

REVISTA



ENTRE  
CAÑEROS



NÚMERO 13 • SETIEMBRE 2019

Revista trimestral del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA). Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA)



## PRESENTACIÓN

Con el gusto de siempre les compartimos el número 13 de la Revista Entre Cañeros, canal de comunicación que nos permite brindar una pincelada de los trabajos que se realizan en DIECA para el sector azucarero en lo referente a temas de actualidad en el área agrícola.

Ponemos a su disposición esta vez una relevante descripción que describe la importancia, el cómo y el por qué de la nomenclatura utilizada para nombrar las variedades de caña de azúcar alrededor del mundo, estamos seguros que esta información les resultará atractiva y contribuirá a revelar el principio y el significado del nombre de las diferentes variedades de caña que se conocen.

Incluimos también los resultados de un significativo trabajo que involucra el diagnóstico de un importante parásito que afecta a la *Diatraea* spp. durante el proceso de reproducción en laboratorio para la cría del parasitoide *Cotesia flavipes*. Este parásito llamado *Nosema* spp. es un importante factor de pérdida que interfiere con la producción de la *C. flavipes*, por lo que tener métodos confiables de detección es vital para el proceso. Lo relevante de este trabajo es que involucra procedimientos de detección por marcadores moleculares, lo que representa un avance de lo que se ha estado trabajando en DIECA en relación al campo de la biología molecular.

Finalmente incluimos en este número una nota técnica con la descripción de la enfermedad del cogollo retorcido o pokkah boeng, la cual ha mostrado un comportamiento variado los últimos años pero con tendencia a aumentar en incidencia y severidad de los ataques.

Esperamos que el material contenido en este número les sea de utilidad. Los invitamos a que nos hagan llegar sus comentarios al correo electrónico echavarría@laica.co.cr y agradecemos la acogida que le brindan a nuestra publicación.

Ing. Erick Chavarría Soto  
Coordinador comité editorial  
Revista Entre Cañeros  
Correo-e: echavarría@laica.co.cr

## CONTENIDO

01

Presentación

04

Nomenclatura y reconocimiento internacional de variedades en el cultivo de la caña de azúcar

21

Diagnóstico molecular de la infección por Nosemosis en larvas y adultos de *Diatraea* spp.

38

Cogollo retorcido de la caña de azúcar o pokkah boeng (*Fusarium moniliforme*)

Revista Entre Cañeros  
Número 13, 30 de setiembre del 2019.

Publicación técnica gratuita del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar  
Producida por la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar.

Avenida 15 y calle 3, Barrio Tournón.  
San Francisco, Goicoechea.  
10802 San José, Costa Rica.  
www.laica.co.cr

Comité Editorial  
Ing. Agr. Erick Chavarría Soto, coordinador.  
Ing. Agr. Marco A. Chaves Solera.  
Ing. Agr. José Daniel Salazar Blanco.  
Ing. Agr. Julio César Barrantes Mora.

## En el Sector Cañero Azucarero Costarricense decimos:

# NO Trabajo Infantil



### ¿Qué legislación existe en Costa Rica, para proteger a los niños y adolescentes?

- Constitución Política.
- Código de la Niñez y la Adolescencia
- Código de Trabajo
- Ley 8922 Prohibición del trabajo peligroso e insalubre para personas adolescentes trabajadoras.

## ¿Qué dice la legislación?

Trabajo Infantil (0-15 años) Es Prohibido	Trabajo adolescente (15-17 años) Permitido con regulaciones
<ul style="list-style-type: none"> <li>• No permite que los niños se desarrollen física, emocional y psicológicamente.</li> <li>• Les puede causar enfermedades, lesiones o deterioro en la salud.</li> <li>• Causa bajo rendimiento o abandono de la educación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se le debe facilitar al adolescente el espacio para estudiar y asistir al centro educativo.</li> <li>• Se le deben dar las mismas garantías como remuneración y vacaciones que a una persona adulta.</li> <li>• La jornada no puede ser mayor a 6 horas diarias ni 36 semanales.</li> <li>• No pueden realizar trabajo nocturno ni trabajos peligrosos, como:</li> <li>• Estar en espacios insalubres con altas temperaturas, espacios cerrados, alturas peligrosas o estar bajo tierra.</li> <li>• Utilizar herramientas o maquinaria peligrosa.</li> <li>• Levantar peso mayor a 15 kg los hombres y 10 kg las mujeres.</li> </ul>



LAICA RSE





*“Esta es una sección para opinión y discusión sobre temáticas de índole exclusivamente técnicas en lo referente al entorno de la producción de caña de azúcar a nivel nacional e internacional, los temas publicados en esta sección no representan ni reflejan las políticas internas o externas de LAICA; ni personifican tampoco la manera de pensar o de opinar del Comité Editorial. Los autores deberán de asumir la responsabilidad en lo personal y de manera independiente por lo que publiquen en esta sección.”*

## NOMENCLATURA Y RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DE VARIEDADES EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

Marco A. Chaves Solera<sup>1</sup>

### Introducción

Las personas que no están vinculadas con la agricultura, y aún aquellas que estando no conocen en lo particular el tema la caña de azúcar, se preguntan con razonable inquietud y curiosidad respecto a la forma tan especial y notoria en cómo se identifican, reconocen, designan y nombran las variedades comerciales de caña.

La expectación surge a partir de la cantidad de siglas, numeraciones, combinaciones, permutaciones y nombres comunes que las conforman, integran y tipifican sin un aparente orden lógico, lo que confunde a muchos y fastidia a otros que optan por colocar en substitución, nombres genéricos basados en signos externos, apreciaciones regionales y personales para reconocerlos con mayor facilidad.

Por naturaleza el ser humano desde sus ancestros ha procurado y requerido tener todo ubicado y clasificado, demandando por ello colocar un nombre o describir una forma para poder individualizar y especificar lo que le interesa, de tal manera que lo pueda luego aplicar para sus fines utilitarios. En esta materia el mundo vegetal no es una excepción y la caña de azúcar tampoco. Es así, como desde hace varios siglos la agroindustria azucarera mundial cuenta con una clasificación de variedades de caña de azúcar que sirve para reconocerlas, diferenciarlas y nombrarlas.

### ¿Por qué la identificación?

Lo cierto del caso es que el tema abordado transcurre por toda una larga historia organizacional de orden, precisión y razonamiento lógico que procura evitar confusiones y establecer por el contrario, un criterio consistente que favorezca y permita ubicar elementos básicos discriminatorios, sobre cualquier material genético de caña que se investigue, cultive comercialmente para fabricar azúcar o simplemente se utilice para fines pecuarios, de consumo humano, se destine a la elaboración de dulce, emplee como biocombustible o como bioenergía.

Considerando que el cultivo de la caña de azúcar esta difundido mundialmente y es de muy amplio uso comercial en más de 130 países, por muchos años genetistas, investigadores, agricultores, instituciones y organizaciones relacionadas con la planta de caña, procuraron establecer un sistema que permitiera la estandarización de los nombres y denominaciones utilizadas para diferenciar las variedades conocidas; todo con el único objetivo de poder diferenciarlas, reconocerlas e identificarlas, evitando con ello la inconveniente confusión. La enorme cantidad y multiplicidad de materiales genéticos existe en un cultivo tan intenso y difundido, vinculado con su fácil y dinámico tránsito en el mundo cañero,

<sup>1</sup>Ingeniero Agrónomo, M. Sc. Gerente. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA-LAICA), Costa Rica. E-mail: mchavez@laica.co.cr. Teléfono (506) 2284-6066.





obliga a inventariarlas antes de proceder con su vulgarización y uso comercial.

### Características tipificantes en la caña

La clasificación de las variedades de caña de azúcar se realiza al igual que acontece con otros vegetales, basados en la presencia, ausencia y forma de órganos fundamentales, como son las raíces, tallos, hojas y flores, o de acuerdo con la presencia de otras estructuras tipificantes propias y muy particulares de la planta. Toda clasificación basada en las estructuras morfológicas y características particulares de cada variedad permite identificarlas con buena precisión hasta el nivel de especie y clon particular. Adicionalmente se dispone hoy día de modernos y sofisticados criterios internos vinculados con la biología molecular y la citogenética, empleando marcadores que dan total certeza del mapa genético de una variedad. Algunos Centros de Investigación utilizan el perfil molecular para el registro y la protección de las variedades que obtienen y generan en sus procesos de investigación. Esa información facilita la identificación de cada genotipo, el se-

guimiento y trazabilidad de su historia familiar y su aporte a la diversidad genética, entre otros aspectos.

El conocimiento de la morfología de las distintas partes de la planta de caña, permite diferenciar tanto especies como variedades, información que es fundamental en la operación de los programas de mejoramiento genético; como también, simplemente para reconocer en particular cada cultivar sembrado o investigado (Chaves 2018a). La planta de caña de azúcar posee como cualquier otro ser vivo, características particulares que las distinguen y tipifican; siendo sin embargo algunas de ellas variables y poco consistentes por responder a criterios fenotípicos cambiantes con el lugar (geografía), entorno agroambiental y condición donde y como se encuentre cultivada. Otras características son por el contrario permanentes y por tanto heredables y transferibles, lo que facilita la identificación por ser la caña reproducida por clonación en forma vegetativa (asexual) por medio de esquejes, asegurando su transcripción.

La descripción detallada de los rasgos botánicos más característicos es una labor que el mejorador desarrolla, particularmente en la fase de investigación de campo cuando se hace evaluación de materiales genéticos promisorios y

con potencial de ser próximamente liberadas para uso comercial. En dicho trabajo se genera información que describe el comportamiento agronómico, la condición fitosanitaria respecto a la sensibilidad a plagas y enfermedades y los resultados agroindustriales más sobresalientes, lo cual es determinante para la decisión final que se adopte. En este caso se reconoce que las características botánicas y anatómicas son de carácter permanente y constante, pues las otras cambian con las condiciones particulares del entorno donde se siembren.

Por caracterización varietal, se entiende la descripción que se establece de la variación existente en una colección de germoplasma, en términos de características morfológicas y

fenológicas de alta heredabilidad, con el objeto de identificar y diferenciar los materiales genéticos presentes. En la caracterización de una especie, como es en este caso el Género *Saccharum* y la especie *officinarum*, se estima la variabilidad existente en el genoma de la población de individuos que la conforman, por lo que resulta indispensable la utilización de descriptores varietales. Un descriptor es una característica o atributo cuya expresión es fácil de medir, valorar y registrar. En la caracterización se utilizan los descriptores, que son caracteres considerados importantes y útiles en la descripción y tipificación de una determinada variedad. Los descriptores para la caracterización deben reunir las siguientes características:



1) ser fácilmente observables y verificables;



2) contar con una alta acción discriminante, y



3) mostrar una baja influencia ambiental (favoreciendo registrar en algunos casos la información en los propios sitios de colecta).



Los principales órganos descriptores utilizados en una caracterización morfológica de variedades de caña de azúcar, se basa especialmente en aspectos organográficos y caracteres botánicos de apariencia y observación externa, teniendo como principales los siguientes: sistema radicular, tallos, hojas e inflorescencia. Dichas secciones poseen estructuras particulares y caracteres morfológicos y agronómicos sobresalientes que son a su vez selectivas y discriminatorias, como son: **Raíces:** presencia de primordios radiculares; **Tallo:** nudos, entrenudos, yemas, anillo de crecimiento, banda de cera, canal de la yema, rajaduras y agallas, zona de raíces, cicatriz de la hoja, presencia de "lalas" o brotes laterales, ahijamiento; **Hojas:** vaina, lígula, aurícula, collar o cuello, nervadura, pubescencia (presencia de pelo), forma del ápice, ancho y borde aserrado de lámina, capacidad de deshoje; **Inflorescencia:** gluma y lemma, ovario, androceo, estambres, gineceo, presencia de pelo (Flores 2001).

Cada una de esas estructuras morfológicas ha sido a su vez organizada, caracterizada y categorizada de manera discriminante por su **forma, tamaño, longitud, grosor, color, ubicación, cantidad, presencia o ausencia**, entre otras. La cantidad y diversidad de variables a medir y evaluar para caracterizar una variedad son numerosas, como se anota en el Cuadro 1, donde se nombran e identifican 55 indicadores correspondientes a variables de índole botánico (23,6%), agronómico (47,3%), de producción agrícola (14,5%) e industriales (14,5%) vinculadas directamente con la fabricación de azúcar. Como se infiere, son numerosos los criterios que existen para establecer la identificación de variedades en el cultivo de la caña, aunque como se anotó al inicio, algunas de ellas son circunstanciales, cambiantes y por tanto poco estables para ese fin (Chaves 2013, 2018a).

### Nomenclatura

Es un hecho conocido que la cantidad de Institutos, Centros Experimentales y Empresas Privadas y Públicas consagradas a la investigación y la mejora genética de variedades

de caña es muy elevada, como lo demuestra el Cuadro 2, donde solo en el Continente Americano se identifican 53 instituciones pertenecientes a 22 países, dedicadas y/o vinculadas con esa labor, como demostración de la importancia económica y social que la caña de azúcar tiene para esas naciones. En el resto del mundo se ubican y anotan en el Cuadro 3, un total de 51 organismos de 26 países orientados a ese mismo fin. Consecuentemente, la cantidad de orígenes, criterios de nombramiento y Siglas descriptivas para reconocerlas son igualmente diversas y numerosas. La cantidad de variedades introducidas y sembradas comercialmente en Costa Rica en diferentes momentos históricos así lo demuestra (Chaves 2013, 2018bc).

En realidad no existen acuerdos, normas o legislaciones formales de acatamiento obligatorio que establezcan y fijen reglas o definan la nomenclatura y el criterio a seguir en el nombramiento de las variedades por parte de un país, un centro de investigación o una empresa que fabrique variedades, lo que genera consecuentemente, criterios discrecionales, como se analizará más adelante. Pese a lo anterior, es conocido que existe un Comité de Germoplasma y Mejoramiento Genético perteneciente a la **Sociedad Internacional de Tecnólogos de la Caña de Azúcar (ISSCT)**, que es una asociación de científicos, tecnólogos e instituciones comprometidas con el progreso de la agroindustria de la caña de azúcar, fundada en el año 1924 y con sede en Isla Mauricio, que ha contribuido con el ordenamiento y operación del sistema internacional vigente. La ISSCT ha realizado numerosas Convenciones con el fin de ordenar y procurar definir el mecanismo y sistema de denominación de variedades de caña de azúcar (Esquivel 1982).

