, con dos repeticiones (Ver anexo 5). Además para determinar la mejor época de evaluación se realizó con un análisis de parcelas divididas en el tiempo. Los datos previos al ANDEVA fueron transformados a arco seno $\sqrt{x+1}$ y se realizó la comparación de medias de los tratamientos utilizando Tukey 0.05 de probabilidad.

El porcentaje de incidencia de la enfermedad se calculó con la siguiente ecuación:

$$I_i = P_{ei} / P_{ti} \times 100$$

Donde:

- I_i = Por ciento de plantas enfermas en la fecha i
- P_{ei} = Total de plantas enfermas con virosis en la fecha i
- P_{ti} = Total de plantas existentes en la fecha i
- i = Fecha de evaluación de la enfermedad en campo.

Delineamiento experimental

Tipo de diseño	Látice (0,1) Rectangular 20 x 11
Número de tratamientos (variedades)	220
Número de repeticiones	2
Total de parcelas	440
Forma de las parcelas	Rectangular
Ancho de las parcelas	1,50 m.
Largo de las parcelas	5 m.
Área de cada parcela	7.5 m ²
Área útil	7.5 m ²
Área útil del ensayo	3.300 m ²
Área total del experimento	5658 m ²

Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + \delta_k + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- μ : Media general de la población
- T : Efecto del tratamiento (variedad) i
- β_j : Efecto de las repeticiones j
- δ_k : Variación (Efecto) de bloques dentro de la repetición j
- ϵ_{ijk} : Error experimental.

ANDEVA

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Repeticiones	$r-1$	1
Bloque dentro de repeticiones	$r(b-1)$	38
Tratamientos	$(t-1)$	219
Error experimental por diferencia	$(r-1)(t-1) - r(b-1)$	181
Total	$r(t-1)$	439

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Capacidad de transmisión del virus del mosaico de caña de azúcar (ScMV) por *Melanaphis sacchari* (Zehntner), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Perkinsiella saccharicida* (Kirkaldy) y *Sipha flava* (Forbes), en Ecuador.

4.1.1. Establecimiento y mantenimiento de colonias

Las colonias de *S. flava* y *M. sacchari* fueron recolectadas en los diferentes lotes del campo experimental del CINCAE. Se establecieron, bajo condiciones de invernadero, diferentes metodologías, la mejor metodología consistió en mantener los insectos en pedazos de hojas, colocadas en esponja orgánica húmeda y aislada, con una botella plástica perforada en la parte superior y cubierta con tul. Con esta metodología se obtuvieron buenos resultados de adaptación y mayor facilidad durante la manipulación, además de un menor costo y mayor control de los parasitoides *Lysiphlebus* spp y predadores, como los Coccinélidos (Fig.11).



Figura 11. A: Der. Adulto de *M. sacchari* y Izq. *S. flava*. B: Colonia establecidas bajo condiciones de invernadero. CINCAE, 2004.

Con *R. maidis* no se pudo establecer las colonias en caña de azúcar, pero si en plantas jóvenes de malezas de *Sorghum halapense* (pasto Jonhson) y en *Zea mays* (maíz) sembradas en pequeñas macetas y cubiertas con cilindro acrílico (Fig.12).



Figura 12. Izq. Colonia establecidas bajo condiciones de invernadero, Der. adulto de *R. maidis*. CINCAE, 2004.

La cría de *P. saccharicida*, se la hizo con la metodología establecida en el CINCAE. De lo observado se puede mencionar que en esta cría, hubo la presencia de arañas, las cuales fueron controladas manualmente. (Fig.13).



Figura 13. Adultos de *P. saccharicida* establecidos bajo condiciones de invernadero. CINCAE, 2004.

4.1.2. Evaluación de plantas sanas y enfermas para la transmisión

Las plantas sanas se obtuvieron de un lote sembrado con vitroplantas de la variedad B74-132, de seis meses de edad, resultaron negativas a la infección con ScMV, mediante la prueba de TBIA. Mientras que las enfermas fueron de un lote de la misma variedad pero con características de la enfermedad causada por el virus del mosaico, resultaron positivas, mediante TBIA presentándose una reacción de precipitación de color púrpura.

4.1.3. Bioensayo de transmisión del virus ScMV por insectos asociados al cultivo de la caña de azúcar.

En el Cuadro 3, se puede observar los resultados del diagnóstico del ensayo de transmisión con los insectos, *Melanaphis sacchari*, *Sipha flava*, *Rhopalosiphum maidis* y *Perkinsiella saccharicida*, los cuales fueron tomados como tratamientos, los mismos que fueron evaluados a los 30, 60 y 90 días después de establecido el ensayo. En esta prueba se encontró diferencias altamente significativa entre los tratamientos, sobresaliendo el *Rhopalosiphum maidis* como único vector del ScMV infectando 12.33/20 plantas frente a los demás tratamientos que resultaron negativos (Cuadro 4).

Cuadro 3. Análisis de la varianza del ensayo de transmisión del ScMV por insectos vectores. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Tratamientos	4	4.748	1.187	48.9849	**
Error	95	2.302	0.024		
Diagnósticos	2	0.111	0.055	12.6667	**
TxD	8	0.444	0.055	12.6667	**
Error	190	0.832	0.004		
Total	299	8.437			

** Altamente significativo

Coefficiente de variación: 8.56%

Cuadro 4. Comparación de medias del ensayo de transmisión del ScMV por insectos vectores. CINCAE, 2004.

Tratamientos	Evaluaciones (plantas ScMV)			Media*	
	1 a.	2 da.	3 ra.		
<i>R. maidis</i>	7	15	15	12.33	a
<i>M. sacchari</i>	0	0	0	0.00	b
<i>S. flava</i>	0	0	0	0.00	b
<i>P. saccharicida</i>	0	0	0	0.00	b
Testigo	0	0	0	0.00	b

* Tukey <0.05

De esta manera se confirma lo dicho por González (1985) y Jain *et al.*, (2001) que *R. maidis* es vector de ScMV bajo condiciones controladas. Pero no se concuerda con Grishman (2001) que menciona a *Melanaphis sacchari* como un vector del ScMV.

El porcentaje transmisión que se obtuvo en este trabajo con este insecto fue hasta del 75% (15/20), lo que se concuerda con Yang (1998) citado por Rao (2001) quien en sus trabajos de transmisión con *R. maidis*, obtuvo un porcentaje de transmisión entre el 70- 80%.

Los periodos máximo y mínimo de incubación del virus en la planta fueron de 12 y 32 días con un promedio ponderado de 21.13. Lo que se concuerda con Koike y Guillaspie (1989) que sostienen que en trabajos de transmisión por insectos o mecánica, el número de días requerido para la aparición de síntomas son en general de 10 días, aunque también puede aparecer a los 6 o 7 días o tardar los 20 a 30 días o más, dependiendo de las razas del virus, la variedad, la edad de la caña y las condiciones ambientales.

De la misma manera Lawas y Fernández (1949) citado por Rao y Ford (2001) indican que el periodo de incubación del virus en la planta es de

2 a 23 días mientras que Ordosgoitti *et al* (1996) describe que el periodo de incubación en la planta es de 4 a 12 días.

4.1.4. Periodos de ayuno del vector

Los resultados sobre los diferentes tiempos de ayuno se presentan en el Cuadro 5, donde se puede observar que existen diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo en la comparación de medias (Tukey <0.05) no se pudo detectar diferencias estadísticas, pero fue evidente que en el periodo de 120 minutos de ayuno, se obtuvo una mayor cantidad de plantas infectadas (Cuadro 6).