A partir de dichas Convenciones se establecieron criterios de nomenclatura que han sido recomendados por el ISSCT a los países para su aplicación, lo que ha permitido con el tiempo, adecuar los viejos esquemas que históricamente se utilizaron y que generaban gran confusión. Se acordó eliminar signos que confundían, como fueron los paréntesis (.), los dos puntos (:) y la barra transversal (/) que fue reemplazada por el guión simple (-).

Los criterios recomendados se concentran en los tres primeros que se indican a continuación, según orden de factores:

- 1) **Iniciales - Año - Número de selección**
- 2) **Iniciales - Año - Número de cruce - Número de selección**
- 3) **Iniciales - Número de liberación o serie**
- 4) **Iniciales - Número de selección - Año**
- 5) **Año - Iniciales - Número de selección**
- 6) **Año - Serie numérica**
- 7) **Nombres comunes**

Como se infiere existe una alta compatibilidad entre algunos de los mismos, ubicando sus descriptores como sigue:

### Iniciales:

Va referido al país, Centro de Investigación, Estación Experimental o compañía que los generó. Se refiere a su origen y procedencia.

### Año:

Puede referirse al año en que se realizó el cruzamiento o fue hecha la selección; aunque también al año en que la semilla o las plántulas (*seedlings*) fueron sembradas en el campo, entre otras versiones.

### Número:

El mismo puede asignarse a la parcela, a los *seedlings*, a la selección de las plántulas, al estado de selección o a propiamente a la liberación, etc.

### Nombre propio:

Por muchos años se practicó por parte de algunos centros experimentales, principalmente australianos y asiáticos, el asignar un nombre a los clones liberados para uso comercial.

Como se infiere de las denominaciones y criterios de nomenclatura anteriores, son múltiples las posibilidades de combinación y permutación que se genera para dar nombre a una nueva variedad. A continuación se exponen algunos ejemplos prácticos de reconocimiento de clones:

### Iniciales de origen:

**B= Barbados, BO= India, BBZ= Belice, C= Cuba, CC= CENICAÑA (Colombia), CG= CENGICAÑA (Guatemala), CL= Clewiston (USA), Co= Coimbatore (India), CP= Canal Point (USA), CR= Central Romana (República Dominicana), D= Demerara (Guyana), EA= Kenya, G= Egipto, H= Hawái, J= Jamaica, L= Louisiana (USA), Mex= México, N= Sudáfrica, NA= Norte Argentino (Argentina), Ni= Japón, Phil= Filipinas, PS= Indonesia, Q= Queensland (Australia), R= Reunión (Francia), RB= Brasil, RD= República Dominicana, Si= India, SP= São Paulo (Brasil), T= Tucumán (Argentina), V= Venezuela, entre muchas otras como puede comprobarse en el Cuadro 4 donde se anotan 146 Siglas descriptivas diferentes (Machado Jr. 1991, 2001). Puede haber orígenes de carácter institucional como sucede con los clones **LAICA** de Costa Rica.**

Las iniciales permiten combinar orígenes, como acontece con los siguientes clones, en los cuales varían el origen de la semilla y el lugar de selección: **BBZ=** semilla de Barbados seleccionada en Belice; **BJ=** semilla de Barbados seleccionada en Jamaica; **BL=** semilla de Barbados seleccionada en Pakistán; **BT=** semilla de Barbados seleccionada en Trinidad & Tobago; **BR=** semilla de Barbados seleccionada en Romana República Dominicana; **CGCP=** semilla de Canal Point seleccionada en Guatemala; **DB=** semilla de Barbados seleccionada en Demerara-Guyana; **HJ=** semilla de Hawái seleccionada en Jamaica; **RBB=** semilla de Brasil seleccionada en Bolivia; **HoCP=** semilla de Canal Point seleccionada en Louisiana; **KnB=** semilla de Barbados seleccionada en Sudán; **LCP=** semilla de Canal Point seleccionada en Louisiana; **LHo=** semilla de Houma seleccionada en Louisiana; **NCo=** semilla de Coimbatore India seleccionada en Natal Suráfrica y **PGM=** semilla de México seleccionada en Guatemala, entre muchas otras combinaciones.

### Origen - Año - Número de selección:

Esta combinación es muy común como revelan las variedades **B 43-62, B 47-44, B 82-333, BJ 82-119, BT 65-152, CC 01-1904, CP 72-2086, CR 60-5, LAICA 04-809, H 32-8560, H 77-4643, IAC 91-2218, L 60-14, Mex 68-p-23, NA 85-1602, PR 80-2038, RB**





**86-7515, RD 75-11, SP 71-5574, SP 79-2233 y SP 81-3250**, entre otras, donde el primer valor corresponde al año. En este caso particular aplican los criterios 1) Iniciales - Año - Número de selección y 2) Iniciales - Año - Número de cruce - Número de selección mencionados al inicio. También se emplearon claves descriptivas como **M 1246/84** para describir ese clon procedente de Mauricio correspondiente al año 1980. Hay variaciones a la regla al nombrar la Serie, como sucede con el clon **US 52-13-1**, donde 13 representa el cruce o número de colección de la semilla.

### Origen - Serie numérica de liberación:

Como acontece con los clones **Q 96, Q 132, Co 421, Co 997, F 177, NCo 310, NCo 376, PR 980**.

### Iniciales - Número de selección - Año:

Algunas pocas Estaciones y Centros Experimentales aplica este ordenamiento en su sistema, como es el caso de las variedades generadas en Guyana **DB 5/55** y Mauricio **M 1030/71**.

### Año - Iniciales - Número de selección:

Esta designación aplica en clones como **62D9**.

### Nombre propio:

Fueron muy utilizados en África del Sur, Madagascar, Java, Fiji y por la connotada Estación Experimental australiana "Colonial Sugar Refining Company", la cual colocó nombres muy especiales, algunos relacionados con figuras

clásicas y mitológicas. Se citan variedades como: **Ajax, Aiwa, Akbar, Apolo, Atlas, Balbus, Beqa, Brutus, Cadmus, Castor, Cassius, Cato, Comus, Corvus, Crassus, Cyclops, Damon, Eros, Galba, Galoa, Hector, Helius, Henja, Hera, Homer, Janus, Jason, Juno, Kaba, Kansar, Luna, Mali, Mana, Marcus, Marius, Mentor, Midas, Neptune, Nero, Nestor, Numa, Orpheus, Orion, Ortho, Pelorus, Pepe Cuca (PPQK), Pindar, Pluto, Pollux, Pompey, Ragnar, Remus, Sabre, Saccharina, Salvo, Salute, Samson, Saturn, Scipio, Sidon, Sirius, Solon, Sulla, Tritón, Trojan, Varus, Vatu, Venus, Vesta, Vidar, Vomo, Vulcan, Waya, Woden, Yasawa y Zeus**, entre otras (Machado Jr. 1991, 2001; Esquivel 1982; Flores 2001).

### Cañas silvestres o no identificadas:

En estos casos aplican también nombres propios, una designación que caracteriza la región o lugar de procedencia o biotipos de las especies silvestres del género *Saccharum*, como sucede con: **Azul del Perú, Badilla, Bamboo, Banteng Java, Batjan, Berlin, Black Fiji, Black Cheribon, Blanca de Castilla, Bodas de Oro, Bourbon, Cavengirie Roja, Cayana, Criolla, Caledonia, Cheribon, Chittan, Chuk Che, Chunnee, Cinta, Cristalina, Diamond, Estriped Mexican Fiji, Formosa, Galaga, Garoem, Goru, Gloria, Green Dutch, Guam, Haak Kwat Che, Habanera, Hasuda, Hatooni, Hawi, Holes, Honokaa, Honomu, Horne, Hualien, Innis, Ireng Maleng, Kaiwiki, Kalimpong, Kara Kara Wa, Karia, Kassoer, Katha, Keong, Kewali, Kohala, Komteng, Korpi, Krevet, Lahaina, Lakhapur, Light Preanger, Loethers, Louisiana Purple, Luzon White, Mandalai, Mahvoavi, Manjav, Manteiga, Mercedita, Migronne, Monjet Gayan, Morada, Muck Che,**

**Nagori, Nargori, Negrita, Onomea, Oshima, Otaheite, Padangache, Pagangsche Dark, Palma, Pangka, Peikang, Pitu, Porvenir, Raratonga, Rayada, Red Egipthian, Rioas, Roma, Saharampur Black, Saipan, San Pablo, San Manuel, San Nicolas, Saraband, Selemi Bali, Shahjahampur, Striped Preanger, St Aubin, St John, Sumatra, Sylvia, Tabongo, Tahiti, Taiwan, Toledo, Tombiapa, Tukuyo, Twiss, Uba, Uba India, Uba Marot, U-Thong, Wolmer, Wood Cane, Yasawa, Yellow Bomboo, Yellow Caledonia.** Como se infiere la cantidad es grande aunque este sistema ha sido superado y lo que queda es producto más de la historia.

### Variedades nacionales Sigla LAICA

En relación a la creación de DIECA, señala Chaves (2017), que la misma ocurrió "Luego de un amplio y profundo análisis institucional se logra mediante el consenso y beneplácito alcanzado entre productores e industriales agrupados en la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), la aprobación en Sesión Nº 939 del 25 de mayo de 1982,..."

En relación con el tema de las variedades de caña, anota Chaves (2018a), que "...el programa de mejora genética siguiendo la vía sexual y no la asexual mediante introducción de clones del exterior, inicio formalmente a partir de 1982 con la creación de la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), lo que operó por varios años mediante la adquisición de semilla verdadera (fuzz) por donación de países amigos. Señala Chaves (2017) al respecto, que "Luego de 1983 se procede con la importación de semilla sexual o verdadera (fuzz) procedente de México, Barbados y dos Estaciones de Brasil. Se importaban 10 g de semilla por cruce y de 10 a 20 cruces de cada estación por año." Fue sin embargo en el año 1998, cuando se realizaron las primeras pruebas formales de hibridación en el país, los cuales culminaron con los cruzamientos dirigidos de clones de interés agroindustrial con fundamento en su antecedente productivo, lo que se fortaleció luego del año 2000 (Durán y Alfaro 2015).

Los clones nacionales fueron nombrados y reconocidos tanto nacional como internacio-

nalmente por medio de la sigla LAICA, en reconocimiento a la institución que los generó como fue la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar. No se utilizó la sigla CR (Costa Rica) como se pudiera pensar, en consideración de que ya aplicaba en República Dominicana."

Es importante reseñar que en el año 1982 se optó por colocar la sigla LAICA y no CR alusiva a Costa Rica a los híbridos generados por DIECA, debido a que estaba en ese entonces vigente la Sigla CR como expresión de Central Romana, referida a los clones fabricados en República Dominicana.

Amplia el mismo autor (Chaves 2018a) en referencia al tema, manifestando, que "...en el año 1998 se pensó en la conveniencia de realizar cruzamientos en nuestro país, que permitieran obtener la semilla sexual requerida por el programa, para llevar adelante esta línea de selección y aumentar a la vez la producción de clones LAICA.

Fue así como los primeros cruzamientos de caña de azúcar en Costa Rica se realizaron en el año 1998 y ya para el año 2000, la cantidad de cruces realizados permitió sembrar únicamente semilla sexual nacional, labor que se ha mantenido así hasta la fecha en que nos encontramos. Del año 2000 para acá se han incrementado el número de cruces a realizar por año o campaña de





*cruzamiento, trabajando con cruces biparentales como con poli cruces, además, se han incorporado en este trabajo una mayor cantidad de variedades, tanto comerciales como promisorias, con la finalidad de ampliar un poco más la diversidad genética.”*

En su nombramiento los clones nacionales incorporan el criterio de: Iniciales - Año - Número de serie o selección; donde por ejemplo la bien ponderada **LAICA 03-805**, corresponde a un cruzamiento realizado por el programa durante la campaña del año 2003 y el 805 a su número de serie. Sobre este último aspecto, vale indicar que la asignación de la serie se distribuye y aplica regionalmente de la siguiente forma: Valle Central va de 0 a 200; Turrialba - Jiménez de 200 a 300; Guanacaste - Puntarenas de 300 a 500; Zona Norte (San Carlos y Los Chiles) de 600 a 800 y a los clones evaluados en la Zona Sur (Pérez Zeledón-Buenos Aires), se les asigna la serie mayor a 800. Al sembrar las plántulas en el vivero primario se asigna un número de serie continuo de acuerdo con la región correspondiente, por lo que en el ejemplo

indicado, correspondió al número 805. Igual criterio aplica en la interpretación de nomenclatura de otros clones destacados, como son **LAICA 00-301, LAICA 01-604, LAICA 04-250, LAICA 05-805, LAICA 07-20**.

### Nombres comunes en Costa Rica

La creatividad del agricultor en su afán de facilitar el entendimiento de las cosas, le ha permitido dar nombre propio a algunas variedades de caña, lo cual es por lo general de carácter regional y local perdiéndose algunas veces al proyectarla a otros ámbitos de cultivo, como acontece en los siguientes casos: “Peluda” para reconocer la **H 44-3098**, “Santa Cruz” la **H 32-8560**, “Colombiana” la **MC 666** y hasta derivaciones personales, como ocurre con la reconocida “Saboriana” en la Región Norte de nuestro país. En esa misma zona se conoce también a **B 76-259** como “Turrialbeña”, a **B 77-95** como “Turrialbeña Mejorada” y “Bambu” a la **B 76-385**. En la Zona Sur la “QMincho” referencia a la Q 68. Hubo variedades tradicionales de muy

amplio uso comercial como fueron la “Caña Hueso” y la “Caña India o Blanca”, que correspondían a la **Co 617** y **Co 281**, respectivamente.

La recordada **B 43-62** fue conocida como “La Reina”. Otras denominaciones más sensibles como “Amarilla”, “Morada”, “Rayada” y “Bamboo”, aplican para el caso de las “Cañas Nobles”. Por lo

anterior, una misma variedad puede inclusive ser reconocida de manera diferente entre localidades productoras. Esta particularidad tiene el inconveniente de que hace perder el concepto de trazabilidad e individualidad genética requerida para identificar los progenitores originales del cultivar, como también los antecedentes y trayectoria productiva de una variedad.

### Conclusiones

- 1) La institucionalidad vinculada con la generación y fabricación de variedades es muy alta, tanto a nivel del Continente Americano como mundial.
- 2) La cantidad y diversidad de clones que se fabrican y movilizan para investigación y uso comercial en el mundo es muy significativa.
- 3) La Sigla que identifica, caracteriza y describe cada variedad, resulta fundamental como criterio de trazabilidad, ubicación e información de los progenitores y antecedente agro productivo referencial de las mismas.
- 4) La correcta identificación y descripción botánica de los biotipos de caña que se liberen para uso comercial, debe fundamentarse en la aplicación de criterios e indicadores objetivos y representativos que discrecionalmente tipifiquen cada material genético específico.
- 5) Es reconfortante comprobar que la Sigla descriptiva LAICA, está registrada y es reconocida a nivel mundial como producto de la visión y el esfuerzo institucional y tecnológico nacional.
- 6) Es fundamental que toda la operación institucional, productiva y tecnológica vinculada con variedades de caña de azúcar, se conduzca y opere bajo criterios apegados a la normativa internacional en materia de nomenclatura de variedades.
- 7) Es importante y de muy alto valor agregado, informar, instruir y capacitar al productor nacional de caña de azúcar, sobre la importancia de controlar y asegurar la identificación correcta de las variedades sembradas comercialmente en el campo.
- 8) Resulta necesario realizar Censos Nacionales periódicos con el objeto de conocer y llevar cuenta detallada de las variedades cultivadas en el país, lo que permite comprobar el potencial disponible y el grado de variabilidad de los materiales genéticos prevaleciente.





Literatura citada

Chaves Solera, M.A. 2013. Composición del Banco de Germoplasma de caña de azúcar de Costa Rica. San José, Costa Rica. LAICA-DIECA, enero. 28 p

Chaves Solera, MA. 2017. DIECA: 35 años al servicio de la agricultura cañera costarricense. San José, Costa Rica. LAICA-DIECA, febrero. 29 p.

Chaves Solera, MA. 2018a. Genética aplicada a la mejora de las plantaciones comerciales de caña de caña de azúcar. In. Congreso Tecnológico DIECA 2018, 7, Colegio Agropecuario de Santa Clara, Florencia, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Memoria Digital. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), 29, 30 y 31 de agosto del 2018. 43 p.

Chaves Solera, MA. 2018b. Siembra comercial de variedades de caña de azúcar: *dinámica histórica de su cultivo en Costa Rica*. In. Congreso Tecnológico DIECA 2018, 7, Colegio Agropecuario de Santa Clara, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Memoria Digital. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), 29, 30 y 31 de agosto del 2018. 89 p.

Chaves Solera, MA. 2018c. Las 75 variedades de caña de azúcar más sembradas comercialmente en Costa Rica durante el periodo 1986-2016 (30 años). San José, Costa Rica. LAICA-DIECA, setiembre. 15 p.

Esquivel R., EA. 1982. Nomenclatura usada en las variedades de caña de azúcar. San José, Costa Rica. LAICA-DIECA. 42 p.

Flores Cáceres, S. 2001. Las variedades de caña de azúcar en México. 1era Edición. México D.F. 308 p.

Machado Jr., GR.; Walker, DIT. 1991. Variety Notes. 5th Revision. "an international directory". Piracicaba, Brazil. Centro de Tecnologia Copersucar, january. 74 p.

Machado Jr., GR. 2001. Sugarcane Variety Notes "an international directory". 7th Revision. Piracicaba, Brazil, february. 132 p.



Cuadro 1.

Variables botánicas y agroindustriales (55) empleadas por los programas de Mejora Genética en la caracterización de variedades de caña de azúcar.

No.	Variable	No.	Variable
A	Características botánicas (13)	29	Pubescencia - contenido de pelusa
1	Fertilidad del pólen	30	Verdor fotosintético de hojas
2	Color del tallo	31	Inicio de floración
3	Presencia de raíces aéreas	32	Final de floración
4	Forma del entrenudo	33	Porcentaje de floración
5	Forma de la yema	34	Altura promedio de la planta (m)
6	Posición de la yema	35	Índice de crecimiento
7	Presencia de aurícula	36	Tolerancia al ataque de plagas
8	Forma de dewlaps	37	Tolerancia al ataque de enfermedades
9	Forma de la lígula	38	Tolerancia a herbicidas
10	Presencia de cicatriz foliar	39	Tolerancia a la acidez del suelo
11	Forma del nudo	C	Producción de campo (8)
12	Rajadura de corteza	40	Número de tallos molibles e industrializables
13	Número de hojas activas	41	Altura promedio de tallos al corte (m)
B	Características agronómicas (26)	42	Peso promedio de tallo molible (kg)
14	Porcentaje de germinación	43	Producción de caña (t/ha)
15	Número promedio de hijos/m	44	Producción cogollo (t/ha)
16	Capacidad de encepamiento	45	Producción total de biomasa verde (t/ha)
17	Capacidad de retoñamiento	46	Producción de semilla (t/ha)
18	Capacidad de cierre en campo	47	Facilidad de corte y cosecha
19	Población promedio de tallos (#/m)	D	Industriales - fabricación de azúcar (8)
20	Longitud de tallos (m)	48	Brix % jugo
21	Diámetro promedio de los tallos (m)	49	Pol % jugo
22	Número promedio de entrenudos	50	Pureza % jugo
23	Longitud promedio de entrenudos (cm)	51	Fibra % caña
24	Número promedio de entrenudos/mes	52	Producción de bagazo (t/ha)
25	Hábito de crecimiento	53	Producción de cachaza (t/ha)
26	Deshoje natural	54	Contenido de azúcares reductores
27	Volcamiento de tallos	55	Rendimiento industrial (kg azúcar/t caña)
28	Presencia de "lalas"		





### Cuadro 2.

Institutos, Estaciones y Centros Experimentales (53) ubicados en el Continente Americano donde se realizan cruzamientos de caña de azúcar.

No.	País	Instituto / Centro Experimental	Logo
1	Argentina	Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán	EEAOC
2	Argentina	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria	INTA
3	Argentina	Chacra Experimental Agrícola Santa Rosa	CSR
4	Barbados	West Indies Central Sugar Cane Breeding Station	WICSCBS
5	Barbados	Agronomy Research & Variety Testing Station	BAMC
6	Bolivia	Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología de la Caña de Azúcar	CIMCA
7	Brasil	Instituto Agrônômico de Campinas, Piracicaba, Station	IAC
8	Brasil	Instituto Agrônômico de Campinas, Jau Station	IAC
9	Brasil	Instituto Agrônômico de Campinas, Ribeirão Preto Station	IAC
10	Brasil	Cooperativa de Produtores Cana, Açúcar y Alcohol, Est. São Paulo	COPERSUCAR
11	Brasil	Federal University San Carlos (campus Araras)	UFSCAR
12	Brasil	Federal University of Alagoas	UFAL
13	Brasil	Federal Rural University of Rio de Janeiro (campus Campos)	ENA
14	Brasil	Federal Rural University of Pernambuco (campus Carpina)	UFRPE
15	Brasil	Federal University of Parana	UFPR
16	Brasil	Federal University of Viçosa	UFV
17	Brasil	Centro de Tecnologia Canavieira	CTC
18	Colombia	Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia	CENICAÑA
19	Colombia	Centro Internacional de Agricultura Tropical	CIAT
20	Costa Rica	Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar	DIECA
21	Cuba	Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar	INICA
22	Cuba	Instituto Cubano de Investigaciones Azucareras	ICINAZ
23	República Dominicana	Central Romana Corporation	La Romana
24	Ecuador	Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar del Ecuador	FIAD-CINCAE
25	Guadalupe	Centre de Coop. International en Recherche Agron. Pour le Development	CIRAD-AD
26	Guatemala	Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar	CENGICAÑA
27	Guyana	Guyana Sugar Corporation Ltd.	GUYSUCO
28	Jamaica	Sugar Industry Research Institute	SIRI
29	México	Cámara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcoholera	CNIAA
30	México	Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, A.C.	CIDCA
31	Martinica	Centre Technique de la Canneet du Sucre	CTCS
32	Panamá	Azucarera Nacional	AZ
33	Paraguay	Centro Azucarero Paraguayo	CAP
34	Puerto Rico	University of Puerto Rico	Puerto Rico
35	Trinidad & Tobago	Caroni Research Station	CRS
36	USA	American Sugar Cane League, Louisiana	ASCL-LA
37	USA	Sugar Research Station, St. Gabriel, Louisiana	LSU
38	USA	Agronomy Department - Louisiana State University	LSU
39	USA	Brigham Young University, Utah	BYU
40	USA	California Institute of Biotechnological Research	CIBR
41	USA	Cornell University Plant Breeding, New York	CU
42	USA	Hawaii Agriculture Research Center	HARC-HSPA
43	USA	National Germoplasm Resources Lab-Quarantine-Md	USDA
44	USA	Subtropical Horticultural Research Unit-Miami	USDA
45	USA	Texas Agricultural Exp. Station - Texas A&M, Weslaco	TAES
46	USA	Texas A & M University, College Station	TAEM
47	USA	United States Sugar Co, Florida	USSUGAR
48	USA	Sugar Cane Field Station - Canal Point, Florida	USDA
49	USA	ARS Southern Regional Research Center, Houma, Louisiana	USDA
50	USA / ISSCT	Sugar Cane Collection	USA / ISSCT
51	Uruguay	Cooperativa Agraria Limitada del Norte Uruguayo	CALNU
52	Venezuela	Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias	FONAIAP
53	Venezuela	Fundación Azucarera para el Desarrollo, la Productividad y la Investigación	FUNDACAÑA

Fuente: Machado Jr. (2001); adaptado y ampliado por el autor (2019).

\* Algunos de los Institutos y Centros de Investigación han perdido vigencia.

### Cuadro 3.

Institutos, Estaciones y Centros Experimentales (51) ubicados en Australia, África, Asia y Oceanía, donde se realizan cruzamientos de caña de azúcar.

No.	País	Instituto / Centro Experimental	Logo
1	Australia	Bureau of Sugar Experiment Stations	BSES
2	Australia	Meringa Sugar Experimental Stations	BSES
3	Australia	Bundaberg Sugar Experimental Stations	BSES
4	Australia	Colonial Sugar Refinery Ltd.	CSR
5	Australia	CSIRO - Tropical Agriculture (Long Pocket)	CSIRO
6	Australia	CSIRO - Tropical Agriculture Lab (Davies)	CSIRO
7	Australia	Sugar Research & Development Corporation	SRDC
8	Australia	University of Queensland	UQ
9	Bangladesh	Sugarcane Research Institute	SRI
10	China	Sugar Industry Research Institute Council of Light Industry	SIRI
11	China	Guangxi Sugarcane Research Institute	GSRI
12	China	SRI - Yunnan Agricultural University	SRI - YAU
13	China	Yunnan Academy of Agricultural Science	YAAS
14	Egipto	Ministry of Agriculture, Agricultural Research Center	ARC
15	Egipto	Kom-Ombo Sugar Factory Cane Research Station	Kom-Ombo
16	Fiji	Fiji Sugar Corporation	FSC
17	Francia	Centre de Coop. Intern. en Rescherche Agron. pour le Development	CIRAD-CA
18	India	Sugarcane Breeding Institute	ICAR-Co
19	India	Indian Institute of Sugarcane Research	ICAR-Lucknow
20	India	Vasantdada Sugar Institute	VSI
21	Indonesia	Indonesian Sugar Research Centre	P3GI
22	Ivory Coast	Centre de Coop. Intern. en Rescherche Agron. pour le Development	CIRAD-CA
23	Japón	National Institute for AgroBio Resources	NIFAR
24	Japón	Tropical Agriculture Research Center	TARC
25	Japón	Okinawa Prefect. Agricultural Experimental Station	OPAES
26	Japón	National Kyushu Agricultural Experimental Station	LSB
27	Kenya	National Sugar Research Centre	KIBOS
28	Kenya	Kenya Sugar Research Foundation	KSRF
29	Kenya	Kenya Department of Agriculture	KDA
30	Malasia	Kilang Gula Felda Perlis Sdn. Berhad	KGFPBS
31	Mauricio	Mauritius Sugar Industry Research Institute	MSIRI
32	Marruecos	Centre Technique de la Canne a Sucre	ORMVAG-CTCS
33	Pakistán	Shakarganj Sugar Research Institute	SSRI
34	Pakistán	Dewoe Farooq Pakistan	DFSRI
35	Pakistán	Sugarcane Research Institute	SRI
36	Papua Nueva Guinea	Biotechnology Center - Un of Technology	BC-UT
37	Papua Nueva Guinea	Ramu Sugar Limited	RS
38	Filipinas	Philippine Sugar Research Institute	PHILSURIN
39	Filipinas	Sugar Regulatory Administration	SRA
40	Reunión	Centre de Coop. Intern. en Rescherche Agron. pour le Development	CIRAD-CA
41	Reunión	Saint Denis Messagerie	CIRAD-CA
42	Senegal	Compagnie Sucriere Senegalaise	CSS
43	Sur África	South African Sugar Association	SASA
44	Sri Lanka	Sugarcane Research Institute	SRI
45	Sudán	Sugarcane Research Dept. Kenana Sugar Co. Ltd.	
46	Suazilandia	Swaziland Sugar Association	SSA
47	Taiwán	Taiwan Sugar Research Institute - ROC	SRI
48	Tailandia	Field Crops Research Institute (Departament of Agriculture)	FCRI
49	Tailandia	Suphan Buri Field Crops Research Centre	FCRI
50	Zambia	Zambia Sugar PLC	MASUGAR
51	Zimbabwe	Zimbabwe Sugar Association	ZSA

Fuente: Machado Jr. (2001).