Cuadro 5. Análisis de la varianza del ensayo periodo de ayuno del insecto vector. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Tratamientos	4	1.186	0.297	2.9826	*
Error	45	4.474	0.099		
Diagnósticos	1	0	0	0	ns
TxD	4	0	0	0	
Error	45	0	0		
Total	99	5.66			

* Diferencia significativa

ns . No significativo

Coefficiente de variación: 38.81%

Cuadro 6. Comparación de medias del ensayo de ayuno del insecto vector. CINCAE, 2004.

Tratamiento (minutos)	Evaluaciones (plantas ScMv)		Media*
	1 ra.	2 da.	
120	5	5	5 a
5	4	4	4 a
30	3	3	3 a
60	2	2	2 a
Testigo	0	0	0 a

* Tukey <0.05

Cuando se realizó la prueba de ayuno se incrementó el número de plantas enfermas debido a que *R. maidis* se alimenta con mayor voracidad cuando ha soportado un mayor tiempo sin alimento, de tal manera que esto produce un incremento en las posibilidades de lograr un mayor porcentaje de transmisión. Estos resultados concuerdan con González (1985) y Vegas *et al* (1986) quienes indican que es necesario someter a los insectos aun periodo de ayuno, lo cual hace que aumente su deseo de alimentarse, incrementándose la eficacia de transmisión.

Los periodos máximos y mínimo de incubación del virus en la planta a los 120 minutos fueron de 14 y 32 días con un promedio ponderado de 38.

4.1.5. Periodos de adquisición del virus

De acuerdo a la evaluación realizada a los 30 y 60 días después de instalado el ensayo, no se detecto diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 7 y 8). Pero se pudo observar que el mayor porcentaje de transmisión del ScMV se obtuvo a los 60 min de acceso a la adquisición y fue disminuyendo a medida que el tiempo de adquisición era más corto (Cuadro 8).

Cuadro 7. Análisis de la varianza del ensayo de acceso a la adquisición del insecto vector. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Tratamientos	4	0.302	0.075	1.3523	ns.
Error	45	2.51	0.056		
Diagnósticos	1	0.003	0.003	1	ns.
TxD	4	0.01	0.003	1	ns.
Error	45	0.117	0.003		
Total	99	2.942			

* ns. No significativo

Coefficiente de variación: 6.57%

Cuadro 8. Comparación de medias del ensayo de acceso a la adquisición del insecto vector. CINCAE, 2004.

Tratamientos (minutos)	Evaluaciones (plantas ScMV)		Media*
	1 ra.	2 da.	
60	3	4	3.5 a
30	3	3	3 a
120	3	3	3 a
5	0	0	0 a
Testigo	0	0	0 a

* Tukey <0.05

Esto indica que entre más tiempo permanece *R.maidis*, en una planta infectada con el ScMV, el áfido tiene oportunidad de adquirir el virus y puede aumentar la probabilidad de transmitirlo.

Los periodos máximo y mínimo de incubación del virus en la planta a los 60 min fueron de 14 y 32 días con un promedio ponderado de 32.67.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta prueba, no se concuerda con González (1985) quien indica que el tiempo optimo de acceso a la

adquisición, es de 30 minutos, de la misma manera con Garrido y Ferreira (1998) quienes indican un periodo de acceso a la adquisición entre 1-10 min.

4.1.6. Periodos de Inoculación del virus

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de la evaluación realizada a los 30 y 60 días después de instalado el ensayo, no se detecto diferencias estadísticas entre los tratamientos, pero se puede observar un mayor porcentaje de plantas enfermas con el acceso a la inoculación a los 30 min.

Cuadro 9. Análisis de la varianza del ensayo de acceso a la inoculación del insecto vector. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Tratamientos	4	0.302	0.075	1.3523	ns.
Error	45	2.51	0.056		
Diagnósticos	1	0.003	0.003	1	ns.
TxD	4	0.01	0.003	1	ns.
Error	45	0.117	0.003		
Total	99	2.942			

ns. No significativo

Coefficiente de variación: 6.57%

Cuadro 10. Comparación de medias del ensayo de acceso a la inoculación del insecto vector. CINCAE, 2004.

Tratamientos (minutos)	Evaluaciones (plantas ScMV)		Media*
	1 ra.	2 da.	
30	3	3	3.00 a
60	2	2	2.00 a
120	1	1	1.00 a
5	0	1	0.50 a
Testigo	0	0	0.00 a

*Tukey <0.05

Con este resultado se confirma lo descrito por González (1985) quien indica que el periodo de acceso a la inoculación de ScMV por *R. maidis* más adecuado es de 30 minutos (Cuadro 10).

Los periodos máximo y mínimo de incubación del virus en la planta a los 30 minutos fueron de 15 y 15 días con un promedio ponderado de 15.

4.2. Preferencia del vector en materiales de caña de azúcar

4.2.1. Preferencia del vector *R. maidis*

Los resultados obtenidos en este ensayo se presentan en el Cuadro 11. De acuerdo al análisis de varianza efectuado de las 6 evaluaciones existe diferencia significativa entre los tratamientos y diagnósticos. En el Cuadro 12 se presentan los resultados obtenidos en este ensayo donde existe preferencia de *R. maidis* por los clones ECSP98-419 y ECSP98-392 con un promedios de 17.67 y 15.50 respectivamente.

Cuadro 11. Análisis de la varianza de la prueba de preferencia del insecto vector. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Bloques	9	18.029	2.003	7.2723	**
Tratamientos	10	18.751	1.875	6.8072	
Error	90	24.791	0.275		
Evaluaciones	5	0.71	0.142	0.7584	**
TxD	50	7.03	0.141	0.7512	
Error	495	92.647	0.187		
Total	659	161.958			

** Altamente significativo

Coefficiente de variación: 43.24%

Cuadro 12. Comparación de medias del ensayo de preferencia del insecto vector. CINCAE, 2004.

Tratamiento	Evaluaciones (plantas ScMV)						Media*	
	1 ra.	2 da.	3 ra.	4 ta.	5 ta.	6 ta.		
ECSP98-419	19	13	16	29	8	21	17.67	a
ECSP98-392	17	11	12	11	19	23	15.50	ab
ECSP98-168	13	10	6	3	10	7	8.17	abc
ECSP98-169	10	10	5	10	6	8	8.17	abc
B 76-79	3	11	10	2	6	10	7.00	abc
RAGNAR	11	3	3	10	9	4	6.67	abc
ECSP98-127	2	2	5	5	4	10	4.67	abc
PR 67-1070	3	1	5	5	4	6	4.00	abc
CR 74-250	1	1	0	4	4	10	3.33	bc
ECSP98-425	3	2	8	0	5	1	3.17	bc
ECSP98-149	3	1	3	4	2	0	2.17	c

*DMS <0.05

4.3. Grado de resistencia de las variedades de caña de azúcar al ScMV.

4.3.1. Reacción de 220 variedades de caña de azúcar al virus ScMV.

En el Cuadro 13 se puede observar los resultados del análisis de varianza, donde presentó diferencias significativas entre los tratamientos y se refiere a los días después de la inoculación.

De acuerdo a la evaluación realizada a los 90, 120, 150, 180, 210 y 250 días después de la inoculación se detectó diferencias estadísticas entre tratamientos y evaluaciones (Cuadro 14).

Al realizar la comparación de medias entre las evaluaciones hubo diferencias estadísticas indicando que a los 120 días después de la inoculación se presentó el mayor número de variedades susceptibles (Cuadro 15). Se determinó la mayor incidencia de variedades susceptibles resultando la de 120 días después de la inoculación. Por lo se escogió esta evaluación para correlacionarla con la de 60 días después de la inoculación, donde se observaron mayor numero de variedades susceptibles (Cuadro 16).