### Cuadro 4.

Descripción de las Siglas genéticas (146) que identifican el origen de las variedades de caña de azúcar.

No.	Sigla	País	Semilla procedente de	Seleccionada en	Instituto
1	B	Barbados	Barbados	Barbados	WICSCBS
2	BBZ	Belice	Barbados	Belice	Belize Sugar Ind.
3	BF	Pakistán	Barbados	Faisalabad, Punjab	SRI
4	BJ	Jamaica	Barbados	Jamaica	SIRI
5	BL	Pakistán	Barbados	Faisalabad, Punjab (Lyallpur)	SRI
6	BO	India	Coimbatore	Bihar, Orissa	ICAR
7	BR	República Dominicana	Barbados	Romana	Central Romana
8	BRD	República Dominicana	Barbados	República Dominicana	
9	BT	Trinidad-Tobago	Barbados	Trinidad	Caroni Res. Sta.
10	C	Cuba	Cuba	Cuba	INICA
11	CB	Brasil	Brasil	Brasil	
12	CCT	China	Yachen, China	Zhizhog, China	SSPIRISP
13	CCSP	Colombia	Brasil	Colombia	
14	CFJ	China	Yachen, China	Zhangzhou, China	SRI, FAAS
15	CFN	China	Yachen, China	Fuzhou, China	RIS, FAU
16	CG	Guatemala	Guatemala	Guatemala	CENGICAÑA
17	CGCP	Guatemala	Canal Point	Guatemala	CENGICAÑA
18	CGD	China	Yachen, China	Guangzhou, China	SIRI, CNCLI, ECRI, DAAS
19	CGM	Guatemala	México	Guatemala	CENGICAÑA
20	CGSP	Guatemala	Copersucar, Brasil	Guatemala	CENGICAÑA
21	CGX	China	Yachen, China	Nanning, China	GXSRI
22	CHZ	China	Yachen, China	Yacheng, China	HSBS, SIRI
23	CIMCA*	Bolivia	Bolivia	Santa Cruz de la Sierra	CIMCA
24	CJC	China	Yachen, China	Ganzhou, China	JGSSRI
25	CL	USA	Clewiston	Clewiston, Florida	US.Sugar Co.
26	CMT	China	Yachen, China	Zhangzhou, China	SRI, FAAS
27	Co	India	Coimbatore	Coimbatore/Tamil/Nadu	ICAR, SBI
28	CoA	India	Coimbatore	Anakapalle (AP)	ICAR
29	CoC	India	Coimbatore	Cuddalore (TN)	ICAR
30	CoH	India	Coimbatore	Haryana	ICAR
31	CoJ	India	Coimbatore	Jalandhar	ICAR
32	CoK	India	Coimbatore	Karnal	
33	CoL	Pakistán	Coimbatore	Faisalabad, Punjab (Lyallpur)	SRI
34	CoLK	India	Coimbatore	Lucknow	ICAR
35	CoM	India	Coimbatore	Maharashtra	ICAR
36	CoN	India	Coimbatore	Navsari	ICAR
37	CoPant	India	Coimbatore	Pantnagar	ICAR
38	CoP	India	Coimbatore	Pusa	ICAR
39	CoR	India	Coimbatore	Risalewala	ICAR
40	CoS	India	Coimbatore	Shahjahanpur	ICAR
41	CoSe	India	Coimbatore	Seorahi	ICAR
42	CoT	India	Coimbatore	Tirupati	ICAR
43	CoTL	India	Coimbatore	Thiruvalla	ICAR
44	CoV	India	Coimbatore	Vuyyuru	ICAR
45	CP	USA, Florida	Canal Point	Canal point, Florida	USDA





## SECCIÓN EDITORIAL

No.	Sigla	País	Semilla procedente de	Seleccionada en	Instituto
46	CP	USA, Louisiana	Canal Point	Houma, Louisiana	USDA
47	CP	Pakistán	??	NWFP, Pakistán	SRI
48	CPCL	USA	Clewiston, USA	Canal Point, Florida	
49	CPM	Pakistán	??	Mardan, NWFP, Pakistán	SRI
50	CR	República Dominicana	Central Romana	Central Romana	Central Romana
51	CRP	Brasil	Riberão Preto	Brasil	
52	CSC	China	Yachen, China	Zhichong, China	SNASRI
53	CTT	China	Yachen, China	Neijiang, China	SNASRI
54	CYN	China	Yachen, China	Yunnan, China	YAUSRI, YNSRI
55	CYT	China	Yachen, China	Guangzhou, China	SIRI, CNCLI
56	CZZ	China	Yachen, China	Zhanjiang, China	ZSES, SIRI
57	D	Guyana	Demerara	Demerara	Guysuco
58	DB	Guyana	Barbados	Demerara	Guysuco
59	EA	Kenya	East Africa Kenya	Kenya	EASBS
60	EK	Java	Karthaus	Java	
61	FAM	Argentina	Tucumán	Tucumán	INTA
62	FR	Ivory Coast/ Guadeloupe	Guadalupe	Guadeloupe/ Ivory Coast	CIRAD-CA
63	G	Egipto	Giza	Giza, Egipto	SCRI
64	GPB	Malasia	Malasia	Malasia	GPBPD
65	GT	Egipto	Taiwán	Egipto	SCRI
66	H*	USA, Hawaii	Hawaii	Hawaii	HARC
67	Ho	USA	Houma, Louisiana	Louisiana, USA	USDA
68	HoCP	USA, Louisiana	Canal Point	Houma, Louisiana	USDA
69	HQ*	Australia	Macknade	Hebert, Burdekin, Queensland	CSR
70	IAC	Brasil	Camamu/Bahía	São Paulo	IAC
71	IACSP	Brasil	Camamu/Bahía	São Paulo de 1993 (new)	IAC
72	IANE*	Brasil	Instituto Agronómico del Nordeste	Brasil	
73	ICA*	Colombia	Colombia	Instituto Agropecuario Colombiano	ICA
74	Isd	Bangladesh	Bangladesh	Ishurdi	SRTI
75	ITAV	México	Veracruz		ITAV
76	IVP	Panamá	Ingenio La Victoria, Panamá	Panamá	Ingenio La Victoria
77	J	Jamaica	Jamaica	Jamaica	SIRI
78	Ja	Cuba	Central Jaronó, Cuba	Cuba	
79	JMex	México	Jalisco	México	IMPA
80	KHS	India	Coimbatore	Karnataka Hybrid Sugarcane	ICAR
81	Kn	Sudán	Sudán	Kenana, Sudán	KSC
82	KnB	Sudán	Barbados	Kenana, Sudán	KSC
83	KnH	Sudán	Hawaii	Kenana, Sudán	KSC
84	L	USA, Louisiana	Louisiana	Louisiana State University	LSU
85	LAICA	Costa Rica	Costa Rica	Costa Rica	DIECA
86	LCP	USA, Louisiana	Canal Point/ Florida	Louisiana	LSU
87	LF	Fiji	Lautoka, Fiji	Lautoka, Fiji	FSC
88	LHo	USA, Louisiana	Houma, USA	Louisiana, USA	LSU
89	Lk	India	Coimbatore, India	Lucknow (IISR)	ICAR
90	LTMex	México	Lerdo de Tejada, Veracruz, México	México	
91	M	Mauricio	Mauricio	Mauricio	MSIRI
92	M	India	Coimbatore	Maharashtra, India	ICAR
93	Mer*	USA	Meridian, Missisipi	Missisipi, USA	
94	Mex	México	Tapachula	México	CNIAA
95	MexBz	Belice	Tapachula, México	Belice	BSI
96	ML*	Cuba	Cuba	Cuba	

No.	Sigla	País	Semilla procedente de	Seleccionada en	Instituto
97	My*	Cuba	Mayarí, Cuba	Cuba	
98	MZC*	Colombia	Central Mayagüez	Colombia	
99	N	Sudáfrica, Natal	Mount Edgecombe	Sudáfrica, Natal	SASA
100	NA	Argentina	Chacra Santa Rosa	Norte Argentina	Chacra Santa Rosa
101	NCo	Sudáfrica, Natal	Coimbatore, India	Sudáfrica, Tamil Nadu	
102	NG*	Nueva Guinea	Nueva Guinea	Nueva Guinea	
103	Ni	Japón	Kyushu & Okinawa	Okinawa, Ryukyu Archipelago	NAES
104	NiF	Japón	Formosa (Taiwán)	Okinawa	NAES
105	NiN	Japón	Natal	South Africa Okinawa	NAES
106	Phil	Filipinas	Luzón	Filipinas	SRA
107	PGM	Guatemala	México	Guatemala	Pantaleón
108	PO	Brasil	Alagoas	São Paulo	Usina da Barra
109	POJ	Java	Proef Station Oost Java	Java	
110	PR*	Puerto Rico	Gurabo, Mayagüez	Gurabo, Puerto Rico	Univ. of Puerto Rico
111	PRN	Filipinas	Luzón	Filipinas	PHILSURIN
112	PS	Indonesia	Pasuruan, East Java	Pasuruan, East Java	P3GI
113	PSTK	Indonesia	Pasuruan, East Java	Takalar	PEGI
114	PSCO	Indonesia	Pasuruan, Central Java	Comal	P3GI
115	PSJT	Indonesia	Pasuruan, West Java	Jatitujuh	P3GI
116	PSBM	Indonesia	Pasuruan, South Java	Bungamayang	P3GI
117	PSGM	Indonesia	Pasuruan, South Java	Gunung Madu	P3GI
118	Q	Australia	Meringa	Queensland, Australia	BSES
119	R	India	Coimbatore	Rudrur (AP), India	ICAR
120	R	Francia, Reunión	Reunión	Reunión	CERF
121	RA	Argentina	Argentina	Argentina	EEAOC-INTA
122	RB	Brasil	Serra do Ouro, Brasil	Alagoas, Brasil Federal University	RIDESA
123	RBB*	Bolivia	Serra do Ouro, Brasil	Bolivia	CIMCA
124	RD*	República Dominicana	Ingenio Duquesa	República Dominicana	ID
125	RK	Japón	Naha, Okinawa	Okinawa, Ryukyu	NAES
126	ROC	Taiwán	Tainan	República de China	TSRI
127	S	India	Coimbatore, India	Shahjahanpur (UP)	ICAR
128	Si	India	Coimbatore, India	Sirugamani (TN)	ICAR
129	SR	Panamá	Ingenio Santa Rosa	Panamá	Ingenio Santa Rosa
130	T	India	Coimbatore, India	Tirupati (AP)	ICAR
131	SL	Sri Lanka	Uda Walawe	Uda Walawe, Sri Lanka	SRI
132	SP	Brasil, Sao Paulo	Camamu, Bahía, Brasil	São Paulo, Brasil	COPERSUCAR
133	SPF	Pakistán	Camamu, Brasil	Faisalabad, Punjab	SRI
134	SPSG	Pakistán	Camamu, Brasil	Shakarganj, Mill, Jhang	SSRI
135	TC	Malasia	Perlis, Malasia	Perlis, Malasia	KGFPSPB
136	TCP	USA, Texas	Canal Point, Florida	Weslaco, Texas, USA	Texas A&M
137	THAI	Tailandia	Outhong	Outhong, SuphanBuri	SFCRC
138	TUC	Argentina	Tucumán, Argentina	Tucumán, Argentina	EEAOC
139	UCW*	Cuba	United Fruit Co. American West Indies Co.	Cuba	
140	US	USA	Houma, Canal Point	Houma, Canal Point, USA	USDA
141	V	Venezuela	Yaritagua, Venezuela	Venezuela	FONAIAP
142	VMC	Filipinas	Negros	Philippines Victorias Mill Co.	VMC
143	WI	Barbados	Barbados	Barbados, West Indies	WICBS
144	Yc	China	Yacching, China	China	
145	ZMex	México	Zacatepec	México	IMPA
146	ZN	Zimbabwe	Mount Edgecombe, SASA	Zimbabwe	ZCA

\* Muchos de los Programas no continuaron su vigencia y actividad.

Fuente: Machado Jr. (2001); Esquivel (1982).





### Resumen

Se ha implementado el control biológico de *Diatraea* spp. mediante el parasitoide *Cotesia flavipes*. Para propagar este controlador biológico a nivel de laboratorio, se requiere la producción masiva del hospedero; sin embargo, la producción se ha reducido a causa de la infección provocada por el microsporidio *Nosema* spp.

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA INFECCIÓN POR NOSEMOSIS EN LARVAS Y ADULTOS DE *Diatraea* spp.

Karen Oviedo Bolaños<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA-LAICA)

Por lo tanto, el objetivo fue optimizar un protocolo para la detección molecular de *Nosema* spp. mediante PCR punto final en larvas y adultos de *Diatraea* spp., como control de calidad para la producción de *C. flavipes*. Para llevar a cabo el diagnóstico, se realizó extracción de ADN a partir de adultos y larvas de *Diatraea* spp., posteriormente se llevaron a cabo amplificaciones por PCR punto final para detectar la presencia/ausencia de *Nosema* spp., mediante cebadores universales. Los resultados obtenidos indicaron la presencia del microsporidio en el 46,2% (24/42) de los adultos de *Diatraea* spp. analizados, se obtuvo la misma proporción de hembras y machos infectados. Se demostró la validez de esta técnica para monitorear la presencia de microsporidios en adultos de pie de cría de *Diatraea* spp., como análisis de rutina para garantizar la sanidad de la progenie, que será utilizada en su etapa de larva para la reproducción masiva de *C. flavipes*.

Para propagar este controlador biológico a nivel de laboratorio, se requiere la producción masiva del hospedero respectivo; este proceso se ha visto influenciado negativamente por la Nosemosis que infecta las larvas de *Diatraea* spp. utilizadas para la propagación masiva de *C. flavipes* en laboratorio. (Simões *et al.* 2012). La Nosemosis es una enfermedad causada por especies del género *Nosema* (Microsporidia: Nosematidae), un grupo de parásitos intracelulares obligados, asociados principalmente a los órdenes Lepidoptera e Hymenoptera (Chen *et al.* 2009, Keeling y Fast 2002).

### Introducción

El barrenador de la caña de azúcar, *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) provoca graves pérdidas económicas a los productores, Por lo tanto, se ha implementado el control biológico mediante *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), un endoparasitoide cenobionte de larvas de *Diatraea* spp. Este parasitoide presenta la ventaja de fácil producción bajo condiciones de laboratorio para su posterior liberación al campo (Freitas *et al.* 2018).



<sup>1</sup> Bióloga con énfasis en biotecnología, funcionaria del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar. Programa de Biología Molecular. Teléfonos: (506) 2494-1129 / (506) 2494-7555.





Se ha comprobado que los parasitoides desarrollados en larvas infectadas presentan un incremento en la duración de las etapas pupal y larval, disminución en la longevidad y fertilidad de los adultos, reducción del tamaño, diferencias de comportamiento. Además puede impedir que complete el ciclo de vida por mortalidad temprana del hospedero. El incremento en la mortalidad temprana de la larva de *Diatraea* spp. infectada es proporcional a la carga del microsporidio (Simões *et al.* 2012). Este parásito alcanza e infecta la capa epitelial del intestino medio, existen dos vías de transmisión: horizontal y vertical, la primera se da por ingestión de las esporas en el alimento o agua, por lo tanto es la más común. La transmisión vertical ocurre cuando las hembras infectadas transmiten el patógeno a su prole; así como también a la descendencia producto del apareamiento entre una hembra sana y un macho infectado, aunque es poco probable (Simões *et al.* 2015).

Los síntomas macroscópicos de la Nosemosis incluyen: retención de la cápsula cefálica y la epidermis vieja durante la muda, hinchazón de la región abdominal posterior con una coloración blanca característica, manchas necróticas, reducción considerable del crecimiento por alimentación reducida, entre otros (Simões *et al.*

2015). Sin embargo, la enfermedad puede presentarse de forma asintomática, ya que muchos microsporidios no producen una actividad insecticida inmediata (Hernández-Velázquez *et al.* 2012).

Para llevar a cabo la reproducción exitosa del parasitoide, es necesario garantizar la sanidad del hospedero, mediante el diagnóstico temprano de la Nosemosis. Como métodos de detección y cuantificación, generalmente se emplean la microscopía óptica (a 400 aumentos) para observar la presencia de esporas (Klee *et al.* 2007), la microscopía electrónica de transmisión para distinguir entre especies, así como los métodos moleculares (Tsai *et al.* 2003). Estos últimos se caracterizan por una mayor sensibilidad y especificidad, el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es ampliamente utilizado para la detección e identificación de microsporidios mediante análisis de ADN (Klee *et al.* 2006, Kyei-poku *et al.* 2008, Tsai *et al.* 2003, Zhu *et al.* 2010). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue optimizar un protocolo para la detección molecular temprana del microsporidio *Nosema* spp. mediante PCR punto final en larvas y adultos de *Diatraea* spp., como control de calidad para la producción de un parasitoide controlador biológico.

## Materiales y métodos

Se utilizaron 26 parejas de pie de cría de *Diatraea* spp. (52 individuos), provenientes de cámaras de reproducción del Laboratorio de Control Biológico o de campo, una vez verificada la postura, luego de su cópula individualizada, los progenitores fueron trasladados vivos o conservados en alcohol 70% al Laboratorio de Biología Molecular para el diagnóstico de *Nosema* spp. Primeramente, se separó el abdomen de cada individuo mediante instrumentos de disección desinfectados con etanol 70%. También se analizaron 13 larvas obtenidas de progenitores previamente diagnosticados libres del microsporidio o procedentes de campo.

Para la extracción de ADN, se colocaron los abdómenes de cada pareja o la larva completa en un tubo de microcentrifuga de 1,5 mL. Posteriormente cada muestra fue homogenizada mediante un disruptor mecánico (Retsch MM400) a una frecuencia de 30 Hz.

El homogenizado obtenido se utilizó directamente para la extracción de ADN total (Klee *et*

*al.* 2007), según el protocolo descrito por Murray y Thompson (1980) y Pérez *et al.* (2017) con algunas modificaciones. Las muestras fueron incubadas en una solución de extracción CTAB [2% p/v CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8,0; y 0,2% v/v b-mercaptoetanol] y Proteinasa K (0,4 mg/mL). Posteriormente, se agregó cloroformo:alcohol isoamílico (24:1). Seguidamente, el ADN fue precipitado con un volumen de isopropanol frío y el botón de ADN se purificó con etanol 70% dos veces. Finalmente, se resuspendió en agua ultra pura libre de nucleasas y se añadió ARNasa (2mg/mL).

Para cada muestra de ADN obtenida se llevó a cabo la medición de la absorbancia a las siguientes longitudes de onda: 260, 280 y 230 nm respectivamente, empleando un espectrofotómetro UV-visible (Multiscan GO, Thermo Scientific). Posteriormente se calculó la concentración de ADN a partir de los datos de absorbancia. Además se determinó su pureza calculando los coeficientes A260 / A280 y A260 / A230.

## Cuadro 1.

Cebadores utilizados para la detección molecular por PCR punto final de *Nosema* spp. en adultos de *Diatraea* spp.

Especie	Secuencia diana	Cebador	Secuencia	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
<i>Nosema</i> spp.	SSU	18f	CACCAGGTTGATTCTGCC	1.245	Chen <i>et al.</i> 2012, Vossbrinck, <i>et al.</i> 1987
	rRNA	1537r	TTATGATCCTGCTAATGGTTC		
<i>Nosema</i> spp.	LSU	LS228F	GGAGGAAAAGAACTAAC	2.108	Huang <i>et al.</i> 2004
	rRNA	ILSUR	ACCTGTCTCAGCAGGTCTAAC		
<i>Nosema</i> spp.	5' LSU	L1328f	CACATGGGATCAATAGGATACC	929	Chen <i>et al.</i> 2012, Huang, <i>et al.</i> 2004, Zhu <i>et al.</i> 2010
	rRNA	LSR	TTCCATAACAACCGCCTACTG		
<i>Diatraea</i> spp.	COII	A-298	ATTGGACATCAATGATATTGA	369	Barrera <i>et al.</i> 2017, Lange, <i>et al.</i> 2004
	DNA	B-ILYS	GTTTAAGAGACCAGTACTTG3		



## SECCIÓN CIENTÍFICA

Para evaluar la integridad del ADN y posible ARN remanente, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1,5% con una solución amortiguadora TBE 1X (Tris 10 mM, Borato 20 mM, EDTA 1,0 mM, pH 8,0). Con un tiempo de movilidad electroforética de 60 minutos a 80 V. La tinción de los ácidos nucleicos se realizó con GelRed y finalmente se visualizó en un fotodocumentador (UVP BioDoc-It™ Imaging System).

Las amplificaciones por PCR fueron llevadas a cabo para amplificar la secuencia parcial de la región codificante para la subunidad pequeña del ARNr (SSU) y la subunidad larga (LSU) del gen ARNr mediante los cebadores especificados en el Cuadro 1, los cuales fueron diseñados con base en las regiones altamente conservadas de ambas subunidades (Huang *et al.* 2004, Zhu *et al.* 2010). Como control positivo de amplificación, se emplearon los iniciadores A-298/B-tLYS que flanquean un fragmento del gen constitutivo citocromo oxidasa II (COII) de *Diatraea* spp. Cada reacción de PCR fue diseñada con un Master Mix, 0.32  $\mu$ M de cada cebador y 100 ng de ADN molde.

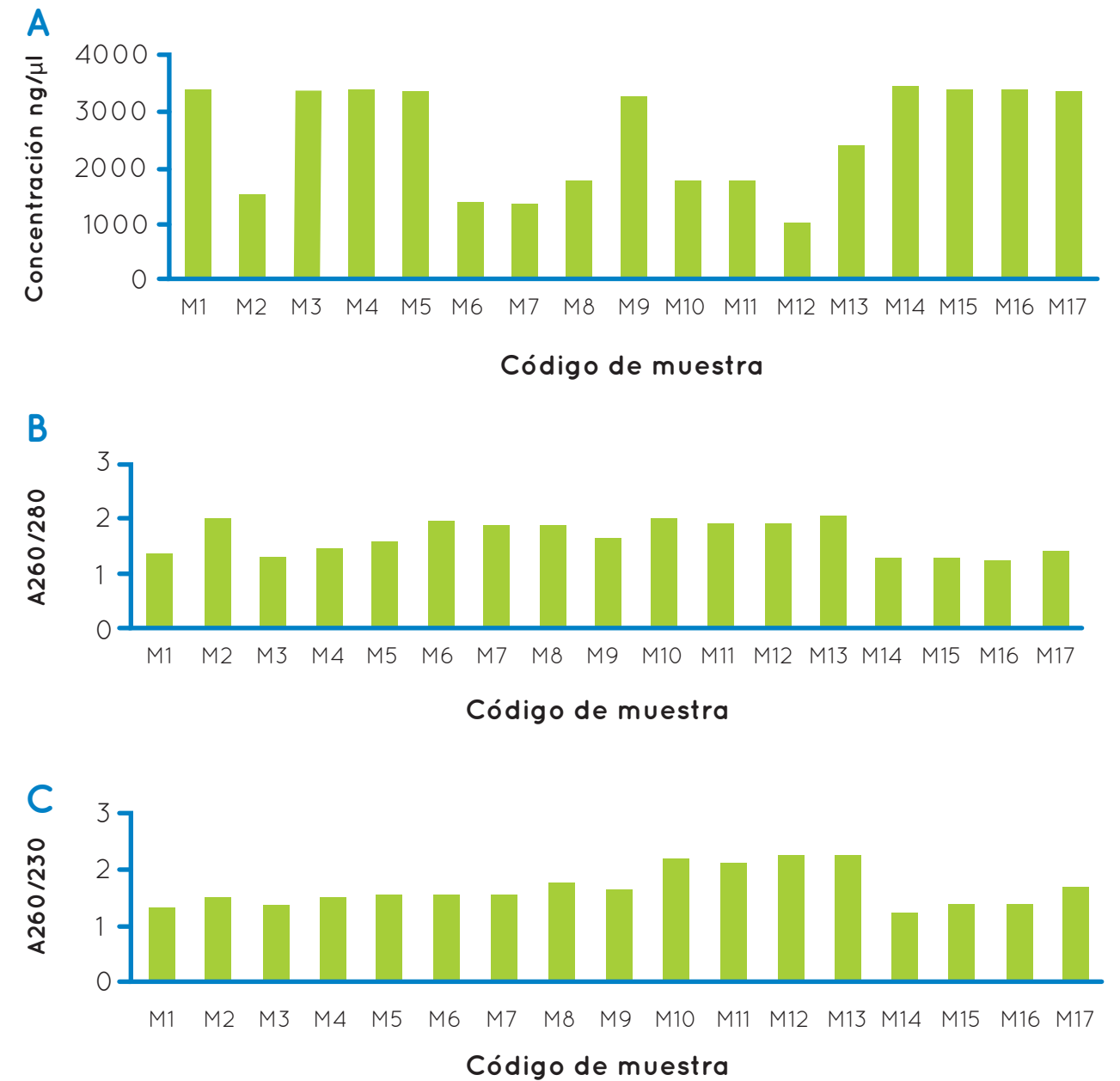
La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Arktik, Thermo Scientific), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial del ADN a 94 °C durante 3 min, se realizaron 35 ciclos: 94 °C durante 30 s, temperatura de hibridación de 50°C durante 30 s y 72 °C por 1

min 30 s, con una extensión final de 10 min a 72 °C y finalmente almacenado a 4 °C (Chen *et al.* 2012, Huang *et al.* 2004, Kyei-poku *et al.* 2008).

### Resultados

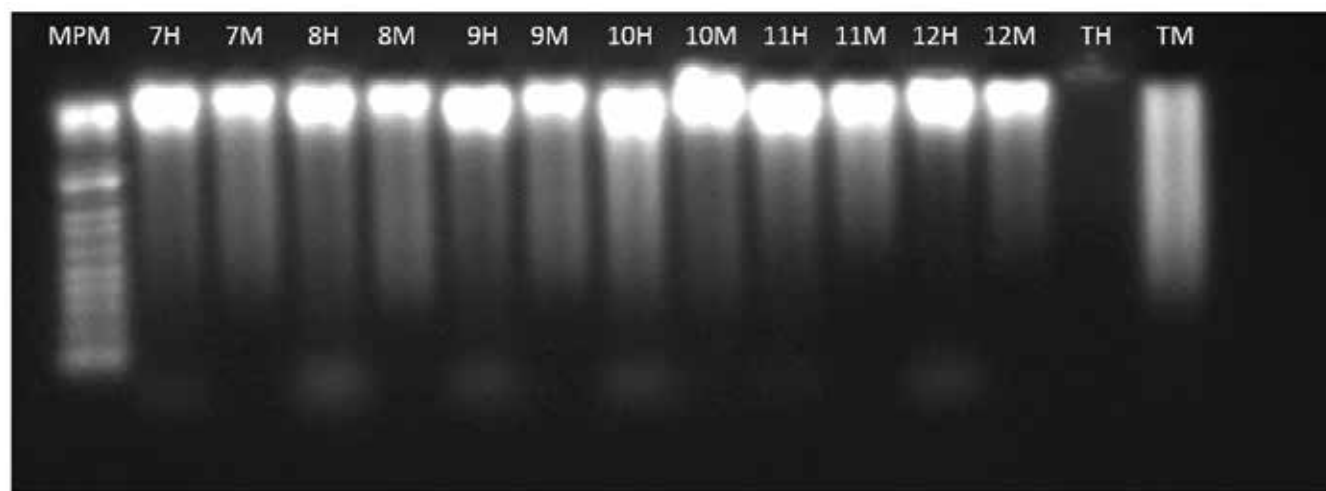
Las concentraciones de ADN total oscilaron entre 300-3.439 ng/ $\mu$ L (Figura 1), por lo tanto fue necesario preparar diluciones para las reacciones de PCR posteriores, ya que un exceso de material genético interfiere con la actividad enzimática durante la reacción. Además, la electroforesis en gel de agarosa mostró un perfil de ADN íntegro, visualizado como bandas de alto peso molecular y elevada concentración, como se observa en las muestras representativas de la Figura 2.