Cuadro 13. Andeva de Látice Rectangular. CINCAE, 2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	CUADRADOS MEDIOS						Significancia
		90	120	150	180	210	240	
Total	439	439	439	439	439	439	439	
Repeticiones	1	13.97	7.84	5.07	0.77	79.53	205.65	ns.
Bloques Ajustados	38	132.01	78.76	79.00	143.02	129.3	102.15	
Tratamientos Ajustados	219	411.96	437.26	456.16	452.33	445.27	404.40	**
Error (residuo)	181	106.07	108.13	81.14	116.53	117.23	106.97	
C.V (%)		52.05	51.78	48.66	61.34	54.42	61.98	

** Altamente significativo

ns. No significativo

Cuadro 14. Andeva de Parcelas Divididas. CINCAE.2004.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F - Calculada	Significancia
Bloques	1	255	255	1	**
Tratamientos	219	578.593	2.642	6	
Error	219	104.376	476,602		
Evaluaciones	5	4348,404	869,681	25,3598	**
TxD	1095	48595,426	44,105	1,2861	**
Error	1100	37.723	34,294		
Total	2639	773.591			

** Altamente significativo

Coefficiente de variación: 31.36%

Cuadro 15. Comparación de medias de las evaluaciones realizadas en el campo. CINCAE.2004.

Evaluaciones (ddi)	Transmisión mecánica
	Medias*
120	15.19 a
210	15.06 a
150	14.9 a
90	13.43 b
180	12.2 bc
240	10.93 c

*Tukey <0.05. Letras distintas indican diferencia significativa
ddi: Días después de la inoculación.

Para comparar la evaluación campo y terrazas entre la evaluación 60 días después de la inoculación donde se obtuvo mayor incidencia y cuando se correlacionó la evaluación de 120 días después de la inoculación se encontró una alta correlación por encima de un 80 %, indicando que no es necesario llevar al campo las variedades.

Se hicieron comparaciones con la primera evaluación cuando estaban en terrazas, a los 60 días y la segunda a los 120 días cuando estaban en el campo y se encontró una alta correlación por encima de un 80 %, indicando que no es necesario llevar al campo las variedades.

Cuadro 16. Calificación a los 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 ddi de acuerdo a la escala de Huttehinson de las 220 variedades de colección universal. CINCAE, 2004.

Escala	Nivel	% de variedades							
		Camas germinación				Campo			
		30 ddi	60 ddi	90 ddi	120 ddi	150 ddi	180 ddi	210 ddi	240 ddi
1	Altamente resistente	34,40	21,82	30,45	29,55	45,45	39,09	36,36	47,5
2	Muy resistente	0,00	0,00	3,64	6,82	2,05	9,55	5,91	4,55
3	Resistente	20,90	20,45	8,63	7,73	2,73	5	8,64	6,36
4	Moderadamente resistente	10,23	17,27	10,91	10	9,55	12,27	12,27	11,36
5	Intermedia	8,30	8,18	9,55	10,91	8,41	6,82	10	8,41
6	Moderadamente susceptible	5,60	6,82	9,55	8,64	6,36	5	5	4,55
7	Susceptible	10,20	8,18	11,36	8,18	9,32	7,73	8,18	6,36
8	Muy susceptible	9,76	15,45	14,09	15,45	11,82	12,72	11,82	7,27
9	Altamente susceptible	0,46	1,82	1,82	2,73	4,32	1,81	1,82	3,64
Total susceptibles (5-9)		34,32	40,45	46,37	45,91	40,23	34,08	36,82	30,23
Correlación		0,92**		0,836**	0,920**	0,967**	0,945**	0,913**	0,882**

** Altamente significativo

5. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusiones

- El áfido negro *Rhopalosiphum maidis*, transmite el virus del mosaico de la caña de azúcar de manera no persistente.
- Los períodos óptimos de ayuno, de acceso a la adquisición y de acceso a la inoculación para transmitir el virus del mosaico fueron 120, 60 y 30 minutos.
- La eficiencia de *R. maidis* en transmitir el Virus del mosaico de la caña de azúcar (ScMV) estuvo alrededor del 75% bajo condiciones controladas.
- *Melanaphis sacchari*, *Perkinsiella saccharicida*, *Sipha flava* no transmitieron el virus de mosaico con los parámetros empleados en el ensayo.
- De acuerdo a la prueba de transmisión mecánica el 53.33% de variedades en estudio calificaron como resistente indicando que existe buenas fuentes de resistencia genética.
- Entre la variedades estudiadas, *R. maidis* presentó preferencia por los clones ECSP98-419 y ECSP98-392. con un promedios de 17.67 y 15.50 individuos por brote.

5.2. Recomendaciones

- Realizar una sola evaluación a los 60 días después de la inoculación, ya que se ahorra: tiempo, espacio y dinero.
- Identificar los tipos de razas del virus del mosaico de la caña de azúcar presente en el Ecuador.

6. BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G. 1996.** Enfermedades de las plantas causadas por virus *In:* Fitopatología. 2.ed México. Editorial Limusa, S.A. p. 671-711.
- ALFARO, J. 1995.** La enfermedad del mosaico en la caña de azúcar. Colombia. P. 231-238.
- CASTILLÓN, A. 2000.** Identificación y caracterización de las proteínas de la caña de azúcar que participan en el silenciamiento de genes. Consultado 19 Jun.2003, disponible en <http://www.mty.itesm.mx/die/ddre/transferecia/Transferencia54/ee54.ht>
- BUSTILLO, A. 1988.** Descripción de áfidos que atacan la papa en Colombia con una clave para su identificación. Boletín Técnico. Instituto Colombiano Agropecuario no. 159. 30 p.
- BUSTILLO, A.; SÁNCHEZ, G. 1977.** Los áfidos en Colombia. Plagas que afectan los cultivos agrícolas de importancia agrícola. Instituto Colombiano Agropecuario p.96.
- FLORES, C. S. 1997.** Las enfermedades causadas por virus Mosaico de la caña *In:* Las Enfermedades de la Caña de azúcar en México. México. P. 187 202.
- GÁRCES, F. 2000.** El mosaico de la caña de azúcar en Ecuador. Mosaico de la caña (Surgarcane mosaic virus potivirus, ScMV) *In:* Principales Enfermedades de la Caña de Azúcar en el Ecuador y Estrategias para su Manejo y Control. Guayaquil. Ecuador. CINCAE, Carta Informativa 2(2):5-6.

- _____. 2001. Efecto del Mosaico de la Caña de azúcar en la producción. Guayaquil. Ecuador. CINCAE, Carta Informativa. 3(1):5-7.
- _____. 2003. Manejo Preventivo de los principales problemas fitosanitarios de la caña de azúcar en Ecuador. Guayaquil. Ecuador. CINCAE, Carta Informativa. 6(3):10-12.
- GAVIRIA, J.** 1995. El "saltahojas hawaiano" *Perkinsiella saccharicida* Kirkaldy (Homóptero Delphacidae), en la caña cañicultura del Ecuador. Cali, Colombia, TECNICAÑA. P. 8-18.
- GARRIDO, M.; TRUJILLO, G.** 1998. Identificación de una nueva raza del Virus del mosaico Enanizante del maíz (MDMV) en Venezuela. Fitopatol. Venez. 1(2): 73 - 81. Disponible en <http://www.redpav-fpolar.info.ve/fitopato/v012/012f0005.html>
- GARRIDO, M.; FERREIRA, I; y UZCÁTEGUF, R.** 1998. Identificación de la Raza D del virus del Mosaico de la Caña de Azúcar 23 N2. Consultado 23 de Jun 2003 disponible en www.Ínter-ciencia.Org/u23/garrido.
- GÓNZALEZ, M.** 1985. Eficiencia de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Homóptero: Aphididae) en la transmisión del virus del mosaico de la caña de azúcar bajo condiciones controladas. Resumen. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Palmira. Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 69p.
- GRISHAM, M.** 2000. Diseases caused for viruses. Mosaic In: A guide to sugarcane diseases. Eds. P. ROOT.; R. BAILEY.; C. COMSTOCK.; B. CROFT.; A. SALEM. CIRAD- ISSCT. France. P. 249 - 254.

- GUZMÁN, M.; VICTORIA, J. 2000.** Evaluación de cinco enfermedades de la caña de azúcar mediante Dot-blot y Tissue- Blot a partir de la misma muestra de tejido. Memoria de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines ASCOLFI. Cali- Colombia. 50 p.
- JAIN, R.; RAO, G.; VARMA, A. (1998).** Present Status of Management of Sugarcane Mosaic Virus *In: Plant Virus Disease Control*. The American Phytopathological Society. Eds. R. HADIDI.; R. KHETARPAL.; KOGANEZAWA. St Paul, Minnesota. P. 495-501.
- KOIKE, H.; GUILLASPIE, G. 1989.** Mosaic. *In : Disease of sugarcane. Major Disease*, Ed. C. Ricaud. Elsevier, Amsterdam. P. 301-302.
- KING, A. SAUNDERS, J. (1984).** Las plagas Invertebradas de Cultivos Anuales Alimenticios en América Central. CATIE. P. 79-127.
- MADRIZ, L. 1992.** Reacción de cultivares de caña de azúcar a los virus mosaico enanizante del maíz raza V y mosaico de la caña de la azúcar razas B y D. Tesis Ing. Agron. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. 93 pp. Consultado 13 de May. 2003, disponible en <http>.
- MATSUOKA, S. 1993.** Virus del mosaico. *In: Manual de Enfermedades del a caña de azúcar*. Ed. A. FORS. El Salvador. P. 29-47.
- MENDOZA, J. 2003^a.** Guía para el reconocimiento y manejo de insectos plagas y roedores de la caña de azúcar, en el Ecuador. Publicación Técnica. CINCAE. Triunfo. Ecuador. No.2: 9-11.
- MENDOZA, J. 2003 b.** Manejo de insectos y roedores en caña de azúcar, en el Ecuador. *In: El cultivo de caña de azúcar en el Ecuador*. Ed. C. BUENAVENTURA. Asociación Ecuatoriana de

Tecnólogos de la Guayaquil de la caña de azúcar. AETA. Guayaquil. Ecuador. P. 31-40.

MARTÍNEZ, B.; FERNANDEZ, R. 2001. La transmisión de los potyvirus por pulgones. Centro de Investigación Biológicas, CSIC. Madrid. Consultado 17 Jun. 2003, disponible en <http://www.inia.es/IASPV/20001/vol/16-2/marti.pdf>.

OJEDA, R.; FLORES, C. 2000. Resistencia varietal a la Enfermedad del mosaico de la caña de azúcar causado por virus. *In*: Proyecto para determinar la Resistencia Varietal al Mosaico, la Roya, El Carbón y la Escaldadura de la Caña de Azúcar. Eds. G. AYALA.; R. MARIN.; J. JUAREZ. México. P. 6-17.

ORDOSGOITTI, A.; APONTE, A.; GONZALEZ, V. 1996. Reacción de variedades cubanas de caña de azúcar a las enfermedades carbón, roya, escaldadura, mancha de ojo y mosaico en Venezuela. En Primera Reunión Latinoamericana sobre las enfermedades de la caña de azúcar. La Habana, Cuba. FONAIAP- CENIAP, Maracay. 26p.

PINÓN, D.; ACEVEDO, R.; CARVAJAL, O.; LEÓN, O. 1997. Caracterización Fisiopatológica de Aislamiento del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (VMCA) 15 (1): 27-37.

PERSLEY, D. 1980. Sugarcane mosaic potyvirus. Consultado 13 Octubre. 2003, disponible en <http://www.uidaho.edu/vide/descr770.htm>

RAO, G.; FORD, R. 2001. Vectors of Virus and Phytoplasma Diseases of Sugarcane –An Overview *In*: Sugarcane Pathology. Eds G. RAO.; R. FORD.; M. TOSIC.; D. TEAKLE. USA. Science Publishers, Inc. p. 268-295.

REA, R.; GONZALEZ, V.; ORDOSGOITTI, A. 1994. Reacción de genotipos de caña de Azúcar *Saccharum sp.* Irbid al a raza B del virus del mosaico de la caña da azúcar. Fitopatol. Venezuela 7 18-21. Consultado 13 May. 2003, disponible en [http //www. Redpav-fpolar. Info. Ve/fitopato/ v 071/v071 a 050. html](http://www.Redpav-fpolar.Info.Ve/fitopato/v071/v071a050.html)

ROTT, P.; BAILEY, R.; COMSTOCK, J.; CROFT, B.; SAUMTALL, A. 2000. A guide to sugarcane diseases. *In* Striate mosaic CIRAD, ISSCT. P. 265 - 267.

SICA, 2004. Servicio de información agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Superficie de caña cultivada y cosechada, producción de caña y azúcar, rendimientos en campo y fábrica. Ecuador. Consultado 10 May. 2003, disponible en <http://www.sica.gov.ec>

YEPEZ, G.; EARLY, M.; FERRER, F.; BLAS, L. 1988. Presencia de la Chicharrita de la Cana de azúcar *Perkinsiella saccharicida* kirkaldy. Homóptera Delphacidae. Venezuela. 6(1):15-21.

VEGAS, A.; CERMELI, C.; TRUJILLO, G. 1986. Áfidos Relacionados con el Virus de la Mancha Anillada de la Lechosa en Venezuela. Transmisión y Eficiencia.

VISWANATHAN, R. 2001. Serodiagnosis of phytoplasmas Causing Gras Shoot Disease in Sugarcane *In: Surgacane Pathology.* Eds G. RAO.; R. FORD.; M. TOSIC.; D. TEAKLE. USA. Science Publishers, Inc. p. 210-219.

_____. **MOHANRAJ, D. 2001.** Detection of Sugarcane Viral Diseases by Serological Techniques *In: Surgacane Pathology.* Eds

G. RAO.; R. FORD.; M. TOSIC.; D. TEAKLE. USA. Science Publishers, Inc. p. 196-206.

ZAMBRANO, A.; FUCHS, M.; DEMEY, J.; GONZÁLEZ, V.; GUTIÉRREZ, Z.; DÍAZ, E. (s.f). Análisis molecular de plantas de caña de azúcar resistentes al virus del mosaico (ScMV). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Laboratorio de Biotecnología. Apdo. 4521. Maracay 2101.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de decisión para metodología de establecimiento de colonias de *M. sacchari*, *S. flava*. CINCAE, 2004

Nro	CARAC. DE	Manipulación	Control de parasitismo	Crecimiento de colonia	Costo	Vigor de material Vegetativo	Total
	DECISION METODOLOGIA						
1	En pequeño trozo de hoja dentro de una caja de Petri con una perforación en la tapa	1	5	2	3	1	12
2	En trozo de hoja sobre esponja orgánica aislado con una botella plástica de 250 cc con una perforación en la parte superior.	5	5	5	4	2	21
3	En pedazos de hojas frescas de hoja fresca de aproximadamente 30 cm de longitud de esponja orgánicas húmedas y estas dentro de una jaula entomológica.	5	2	5	3	2	17
4	En pequeñas plántulas de caña en vasos térmicos (plumazón) y estas dentro de una jaula entomológica	2	1	3	2	3	11
5	En plantas de caña, sobre esponja orgánica húmeda cubierta totalmente con una botella plástica con una perforación en parte superior.	3	3	3	3	3	15
6	En plantas pequeñas sembradas en maceta y estas cubiertas totalmente con tul.	3	1	4	2	4	14
7	Pequeñas plantas de caña sembrada en pequeñas macetas y aisladas con cilindro acrílico	3	3	3	3	3	15

Escala de calificación por su fácil manejo, control de parasitismo, crecimiento de colonia y vigor de material vegetativo

Donde: 1 = malo, 2 = medio malo, 3 = medio, 4 = medio bueno y 5 = bueno.