Para determinar los niveles de pureza del material genético extraído, se calcularon los coeficientes  $Abs_{260nm}/280nm$  y  $Abs_{260nm}/230nm$  (Figura 1). El primero obtuvo valores cercanos al óptimo de pureza (entre 1,7 y 2,0) para la mayoría de las muestras, indicando que se encuentran libres de contaminación por proteínas. La proporción  $Abs_{260nm}/230nm$  (rango óptimo entre 2,0-2,2) detectó contaminación por sales, carbohidratos, péptidos, polifenoles o compuestos aromáticos en algunas de las muestras.



**Figura 1.**

Cuantificación del ADN obtenido a partir de abdómenes de adultos de *Diatraea* spp., mediante espectrofotómetro UV-visible. A) Concentración de ADN, B) Coeficiente 260/280, C) Coeficiente 260/230.



**Figura 2.**

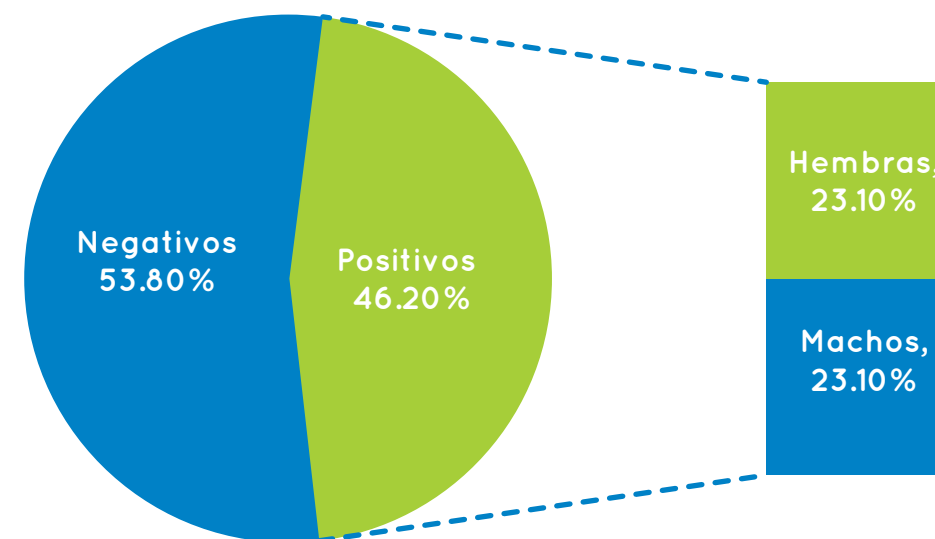
Perfil de ADN genómico total extraído de adultos de *Diatraea* spp., corrido en gel de agarosa 1,5%. Escalera de peso molecular 1 kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®).

Con el propósito de optimizar el diagnóstico del microsporidio, se probaron tres pares de cebadores distintos para la detección de secuencias parciales del gen ARNr de *Nosema* spp., con el objetivo de determinar el par con mayor especificidad y sensibilidad para el diagnóstico directo de la infección por Nosemosis en adultos de *Diatraea* spp. Como se observa en la Figura 1A (anexa), mediante los cebadores 18f/1.537r se visualizaron bandas nítidas del tamaño molecular esperado (1.245 pb) sin artefactos. De igual forma, se logró la detección del microsporidio utilizando los iniciadores L1328f/LSR e ILSUR/LS228, no obstante, estos pares también generaron amplicones inespecíficos para las muestras.

Los resultados de la optimización evidenciaron la ventaja de los cebadores 18f/1.537r para el diagnóstico de la nosemosis, distinguidos por una mayor especificidad en comparación con los dos

restantes. Por lo tanto, se procedió con los análisis de rutina, aplicando la metodología estandarizada y los iniciadores seleccionados (18f/1.537r). Se examinaron hembras y machos adultos por separado para determinar la prevalencia de *Nosema* spp. para cada sexo. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 2, del total de 52 analizados se detectaron 24 individuos infectados con el microsporidio (equivalente al 46,2%), de los cuales, 12 correspondieron a machos (23,1%) y 12 hembras (23,1%) (Figura 2).

En cuanto a los análisis realizados en larvas procedentes de progenitores sanos (según detección molecular previa), se obtuvieron 5 individuos positivos para la presencia de *Nosema* spp., del total de 13 larvas muestreadas. Las larvas colectadas de campo resultaron negativas para el diagnóstico.



**Figura 3.**

Porcentaje de incidencia del microsporidio *Nosema* spp. en adultos de *Diatraea* spp., separados por sexo.

**Cuadro 2.**

Porcentaje de incidencia del microsporidio *Nosema* spp. en adultos de *Diatraea* spp., diagnosticados por PCR punto final.

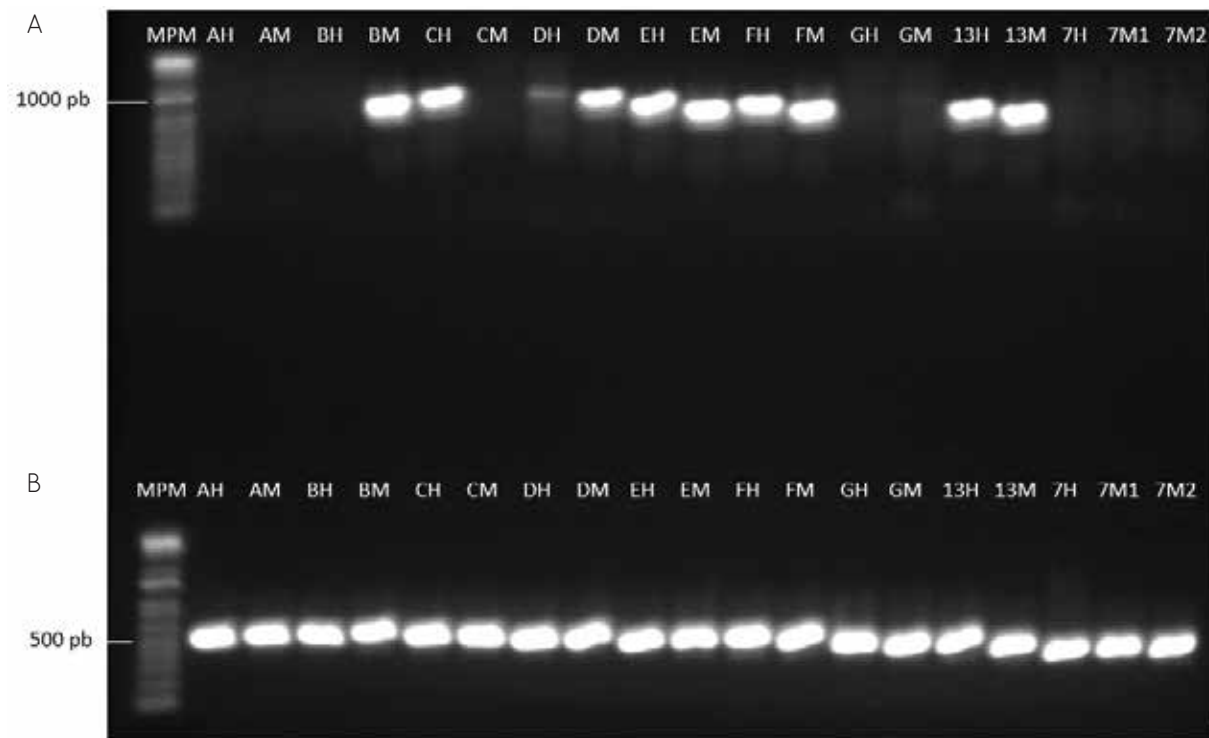
Procedencia	Sexo	Positivos	Negativos	Total	Porcentaje de incidencia (%)
Laboratorio	Hembras	9	12	21	42,9
	Machos	10	10	20	50,0
Campo	Hembras	3	1	4	75,0
	Machos	2	5	7	28,6
Total		24	28	52	46,2



## SECCIÓN CIENTÍFICA

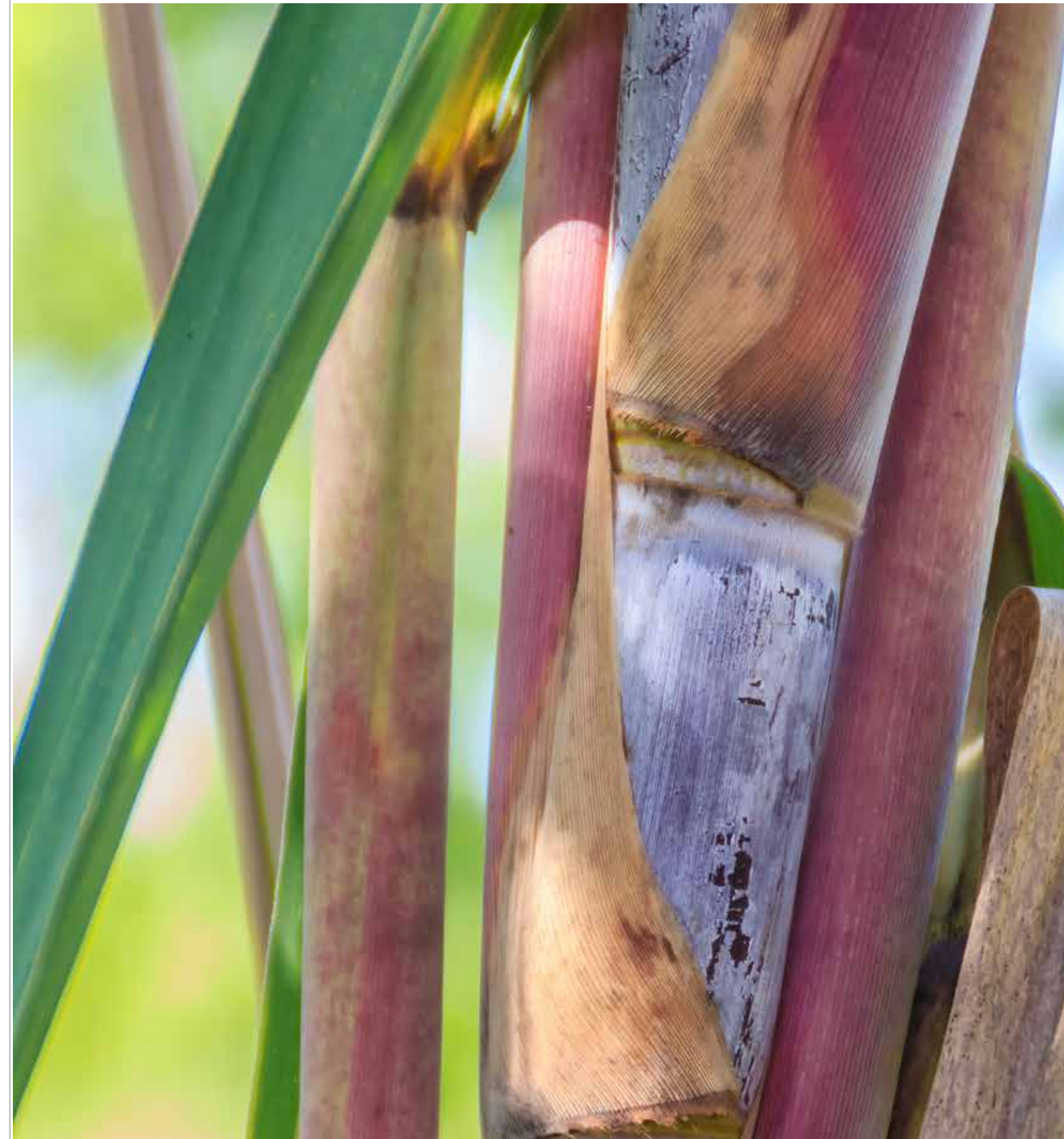
En las Figuras 3.A y 4.A, se observan algunas muestras representativas del total analizadas para la detección de *Nosema* spp., se considera un resultado positivo cuando se visualiza la presencia de una banda de tamaño molecular esperado (1.245 pb) para los cebadores utilizados (18f/1.537r), tomando como referencia el marcador de peso molecular. Sin embargo, es necesario llevar a cabo la secuenciación del producto de PCR obtenido para confirmar que la secuencia obtenida corresponde al gen del microsporidio.

Asimismo, los cebadores empleados como control positivo de amplificación (A-298/B-tLYS) que flanquean un fragmento del gen constitutivo citocromo oxidasa II (COII) de *Diatraea* spp., comprobaron la completa viabilidad del ADN genómico obtenido, ya que se visualizó el amplicón del tamaño molecular esperado en todas las muestras (Figuras 3B y 4B). Este resultado demuestra la ausencia de inhibidores en las muestras, así como la integridad de la hebra molde de ADN.



**Figura 4.**

Productos de amplificación por PCR punto final A) para la detección de *Nosema* spp. en ADN extraído de **adultos** de *Diatraea* spp., mediante los cebadores 18f/1537r (1245 pb). B) Control positivo de amplificación de la región COII de *Diatraea* spp. mediante los cebadores A-298/B-tLYS (369 pb) visualizados con electroforesis en gel de agarosa 1,5%. Escalera de peso molecular 1 kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®).