Escala de calificación por su costo.

Donde: 1 = alto, 2 = medio alto, 3 = medio, 4 = bajo, 5 = muy bajo

Anexo 2. Matriz de decisión para metodología de establecimiento de colonias de *R. maidis*, 2004.

Nro	CARAC. DE DECISION						Total
	METODOLOGIA	Manipulación	Control de parasitismo	Crecimiento de colonia	Costo	Vigor de mat. Vegetativo	
1	En pequeño trozo de hoja dentro de una caja de petri con una perforación en la tapa	1	5	1	1	4	12
2	En pequeñas plántulas de caña en vasos térmicos (plumafón) y estas dentro de una jaula entomológica	5	5	1	2	2	15
3	Pedazos de trozos de hoja frescas de aproximadamente 30 cm de longitud en esponja orgánicas húmedas y estas dentro de una jaula entomológica	2	1	1	3	4	11
4	En pequeñas plantas de sorgo variedad Río sembradas en vasos térmicos (plumafon) y cubierta con botellas plásticas de 2000c.	3	3	3	3	1	13
5	En plantas de <i>Sorghum halepense</i> sembradas en macetas y cubiertas con cilindro acrílico	3	3	4	4	3	17
6	Plantas de maíz sembradas en macetas y cubiertas con cilindro acrílico.	3	3	4	4	3	17
	Plantas de <i>Sorghum halepense</i> sembradas en macetas ubicadas dentro de jaula entomológica	3	2	4	4	2	17
7	Plantas de Sorgo variedad Río sembradas en gavetas dentro de jaula entomológicas a pruebas de insectos.	2	1	2	2	2	8

Escala de calificación por su fácil manejo, control de parasitismo, crecimiento de colonia y vigor de material vegetativo

Donde: 1 = malo, 2 = medio malo, 3 = medio, 4 = medio bueno y 5 = bueno.

Escala de calificación por su costo.

Donde: 1 = alto, 2 = medio alto, 3 = medio, 4 = bajo, 5 = muy bajo

Anexo 3. Prueba de diagnóstico de DBIA Y TBIA

1. Se realizó el bloqueo de la membrana en Tris buffer (TBS) pH de 7.5, adicionando leche descremada al 2% luego se dejó la membrana por un hora en agitación horizontal. Transcurrido el tiempo se enjuagó la membrana por un minuto con TBS.
2. Se incubó la membrana con buffer TBS, leche descremada y el antisuero 1:5000 (RAZA E ATCC PV 115 del ScMV por un tiempo de 3 horas. Transcurrido este tiempo se realizó tres con TBS por 5 minutos.
3. Luego de los tres enjuagues, se incubó la membrana en el conjugado (inmunoglobulina antirabbit preparada en cabras y conjugada con fosfatasa alcalina de marca BIO-RAD). Se mantuvo en agitación con TBS, adicionando leche descremada BIO-RAD al 1%, por un tiempo de tres horas. Finalmente se realizó dos enjuagues con TBS por un tiempo de cinco minutos.
4. Para visualizar la presencia o ausencia de la proteína viral, se realizó el revelado para ello se usó el buffer de sustrato pH 9.5, adicionando NBT (nitro blue tetrazolium), BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphato), cloruro de sodio y cloruro de magnesio. Se dejó la membrana por un tiempo de veinte minutos en agitación en total oscuridad, finalmente se realizó dos enjuagues con agua destilada, para finalizar la reacción.

Para visualizar la presencia o ausencia de la reacción de precipitación de color púrpura se empleó un estéreo microscopio.

Cuadro 4^a. Resultado de diagnostico de la transmisión de ScMV por *S. flava*, *M. sacchari* *R. maidis* y *P. saccharicida* (30, 60 y 90 días después de la transmisión).CINCAE, 2004

Resultados Diagnostico ScMV - con *S. flava*, *M. sachari*, *R.maidis* ,y *P.saccharicida*

Planta	<i>S. flava</i>			<i>M. sacchari</i>			<i>R.maidis</i>			Testigo sin insectos		
	ddt			ddt			ddt			ddt		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90	30	60	90
1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0

ddt: Días después de la transmisión

Cuadro 6a. Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de ayuno de ScMV por *R. maidis* (30, 60 días después de la transmisión). CINCAE, 2004.

Resultados Diagnostico ScMV – Tiempos de ayuno												
Tiempos de ayuno	Eval.	Planta										Total (+)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
5 min.	30 ddt	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	4
	60 ddt	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	4
30 min.	30 ddt	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	4
	60 ddt	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	4
60 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	2
	60 ddt	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	2
120 min	30 ddt	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	5
	60 ddt	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	5

Cuadro 8^a. Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de acceso a la adquisición de ScMV por *R. maidis* (30, 60 días después de la transmisión). CINCAE, 2004

Resultados Diagnostico ScMV – Tiempos de acceso a la adquisición												
Tiempos de adquisición	Eval.	Planta										Total (+)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
5 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
30 min.	30 ddt	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	3
	60 ddt	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	3
60 min.	30 ddt	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	4
	60 ddt	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	4
120 min	30 ddt	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	3
	60 ddt	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	3

Cuadro 10a. Resultados de la evaluación del bioensayo de periodos de acceso a la inoculación de ScMV por *R. maidis* (30, 60 días después de la transmisión).CINCAE, 2004

Resultados Diagnostico ScMV – Tiempos de acceso a la inoculación													
Tiempos de inoculación	Eval.	Planta										Total (+)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
5 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	60ddt	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
30 min.	30 ddt	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3
	60ddt	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3
60 min.	30 ddt	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	2
	60ddt	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	2
120 min	30 ddt	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	60ddt	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1

ddt: Días después de la transmisión

Anexo 4. Clasificación de las variedades en estudio de acuerdo a su origen. CINCAE, 2004.

ORIGEN	NOMBRE	# VARIEDADES
Australia	Pindar	1
Australia	Ragnar	1
Australia	Trojan	1
Australia	Vesta	1
Australia	Eros	1
Australia	Luna	1
Barbados	B	72
Barbados Jamaica	BJ	6
Bihar – Orissa – India	BO	1
Barbados Republica	BRD	5
Cuba	C	13
Campos Brasil	CB	1
Cenicaña Colombia	CC	10
Desconocido	CD	1
Clewiston – USA	CL	1
Coimbatore – India	Co	9
Coimbatore Lyallpur	CoL	1
Canal Point – USA	CP	15
Central Romana	CR	2
Demerara Barbados –	DB	1
Formosa	F	5
Hawai – USA	H	4
Instituto Agropecuario Colombiano	ICA	1
Ingenio Victoria Panamá	IVP	2
Jaronú – Cuba	Ja	3

Continuación Anexo 4 (a)

ORIGEN	NOMBRE	# VARIEDADES
Lyallpur - Pakistan	L	1
Mauritius	M	4
México	Mex	3
Mayari - Cuba	My	2
Central Mayagüez	MZC	2
Natal Coimbatore	NCo	1
Peruana Casagrande Azul	PCGA	1
Philippines	Phil	1
Proefstation Oost Java	POJ	2
Puerto Rico	PR	14
Pasuruan Java	PS	1
Queensland - Australia	Q	8
Republica Dominicana	RD	4
Saipan	S	1
Sao Paulo - Brasil	SP	4
Valdez - Canal Point	VCP	4
Desconocido	Amarilla	1
Desconocido	MPR317	1
Desconocido	PC8	1
Desconocido	SA15	1
Desconocido	San Miguel	1

Anexo 5. Reacción de las diferentes variedades en estudio al virus del mosaico, durante diferentes tiempos de evaluación. CINCAE, 2004.