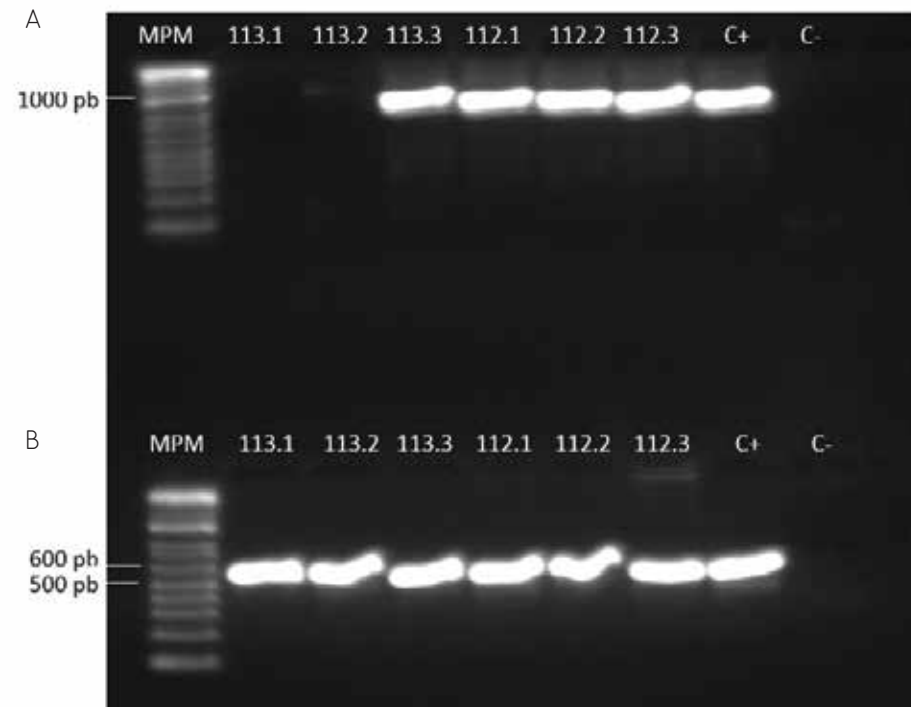


Figura 5.

Productos de amplificación por PCR punto final A) para la detección de *Nosema* spp. en ADN extraído de **larvas** de *Diatraea* spp., mediante los cebadores 18f/1537r (1245 pb). B) Control positivo de amplificación de la región COII de *Diatraea* spp. mediante los cebadores A-298/B-tLYS (369 pb) visualizados con electroforesis en gel de agarosa 2%. El control negativo (C-) es un control de reacción PCR sin ADN. Escalera de peso molecular 1 kb Plus DNA Ladder (Invitrogen®).

## Discusión

La mayoría de investigaciones sobre diagnóstico e identificación molecular de la nosemosis, están enfocadas en el área apícola, mientras que no se han publicado estudios similares en *Diatraea* spp. En una investigación realizada para diagnosticar *Nosema ceranae* en abejas, se comparó la eficiencia de un buffer de germinación contra un método de extracción de ADN (CTAB), similar al empleado en este estudio. Se comprobó que el método CTAB obtuvo rendimientos del producto de PCR ocho veces mayores en comparación con los resultados obtenidos mediante el buffer de germinación, por lo tanto, la adición del mismo es prescindible (Hamiduzzaman *et al.* 2010).

Muchas de las metodologías diseñadas para en el diagnóstico molecular de *Nosema* spp., incluyen un protocolo para la purificación de las esporas contenidas en los insectos, mediante filtración y lavados, previo a la extracción de ADN (Chen *et al.* 2012, Higes *et al.* 2006, Huang *et al.* 2004). Mientras que otros investigadores omiten este paso de purificación para llevar a cabo la extracción de ADN directamente de los tejidos del insecto hospedero (Hamiduzzaman *et al.* 2010, Klee *et al.* 2006). Dichos estudios publicados han demostrado que ambos métodos son igualmente válidos para el diagnóstico del microsporidio.

Los resultados obtenidos también comprueban que el método de extracción de ADN directamente de los especímenes de *Diatraea* spp., fue eficiente para lisar las esporas de *Nosema* spp., así como la obtención de material genético íntegro y de calidad aceptable. La purificación previa de esporas y la adición de un buffer de germinación se omitieron con el propósito de validar una metodología simplificada para el análisis masivo de muestras, con un menor consumo de tiempo y recursos.

En cuanto a la pureza del ADN obtenido, se conoce que los insectos fitófagos contienen en su tracto digestivo inhibidores de la reacción PCR, como compuestos fenólicos y carbohidratos presentes en el alimento que consumen, enzimas digestivas, entre otros. Favorablemente, los insectos empleados en este estudio consumen un sustrato elaborado en el laboratorio, y por lo tanto, libre de fitofenoles. Mientras que los inhibidores restantes son eliminados durante el proceso de extracción mediante la adición de proteinasa K y  $\beta$ -mercaptoetanol. A pesar de esto, en el ADN permanecen trazas de contaminantes debido a que el método CTAB no los remueve por completo, además pueden quedar remanentes de las sustancias orgánicas utilizadas, como lo reflejaron los coeficientes de pureza obtenidos. No obstante, la PCR para detección del microsporidio no resultó inhibida por la presencia de impurezas, además el control positivo de amplificación demostró la viabilidad del ADN aislado de todas las muestras (Calderón-Cortés *et al.* 2010).

Se ha reportado que la PCR posee la sensibilidad de detectar hasta 10 esporas por reacción, aunque la intensidad de la banda decrece conforme disminuye la cantidad de esporas, se mantiene visible a estas bajas concentraciones (Hamiduzzaman *et al.* 2010). No obstante, el límite de detección de una reacción PCR varía en función de la fuente del material genético, el equipo, reactivos, los cebadores y la calidad del ADN molde; por estas razones es recomendable adaptar el ensayo de sensibilidad a las condiciones experimentales utilizadas (Bustin y Huggett 2017). Este ensayo es imprescindible para determinar el límite de detección del método, lo cual se reflejó en los resultados que indicaron la presencia de *Nosema* spp. en larvas

procedentes de progenitores diagnosticados como sanos (según análisis moleculares previos), por lo tanto, es posible que alguno o ambos progenitores se encontraban infectados con una baja concentración de esporas a niveles no detectables por el método empleado.

Por otro lado, los métodos de diagnóstico de *Nosema* spp. mediante PCR se pueden realizar a nivel de especie mediante cebadores específicos o sin diferenciación de especies utilizando cebadores universales. El diseño de los primeros se basa en la divergencia del gen RNAr existente entre las especies de *Nosema*, incluso se han reportado dos variaciones en la organización de dicho gen, en algunas especies la secuencia es: 5'-SSU-ITS-LSU-3', esta es la más común en microsporidios (Chen *et al.* 2012); no obstante, se han identificado especies con una organización inversa: 5'-LSU-ITS-SSU-3' (Huang *et al.* 2004).

Mientras que para el diagnóstico de la presencia de distintas especies de microsporidios se emplean los cebadores universales, los cuales se hibridan con regiones altamente conservadas del gen RNAr (Klee *et al.* 2006, Vossbrinck *et al.* 1987), por esta razón, también son ampliamente utilizados en análisis filogenéticos. El presente estudio se basó en el diagnóstico de microsporidios mediante cebadores universales,





los cuales permiten la detección de las diversas especies de *Nosema* spp., debido a que no se han identificado las especies parásitas de *Diatraea* spp.

Asimismo, la técnica de PCR ofrece una serie de ventajas sobre la observación por microscopía de luz, la primera se caracteriza por un alto nivel de sensibilidad de detección, además elimina el

riesgo de una identificación errónea por confusión con otros parásitos u otras estructuras como gránulos de almidón.

Asimismo, la PCR permite detectar una baja concentración de esporas que pueden pasar desapercibidas por microscopía, y es capaz de detectar el microsporidio en cualquier estadio del ciclo de vida (Klee *et al.* 2006).



## Conclusiones y recomendaciones

Es factible la aplicación de esta técnica para monitorear la presencia de microsporidios en adultos de pie de cría de *Diatraea* spp., como análisis de rutina para el control de calidad de la progenie, que será utilizada en su etapa de larva para la reproducción masiva de *C. flavipes*. Con estos análisis se evita la propagación del microsporidio al descartar la progenie proveniente de adultos infectados, garantizando la sanidad de las larvas utilizadas como hospederas, con el objetivo de incrementar la calidad y cantidad de los parasitoides producidos. Como control paralelo, se deben esterilizar el agua y los sustratos utilizados, así como superficies, para mitigar tanto la vía de transmisión vertical como la horizontal.

Es recomendable realizar el análisis de sensibilidad para evaluar el límite de detección de la técnica, con el propósito de determinar la concentración mínima de esporas que es capaz de detectar la PCR, bajo las condiciones experimentales utilizadas.

Para validar el método de diagnóstico, también se requiere secuenciar los productos de PCR obtenidos, para confirmar que el fragmento del gen amplificado con los iniciadores seleccionados, pertenece específicamente a *Nosema* spp. De esta forma, es posible afirmar que las bandas visualizadas con un peso molecular esperado corresponden a la presencia del microsporidio.

## Referencias bibliográficas

- Barrera, G. P., Villamizar, L. F., Espinel, C., Quintero, E. M., Belaich, M. N., Toloza, D. L., ... Vargas, G. 2017. Identification of *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) based on cytochrome oxidase II. PLOS ONE 12(9): e0184053.
- Bustin, S., y Huggett, J. 2017. qPCR primer design revisited. Biomolecular Detection and Quantification 14: 19-28.
- Calderón-Cortés, N., Quesada, M., Cano-Camacho, H., Zavala-Páramo, G., Calderón-Cortés, N., Quesada, M., ... Zavala-Páramo, G. 2010. A Simple and Rapid Method for DNA Isolation from Xylophagous Insects. International Journal of Molecular Sciences 11(12): 5056-5064.
- Chen, D., Shen, Z., Zhu, F., Guan, R., Hou, J., Zhang, J., ... Xu, L. 2012. Phylogenetic characterization of a microsporidium (*Nosema* sp. MPr) isolated from the *Pieris rapae*. Parasitology Research 111(1): 263-269.
- Chen, Y. P., Evans, J. D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen U-Rindal, D., y Pettis, J. S. 2009. Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera*. Journal of Eukaryotic Microbiology 56(2): 142-147.
- Freitas, F., Morales-Corrêa e Castro, A., Barbosa, N., y Fernandes, O. 2018. Characterization and Comparison of Genetic Variation in *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) Mass Reared for Biological Pest Control Using Microsatellite Markers. Neotropical Entomology 47: 433-439.
- Hamiduzzaman, M. M., Guzman-Novoa, E., y Goodwin, P. H. 2010. A multiplex PCR assay to diagnose and quantify *Nosema* infections in honey bees (*Apis mellifera*). Journal of Invertebrate Pathology 105(2): 151-155.
- Hernández-Velázquez, V. M., Lina-García, L. P., Obregón-Barboza, V., Trejo-Loyo, A. G., y Peña-Chora, G. 2012. Pathogens Associated with Sugarcane Borers, *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae): A Review. International Journal of Zoology 2012: 1-12.
- Higes, M., Martín, R., y Meana, A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. Journal of Invertebrate Pathology 92(2): 93-95.
- Huang, W.-F., Tsai, S.-J., Lo, C.-F., Soichi, Y., y Wang, C.-H. 2004. The novel organization and complete sequence of the ribosomal RNA gene of *Nosema bombycis*. Fungal Genetics and Biology 41(5): 473-481.
- Keeling, P. J., y Fast, N. M. 2002. Microsporidia: Biology and Evolution of Highly Reduced Intracellular Parasites. Annual Review of Microbiology 56(1): 93-116.



Klee, J., Besana, A. M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D. Q., ... Paxton, R. J. 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology* 96(1): 1-10.

Klee, J., Tek Tay, W., y Paxton, R. J. 2006. Specific and sensitive detection of *Nosema bombi* (Microsporidia: Nosematidae) in bumble bees (*Bombus* spp.; Hymenoptera: Apidae) by PCR of partial rRNA gene sequences. *Journal of Invertebrate Pathology* 91(2): 98-104.

Kyei-poku, G., Gauthier, D., y Van Frankenhuyzen, K. 2008. Molecular Data and Phylogeny of *Nosema* Infecting Lepidopteran Forest Defoliators in the Genera *Choristoneura* and *Malacosoma*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 55(1): 51-58.

Lange, C. L., Scott, K. D., Graham, G. C., Sallam, M. N., y Allsopp, P. G. 2004. Sugarcane moth borers (Lepidoptera: Noctuidae and Pyraloidea): phylogenetics constructed using COII and 16S mitochondrial partial gene sequences. *Bulletin of Entomological Research* 94(05): 457-64.

Murray, M. G., y Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8(19): 4321-4325.

Pérez, J., Araya-Valverde, E., Garro, G., y Abdelnour-Esquivel, A. 2017. Analysis of Stress Indicators During Cryopreservation of Seeds of Landrace Maize (*Zea mays*). *Cryo Letters* 38(6): 445-454.

Simões, R. A., Feliciano, J. R., Solter, L. F., y Delalibera, I. 2015. Impacts of *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae) on the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 129: 7-12.

Simões, R. A., Reis, L. G., Bento, J. M. S., Solter, L. F., y Delalibera, I. 2012. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae). *Biological Control* 63(2): 164-171.

Tsai, S.-J., Lo, C.-F., Soichi, Y., y Wang, C.-H. 2003. The characterization of microsporidian isolates (Nosematidae: *Nosema*) from five important lepidopteran pests in Taiwan. *Journal of Invertebrate Pathology* 83(1): 51-59.

Vossbrinck, C. R., Maddox, J. V., Friedman, S., Debrunner-Vossbrinck, B. A., y Woese, C. R. 1987. Ribosomal RNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes. *Nature* 326(6111): 411-414.

Zhu, F., Shen, Z., Xu, X., Tao, H., Dong, S., Tang, X., y Xu, L. 2010. Phylogenetic Analysis of Complete rRNA Gene Sequence of *Nosema philosamiae* Isolated from the Lepidopteran *Philosamia cynthia ricini*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 57(3): 294-296.