VARIEDAD	30D	60D	90D	120D	150D	180D
C85-109	12,55	14,23	12,30	4,76	6,74	5,27
B74-109	3,57	0,70	0,00	1,78	4,08	0,00
ICA689	12,60	7,57	6,14	0,00	6,55	7,14
CL47-143	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B73-148	20,00	29,13	23,39	18,55	20,26	8,99
B74-541	67,14	80,24	76,99	64,04	53,53	54,01
B4-520	18,33	29,68	21,75	22,55	27,64	20,77
B74-385	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Q50	15,48	33,95	35,28	51,59	42,08	28,92
B74-154	4,16	3,45	0,00	0,70	1,75	0,83
B75-19	26,88	10,41	7,22	6,89	6,66	1,07
CP55-30	18,75	4,31	4,45	3,26	4,16	0,91
B76-459	41,25	50,79	47,79	41,61	46,07	35,32
PR62-85	22,73	20,83	21,74	15,11	18,75	28,76
MEX52-29	9,26	5,88	3,20	6,76	7,97	3,89
MZC74-1275	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PR64-610	11,26	13,20	10,29	9,93	18,15	19,63
MEX57-413	19,47	16,97	14,63	13,66	12,43	6,53
LUNA	47,78	48,21	52,85	45,45	64,29	14,35
B76-36	8,45	15,24	15,67	10,35	12,45	9,25
C12-883	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CO976	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CO853	8,34	3,06	3,75	1,04	3,39	4,16
AMARILLA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVP75-51	18,42	13,73	9,61	9,09	9,03	5,55
CP72-370	6,66	0,00	2,03	0,00	2,86	1,32
B75-505	12,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CP51-526	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B74-574	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B50-377	28,94	26,73	23,08	33,33	17,65	15,28
B75-74	2,78	3,85	10,77	2,82	9,61	9,74
B74-382	22,92	34,10	38,63	29,76	36,43	52,76
PR76-3385	4,55	1,32	1,92	1,13	1,13	0,00
B75-266	9,09	5,45	6,66	6,69	8,23	5,55
C87-51	4,55	3,57	0,00	0,88	0,00	0,00
B76-612	52,85	54,97	47,79	29,58	49,83	6,94
SP71-8210	0,00	2,88	2,17	2,38	2,03	2,13
JA74-20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B75-524	19,93	23,00	21,37	17,95	35,92	17,01
F54-3345	0,00	2,38	3,34	3,22	3,73	0,00
B46-199	0,00	47,69	52,63	49,01	48,31	55,35
B76-398	20,37	24,34	23,77	23,64	34,78	23,08
B77-132	3,57	4,11	10,52	4,92	4,86	2,74
B74-582	55,21	63,75	62,26	39,07	43,43	32,08
B74-568	19,17	19,83	17,65	35,00	29,25	4,10

Continuación Anexo 5 (a).

VARIEDAD	30D	60D	90D	120D	150D	180D
B74-437	47,06	81,31	77,49	64,11	57,52	81,18
COL9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CP57-536	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B45-151	2,94	0,61	0,00	1,41	0,00	0,00
SP71-6180	4,26	19,30	0,00	0,00	4,41	3,34
B76-692	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B70-531	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Q57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PR902	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
H50-4336	36,73	35,26	29,17	30,83	26,98	11,56
B74-163	24,55	31,03	28,16	25,65	28,38	8,92
B75-399	8,18	12,49	3,17	5,43	25,63	19,41
CO270	10,23	23,01	6,03	2,24	6,52	6,62
SANMIGUEL	10,56	9,68	6,62	4,45	12,44	2,87
CO425	13,60	8,90	7,34	3,80	5,38	3,93
RAGNAR	0,00	5,00	5,39	0,00	5,80	5,55
B75-287	2,09	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00
CC85-63	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22	1,25
F36-819	8,69	8,62	0,00	0,00	0,00	0,00
PHIP54-60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B75-400	51,89	51,13	46,59	33,86	52,51	34,78
B74-515	25,57	29,11	15,10	14,53	19,87	8,06
BJ65-152	15,39	2,38	3,85	4,86	5,17	1,85
B76-463	4,55	2,66	3,45	4,05	5,49	1,64
B77-322	33,03	36,36	32,74	23,05	31,70	80,00
CP47-193	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BO17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SP70-1143	4,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B76-287	14,16	10,60	14,51	14,09	16,92	12,58
B75500	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
L68-40	0,00	8,98	0,00	0,00	0,00	0,00
CP36-105	0,00	1,25	1,66	0,00	0,63	0,00
CC85-92	4,55	2,54	2,04	1,88	1,92	1,88
F148	18,47	18,02	16,12	5,59	18,00	10,56
MY57-15	4,55	5,55	4,76	1,85	4,16	0,00
B75-119	83,00	78,67	100,00	100,00	100,00	95,83
POJ27-14	0,00	4,72	4,00	3,34	4,26	2,50
EROS	48,71	34,67	25,26	27,00	31,19	24,52
B74-400	18,88	14,12	19,40	9,82	12,63	5,22
M31-45	6,66	5,10	8,31	7,19	10,64	5,79
SP70-1284	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCP-119	22,42	37,67	28,74	32,69	37,88	27,42
Q75	72,16	58,82	44,50	83,33	44,27	16,67
PR11-14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C13-781	43,91	51,04	45,64	61,25	60,08	23,86
CC86-33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Continuación Anexo 5 (b).

VARIEDAD	30D	60D	90D	120D	150D	180D
B57-150	19,55	19,32	19,14	15,63	22,80	17,07
VCP039	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SP70-1005	30,77	61,01	52,92	41,82	42,73	38,73
MCZ74-275	29,17	6,61	7,32	5,55	3,26	1,28
H48-4899	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RD75-01	6,98	8,94	13,09	7,66	14,55	4,86
BJ68-11	0,00	2,33	0,00	0,00	0,00	0,00
SA15	12,69	13,02	8,98	7,36	7,45	4,26
JA64-20	2,63	3,00	2,31	1,47	1,57	12,98
CP62-558	29,17	28,95	36,25	20,37	24,03	21,10
B75-104	6,55	16,20	9,72	4,22	9,31	3,10
B76-422	5,88	3,13	11,90	50,00	7,32	3,42
PR10-48	35,90	34,06	27,92	21,14	35,87	28,15
C33-464	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S52-258	5,95	7,20	7,88	7,24	10,70	11,27
B74-224	21,09	27,18	23,42	24,30	25,79	23,82
CC19-99	57,74	54,97	59,84	55,19	53,53	26,88
BJ69-66	8,71	15,39	16,58	15,71	18,33	15,20
CC87-09	0,00	4,04	0,00	0,00	0,00	0,00
BJ70-46	22,78	19,51	11,11	10,49	23,00	15,93
B213	3,57	3,13	3,13	1,51	4,05	0,00
B75-322	7,75	3,95	1,83	1,46	12,31	8,95
CO997	52,74	46,06	30,74	23,57	45,17	33,33
CO421	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B75-368	28,32	18,86	20,83	24,73	28,82	24,81
B47-419	3,85	9,38	5,74	2,59	7,76	5,55
B76-157	13,64	13,34	6,25	8,98	18,42	10,81
B75-310	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BJ68-08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
JAG419	0,00	6,35	0,00	0,00	0,00	0,00
B73-265	9,09	5,43	0,01	5,16	13,84	7,11
B76-297	44,08	65,90	72,56	55,28	82,24	55,06
B75-107	38,50	44,51	46,93	41,79	53,90	39,26
B75-469	13,16	13,78	13,93	9,03	15,14	11,26
PC8	7,14	0,00	0,75	0,78	1,32	0,00
B70-213	36,19	36,55	34,90	32,39	41,22	32,83
CC87-4174	14,10	11,53	13,34	10,56	12,71	10,28
BRD81-27	10,32	12,48	8,93	6,93	13,80	9,06
CP60-01	0,00	4,39	3,19	0,00	4,63	4,47
VCP017	47,88	45,16	43,63	50,00	49,81	50,63
RD81-17	16,17	18,20	5,49	13,64	21,16	3,76
CO617	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PR67-1070	21,06	3,79	3,63	2,78	0,83	0,00
RD81-21	18,61	11,82	12,97	13,06	14,88	15,13
B75-272	13,18	13,31	16,47	16,39	20,56	14,19
B76-78	46,82	53,56	37,03	33,33	50,00	43,16

Continuación Anexo 5 (c).

VARIEDAD	30D	60D	90D	120D	150D	180D
CC84-56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65
C21-8080	2,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00
Q63	19,58	15,85	13,02	8,62	11,75	9,88
H32-8560	11,26	12,79	14,15	11,60	15,31	10,19
CP81-1384	8,69	2,72	0,00	0,00	5,26	3,00
B76-78	22,19	18,90	14,25	18,10	20,95	18,74
B49-119	11,54	12,09	7,38	8,66	8,64	2,33
MY54-128	3,85	1,66	0,00	0,00	0,00	0,00
B75-523	32,05	32,03	45,17	43,04	39,44	42,18
BRD81-28	15,19	17,69	11,73	11,68	12,31	8,11
B77-176	24,51	32,83	27,17	29,64	40,03	28,57
DB13-6156	13,94	18,74	10,28	8,98	13,77	5,80
BJ61-83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B59-233	26,35	25,38	13,14	7,36	9,05	6,03
MEX68-P23	3,90	8,72	9,03	12,22	11,57	3,99
VESTA	5,88	7,89	10,94	2,78	5,70	3,47
CP57-603	2,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
H51-5174	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CO61-01	0,00	0,00	0,00	0,67	0,00	0,56
PINDAR	8,34	3,92	2,28	3,13	4,66	1,59
B76-706	22,50	13,45	9,43	7,08	10,44	4,98
BJ69-05	28,28	11,28	2,24	0,89	57,00	17,52
CC89-2000	4,16	1,04	0,00	0,00	1,51	0,00
C29-470	10,27	10,10	4,86	1,04	3,96	2,88
BJ60-18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B52-107	62,28	63,08	66,39	50,10	73,46	84,03
POJ28-78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CC19-99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B64-278	3,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B60-125	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Q96	97,82	92,46	100,00	100,00	84,49	100,00
C13-281	51,29	37,49	28,99	21,46	22,78	22,90
B70-450	37,59	35,57	24,81	17,28	28,40	19,26
PR62-195	4,55	0,00	0,00	0,00	1,41	0,00
BRD81-25	30,95	21,39	32,83	36,22	45,91	24,16
C12-078	0,00	7,24	0,00	0,00	0,00	0,00
CP53-10	20,96	17,50	17,44	22,85	31,28	24,47
PR10-13	12,50	9,84	3,78	2,59	7,14	3,57
B76-781	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C86-503	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LAR52-604	29,25	36,67	31,51	31,53	51,21	33,83
CP75-133	4,16	8,39	10,49	9,73	13,24	9,52
B74-359	4,55	0,89	0,00	0,00	0,00	0,00
PR10-70	11,58	20,99	6,89	0,00	9,61	0,00
PR905	29,17	30,47	26,56	15,63	31,43	6,32
PR10-00	0,00	0,00	0,86	2,38	4,24	0,00

Continuación Anexo 5 (d).

VARIEDAD	30D	60D	90D	120D	150D	180D
CP62-374	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CB41-76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RD71-11	0,00	0,00	0,00	0,80	0,00	0,00
B70-225	66,67	74,86	55,77	35,85	57,15	39,58
PP-OK	43,96	41,35	38,36	47,31	44,67	15,84
IVP75-14	20,00	20,23	18,24	14,55	25,52	16,99
CO419	22,42	11,40	10,70	8,10	14,15	7,11
B47-413	0,00	2,17	0,00	0,00	0,89	0,00
C10-5173	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C90-501	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CP69-177	0,00	3,57	2,83	3,08	3,90	2,63
PR61-632	2,94	1,32	0,00	0,00	0,00	0,00
F140	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VCP021	40,08	24,94	31,98	38,78	37,97	27,86
B76-708	9,09	20,45	10,44	12,80	15,45	12,16
F151	30,62	16,47	10,72	5,55	10,45	4,61
BRD81-22	26,47	29,87	25,34	25,92	18,83	19,44
Q66	15,27	6,66	1,57	8,57	9,52	9,76
C32-368	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
TROJAN	10,00	11,86	6,25	5,72	9,57	2,44
B71-13	16,02	2,24	0,88	0,74	2,72	1,11
C85-93	20,94	34,20	32,76	16,44	27,03	16,20
Q83	100,00	100,00	100,00	99,09	98,28	75,00
PS1	55,00	43,72	43,50	42,64	36,74	22,08
CR62-321	15,97	4,29	1,96	2,94	2,88	1,82
MPR317	0,00	10,20	3,94	0,00	10,48	8,91
B54-142	8,34	10,09	6,97	2,00	6,53	2,22
B73-16	11,61	10,62	12,22	16,58	25,44	15,80
CPXX-XX	0,00	11,63	0,00	0,00	0,00	0,00
C26-670	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EPC72-174	6,25	3,63	1,57	1,19	1,64	0,89
MUT-VERDE	31,59	18,55	14,80	10,23	23,94	20,95
B77-328	8,76	18,01	21,36	14,70	32,24	14,52
B60-276	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BJ68-11	3,57	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00
M31-145	18,91	25,81	14,93	2,54	8,63	2,00
CR74-250	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 6. Calificación de la reacción mosaico de las 220 variedades CINCAE, 2004

No	Variedad	Incidencia (%)	Escala	Reacción
1	Ja6-419	1,06	1	AR
2	C280-80	1,06	1	AR
3	PR62-195	0,99	1	AR
4	My54-129	0,92	1	AR
5	B74-359	0,91	1	AR
6	B45-151	0,83	1	AR
7	BJ68-11	0,73	1	AR
8	PR61-632	0,71	1	AR
9	SP70-1143	0,69	1	AR
10	CC87-09	0,67	1	AR
11	CP36-105	0,59	1	AR
12	CC85-63	0,58	1	AR
13	B64-278	0,51	1	AR
14	B47-413	0,51	1	AR
15	B75-287	0,50	1	AR
16	C21-8080	0,43	1	AR
17	BJ68-11	0,39	1	AR
18	CP57-603	0,38	1	AR
19	Co61-01	0,20	1	AR
20	RD71-11	0,13	1	AR
21	CC84-56	0,11	1	AR
22	CL47-143	0	1	AR
23	B74-385	0	1	AR
24	MZC74-1275	0	1	AR
25	C128-83	0	1	AR
26	Co976	0	1	AR
27	Amarilla	0	1	AR
28	CP51-526	0	1	AR
29	B74-574	0	1	AR
30	Ja74-20	0	1	AR
31	CoL9	0	1	AR
32	CP57-536	0	1	AR
33	B76-692	0	1	AR
34	B70-531	0	1	AR
35	Q57	0	1	AR
36	PR902	0	1	AR
37	Phil54-60	0	1	AR
38	CP47-193	0	1	AR
39	BO17	0	1	AR
40	B75-500	0	1	AR
41	SP70-1284	0	1	AR
42	PR11-14	0	1	AR
43	CC86-33	0	1	AR
44	VCP-039	0	1	AR
45	H48-4899	0	1	AR
46	C334-64	0	1	AR

Continuación Anexo 6 (a).

No	Variedad	Incidencia (%)	Escala	Reacción
47	Co421	0	1	AR
48	B75-310	0	1	AR
49	BJ68-08	0	1	AR
50	Co617	0	1	AR
51	BJ61-83	0	1	AR
52	H51-5174	0	1	AR
53	BJ60-18	0	1	AR
54	POJ28-78	0	1	AR
55	CC19-99	0	1	AR
56	B60-125	0	1	AR
57	B76-781	0	1	AR
58	C86-503	0	1	AR
59	CP62-374	0	1	AR
60	CB41-76	0	1	AR
61	C10-5173	0	1	AR
62	C90-501	0	1	AR
63	F140	0	1	AR
64	C32-368	0	1	AR
65	C26-670	0	1	AR
66	B60-276	0	1	AR
67	CR74-250	0	1	AR
68	F36-819	2,89	2	MR
69	CP60-01	2,78	2	MR
70	CP69-177	2,67	2	MR
71	B213	2,56	2	MR
72	EPC72-174	2,53	2	MR
73	CC85-92	2,47	2	MR
74	CP72-370	2,14	2	MR
75	F54-3345	2,11	2	MR
76	B75-505	2,08	2	MR
77	CPXXXX	1,94	2	MR
78	SP71-8210	1,93	2	MR
79	B74-154	1,82	2	MR
80	B74-109	1,69	2	MR
81	PR76-3385	1,68	2	MR
82	PC8	1,66	2	MR
83	C87-51	1,498	2	MR
84	L68-40	1,50	2	MR
85	PR1000	1,26	2	MR
86	C120-78	1,21	2	MR
87	CC89-2000	1,12	2	MR
88	PR62-321	4,98	3	MR
89	Ja64-20	3,99	3	MR
90	Pindar	3,98	3	R
91	Co853	3,96	3	R

Continuación Anexo 6 (b).

No	Variedad	Incidencia (%)	Escala	Reacción
92	B71-13	3,95	3	R
93	B76-463	3,64	3	R
94	Ragnar	3,62	3	R
95	My57-15	3,48	3	R
96	CP81-1384	3,28	3	R
97	POJ27-14	3,13	3	R
98	B75-19	9,86	4	MR
99	RD75-01	9,35	4	MR
100	CC85-109	9,31	4	MR
101	CP75-133	9,26	4	MR
102	Co270	9,11	4	MR
103	SA15	8,96	4	MR
104	MZC74-275	8,86	4	MR
105	Q66	8,56	4	MR
106	B49-119	8,44	4	MR
107	S52-258	8,38	4	MR
108	Mex68-P-23	8,24	4	MR
109	B75-104	8,18	4	MR
110	PR10-70	8,18	4	MR
111	San Miguel	7,77	4	MR
112	Trojan	7,64	4	MR
113	M31/45	7,28	4	MR
114	Co425	7,16	4	MR
115	B75-266	6,95	4	MR
116	B73-265	6,77	4	MR
117	ICA689	6,67	4	MR
118	B75-74	6,59	4	MR
119	PR10-13	6,57	4	MR
120	Mex52-29	6,16	4	MR
121	VESTA	6,11	4	MR
122	B75-322	6,04	4	MR
123	B54-142	6,02	4	MR
124	CP55-30	5,97	4	MR
125	B47-419	5,81	4	MR
126	MPR317	5,59	4	MR
127	BJ65-152	5,58	4	MR
128	C29-4-70	5,52	4	MR
129	PR67-1070	5,35	4	MR
130	SP71-6180	5,22	4	MR
131	B77-132	5,12	4	MR
132	BJ69-66	14,99	5	I
133	B59-233	14,55	5	I
134	F148	14,46	5	I
135	RD81-21	14,41	5	I
136	Mex57-473	13,95	5	I
137	B76-287	13,81	5	I

Continuación Anexo 6 (c).

No	Variedad	Incidencia (%)	Escala	Reacción
138	PR64-610	13,74	5	I
139	B76-422	13,61	5	I
140	B76-708	13,40	5	I
141	B74-400	13,35	5	I
142	Q63	13,11	5	I
143	RD81-17	13,07	5	I
144	F151	13,07	5	I
145	BRD81-28	12,78	5	I
146	B75-469	12,72	5	I
147	H32-8560	12,55	5	I
148	B75-399	12,39	5	I
149	Co419	12,31	5	I
150	M31-145	12,13	5	I
151	CC87-4174	12,09	5	I
152	DB13-6/56	11,92	5	I
153	B76-362	11,90	5	I
154	B76-157	11,90	5	I
155	Q50	11,46	5	I
156	B76-706	11,31	5	I
157	IVP75-51	10,91	5	I
158	BRD81-27	10,25	5	I
159	MUT-VERDE	20,01	6	I
160	IVP75-14	19,25	6	I
161	B57-150	18,92	6	MS
162	B76-78	18,86	6	MS
163	B74-515	18,71	6	MS
164	BJ69-05	18,27	6	MS
165	B77-328	18,27	6	MS
166	BJ70-46	17,14	6	MS
167	B75-272	15,68	6	MS
168	B73-16	15,38	6	MS
169	H50-4336	28,42	7	S
170	B70-450	27,15	7	S
171	CP62-558	26,64	7	S
172	B76-398	25,00	7	S
173	C85-93	24,60	7	S
174	B74-163	24,45	7	S
175	B75-368	24,40	7	S
176	BRD81-22	24,31	7	S
177	B74-224	24,27	7	S
178	B50-377	24,17	7	S
179	B74-520	23,45	7	S
180	PR905	23,26	7	S
181	B75-524	22,53	7	S
182	CP53-10	22,42	7	S
183	PR62-85	21,32	7	S

Continuación Anexo 6 (d).

No	Variedad	Incidencia (%)	Escala	Reacción
184	B74-568	20,83	7	S
185	B73-148	20,05	7	S
186	B74-437	68,11	8	MS
187	B52-107	66,56	8	MS
188	B74-541	65,99	8	MS
189	B76-297	62,52	8	MS
190	B70-225	54,98	8	MS
191	Q75	53,29	8	MS
192	CC19-99	51,36	8	MS
193	B74-582	49,30	8	MS
194	C137-81	46,00	8	MS
195	LUNA	45,49	8	MS
196	B75-400	45,13	8	MS
197	SP70-1005	44,66	8	MS
198	B75-107	44,15	8	MS
199	B76-78	43,99	8	MS
200	B76-459	43,81	8	MS
201	B46-199	42,17	8	MS
202	Ps1	40,61	8	MS
203	B76-612	40,33	8	MS
204	B77-322	39,48	8	MS
205	B75-523	38,99	8	MS
206	Co997	38,6	8	MS
207	PPQK	38,58	8	MS
208	B74-382	35,76	8	MS
209	B70-213	35,68	8	MS
210	LAR52-604	35,67	8	MS
211	VCP-021	33,60	8	MS
212	BRD81-25	31,91	8	MS
213	Eros	31,89	8	MS
214	VCP-119	31,14	8	MS
215	C13-281	30,82	8	MS
216	PR10-48	30,51	8	MS
217	B77-176	30,46	8	MS
218	Q96	95,80	9	AS
219	Q83	95,39	9	AS
220	B75-119	92,92	9	AS