Anexos

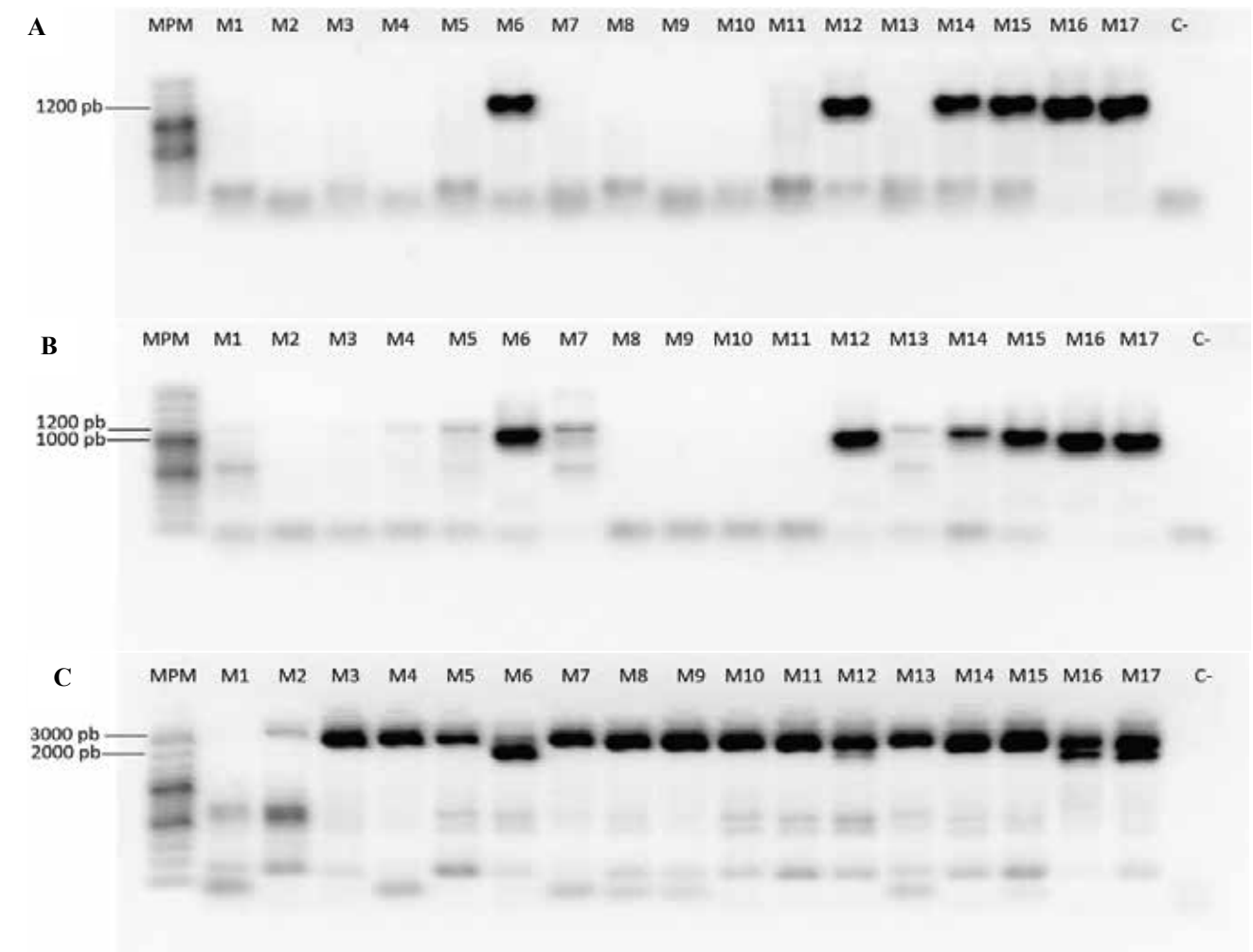


Figura 1A.

Productos de amplificación por PCR punto final para la detección de *Nosema* spp. en ADN extraído de *Diatraea* spp., mediante los cebadores A) 18f/1.537r (1.245 pb), B) L1.328f/LSR (929 pb), C) ILSUR/LS228 (2108 pb) visualizados con electroforesis en gel de agarosa 1.5%. El control negativo (C-) es un control de reacción PCR sin ADN. Escalera de peso molecular GeneRuler 100 pb (ThermoScientific).





### Introducción

Esta enfermedad se le atribuye principalmente al hongo *Fusarium moniliforme*, el nombre se le atribuye a la sintomatología de la enfermedad que tiende a deformar el verticilo caular (cogollo) del tallo de la planta.

# COGOLLO RETORCIDO DE LA CAÑA DE AZÚCAR O POKKAH BOENG (*Fusarium moniliforme*)

Erick Chavarría Soto<sup>1</sup>

Fue descrita por primera vez en la isla de Java, perteneciente a la República de Indonesia, donde se le bautizó con el nombre de “pokkah boeng” que significa “cogollo retorcido” en idioma javanés.

La importancia económica del *F. moniliforme* abarca no solamente los aspectos fitosanitarios sino que también aspectos de salud humana y animal desde su primera descripción en 1904 (Nelson 1992).

### Descripción y taxonomía del *F. moniliforme*

El *F. moniliforme* está ubicado en la sección Liseola del género *Fusarium*. Las especies de esta sección se caracterizan más que todo por el hecho de que no producen clamidósporas (Nelson 1992). Las clamidósporas son estructuras reproductivas especializadas de algunas especies de hongos, tienen como principal atributo que son estructuras que alta resistencia a las condiciones ambientales lo que le permite a algunos hongos sobrevivir en condiciones adversas.

El *F. moniliforme* produce dos tipos de estructuras reproductivas llamadas conidios: a) los

macroconidios que son estructuras alargadas y ligeramente curvadas con las superficies dorsales y ventrales ligeramente curvadas, de paredes delgadas y con células basales y apicales elongadas; y b) los microconidios son unicelulares y de forma ovoide (Nelson 1992).

Las especies de la sección Liseola también se catalogan como especies del complejo *Giberella fujikory*, que es el nombre científico con el que se identifica a la fase sexual (teleomórfica<sup>2</sup>) del *F. moniliforme*, y que se estima comprende de 4 a 29 especies que comparten los mismos atributos morfológicos pero que la separación taxonómica no es clara y genera polémica (Heng *et al* 2012).

Actualmente el *F. moniliforme* es clasificado de la siguiente forma (IMA 2016):

Reino: Fungi  
Phylum: Ascomycota  
Clase: Sordariomycetes  
Subclase: Hypocreomycetidae  
Orden: Hypocreales  
Familia: Nectriaceae  
Género: *Fusarium*  
Especie: *F. moniliforme*

<sup>1</sup>Ingeniero Agrónomo, funcionario del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA). Programas de Fitosanidad y Cultivo de Tejidos. Grecia, Costa Rica. E-mail: echavarría@laica.co.cr. Teléfonos (506) 2494-1129/ (506) 2494-2955 / (506) 2494- 4451 / (506) 2494-7555.

<sup>2</sup> Se refiere al estadio reproductivo sexual del ciclo de vida de los hongos de los phyla ascomycoto y basidiomycota.



**Figura 1.**

Conidios del *F. moniliforme* obtenidos directamente de lesiones foliares de la caña de azúcar (*Saccharum* spp. var. RB 86-7515), observados por microscopía de luz a 100 aumentos: a) conidios; y b) microconidios.

Los propágulos del *F. moniliforme*, conocidos con el nombre de conidios, se dispersan fácilmente por el viento y la lluvia. El hongo tiene una gran capacidad de sobrevivir en el campo a partir de residuos de cosecha y otros materiales orgánicos en descomposición. Se le considera un oportunista que desarrolla la enfermedad en el momento en que las condiciones favorecen al hongo y no necesariamente dependen del hospedero (caña de azúcar) para sobrevivir y completar su ciclo de vida, a este tipo de organismos se les denominan saprófitos facultativos porque a pesar de ser patógenos tienen la facultad de que pueden sobrevivir viviendo de la materia orgánica en descomposición (condición saprofítica).

El *F. moniliforme* es un hongo polífago<sup>3</sup> que puede causar enfermedades en diferentes cultivos aparte de la caña de azúcar, atacando diversos órganos en las plantas hospederas.

En Costa Rica el *F. moniliforme* ha tomado protagonismo debido a que la frecuencia e intensidad de los ataques han aumentado. Se ha notado una influencia importante del manejo de la nutrición, especialmente la nitrogenada, y el uso de abonos orgánicos en la intensidad de los síntomas, esta situación o relación está actualmente en valoración.

<sup>3</sup> El término polífago se refiere a organismos que poseen hábitos de alimentación variada y que en este caso se aplica al *F. moniliforme* por su capacidad de alimentarse de sobrevivir a partir de hospederos de diferentes especies y atacar diferentes órganos en las plantas.

La intensidad de los ataques y la susceptibilidad de las diferentes variedades de caña de azúcar van a estar predominantemente en función de la

severidad del daño del hongo a la planta, el cual se ha categorizado y descrito en la escala que se muestra en el Cuadro 1.

## Cuadro 1.

Descripción de la escala de evaluación para el Pokkah boeng (*Fusarium moniliforme*) de la caña de azúcar (*Saccharum* spp).

Grado	Descripción
1	No se observan síntomas.
2	Áreas cloróticas en la base de las láminas foliares.
3	Clorosis generalizada y/o arrugamiento en el follaje.
4	Arrugamiento y/o necrosis del follaje.
5	Acortamiento y deformación de las hojas, muerte del punto de crecimiento, deformación de los tallos, aparición de heridas transversales en los entrenudos conocidos como "el síntoma de corte de machete".

Fuente: Tomado de Chavarria 2006.

Las variedades que han registrado la mayor frecuencia de ataques a la enfermedad en plantaciones comerciales de Costa Rica, se puede ordenar de mayor a menor susceptibilidad de la siguiente manera:

RB 86-7515 > B 80-689 > NA 56-42 > CP 72-2086 > MEX 79 - 431 > Q 96 > PR 80-2038 > NA 85-1602

## Síntomas

El *F. moniliforme* produce diferentes síntomas en la planta de caña de azúcar dependiendo del órgano y la severidad del ataque. El síntoma más leve se puede observar en el follaje en la forma de áreas decoloradas (cloróticas) en la lámina de las hojas (Figura 2); al intensificarse la severidad del síntoma se pueden observar deformaciones, ondulaciones constricciones o pliegues en las

zonas cloróticas de la lámina de la hoja, hasta presentar necrosis del tejido en la forma de pudriciones secas (Figura 3). En ocasiones se puede observar un crecimiento en forma de polvo de color rosado muy claro, casi blanco, sobre las lesiones que corresponde al micelio del hongo.

Las lesiones en el tallo tienden a ser más severas y pueden causar la pudrición y muerte del mismo. La lesión clásica es la deformación del cogollo, que le da el nombre a la enfermedad, y que consiste en la manifestación de deformidades que alteran el desarrollo normal de las hojas y del tallo (Figura 4); cuando la planta sobrevive al ataque se pueden notar deformaciones pronunciadas en el tallo. En ocasiones el punto de crecimiento puede llegar a morir y el hongo logra penetrar el tallo ocasionando pudriciones y la pérdida de los mismos (Figura 6).





**Figura 2.**

Clorosis de la lámina foliar de la caña de azúcar provocada por el *F. moniliforme*.



**Figura 3.**

Síntoma agudo a nivel foliar provocado por el *F. moniliforme* en la caña de azúcar. Las lesiones cloróticas desarrollan necrosis en las que en ocasiones se puede notar el micelio del hongo a manera de un polvo de coloración rosada muy tenue.



**Figura 4.**

Síntoma a nivel del verticilo caulinar de la caña de azúcar con deformaciones fuertes ocasionadas por el *F. moniliforme* y que da origen al nombre popular de la enfermedad de "cogollo retorcido".



**Figura 5.**

Pérdida del tejido foliar del verticilo caulinar (cogollo) de la caña de azúcar debido al ataque del *F. moniliforme*.



**Figura 6.**

Pudrición del punto de crecimiento del tallo de la caña de azúcar debido al ataque del *F. moniliforme*.

## Distribución e importancia económica

El *F. moniliforme* se distribuye en todo el país sin distingo entre las diferentes regiones, la intensidad de los ataques está más asociada a la variedad más que a la región o zona.

La incidencia y severidad de los síntomas varían de un año a otro y se estima que la enfermedad tiene el potencial de reducir el rendimiento del cultivo hasta un 30% en su manifestación más severa de síntomas, situación que difícilmente se va a observar en el campo debido a que la distribución de los síntomas es muy variable y se presentan varias formas de expresión de la enfermedad de manera simultánea.

Observaciones del comportamiento de la enfermedad en plantaciones comerciales en Costa Rica, se ha notado que un aumento en el uso de fertilizantes nitrogenados contribuye a un aparente aumento en la incidencia y severidad de los síntomas. Este efecto no se ha corroborado por lo que cualquier aseveración en este sentido sería especulativa, aunque se está trabajando en valorar la relación entre la fertilización nitrogenada y la incidencia de la presencia de esta enfermedad.

Al igual que con la fertilización nitrogenada, se ha observado que plantaciones en suelos con altos contenidos de materia orgánica, ya sea por la adición o por las condiciones edáficas naturales, tienden a manifestar la enfermedad con mayor frecuencia y severidad.

Ha habido también alguna controversia con motivo de que las manifestaciones sintomáticas originadas por el *F. moniliforme* son atribuidas a la deficiencia de boro (B), por lo que se ha recurrido a la aplicación de este elemento por la vía foliar

para la corrección y eliminación del síntoma, acción que aún no se ha cuantificado en cuanto a su efectividad y que introduce un elemento adicional a la estructura de costos del cultivo.

En realidad no se tiene certeza aún de la influencia que pueda tener el contenido de este elemento en la planta con la incidencia y severidad de los síntomas de la enfermedad.

Los síntomas pueden diferenciarse en el campo debido a que las manifestaciones de la deficiencia de B tienden a tener una distribución generalizada y de mayor frecuencia, y lo más importante y que diferencia de la enfermedad, es que la deficiencia de B en Costa Rica y en condiciones de campo no produce necrosis del tejido de la hoja (Figuras 8, 9 y 10).

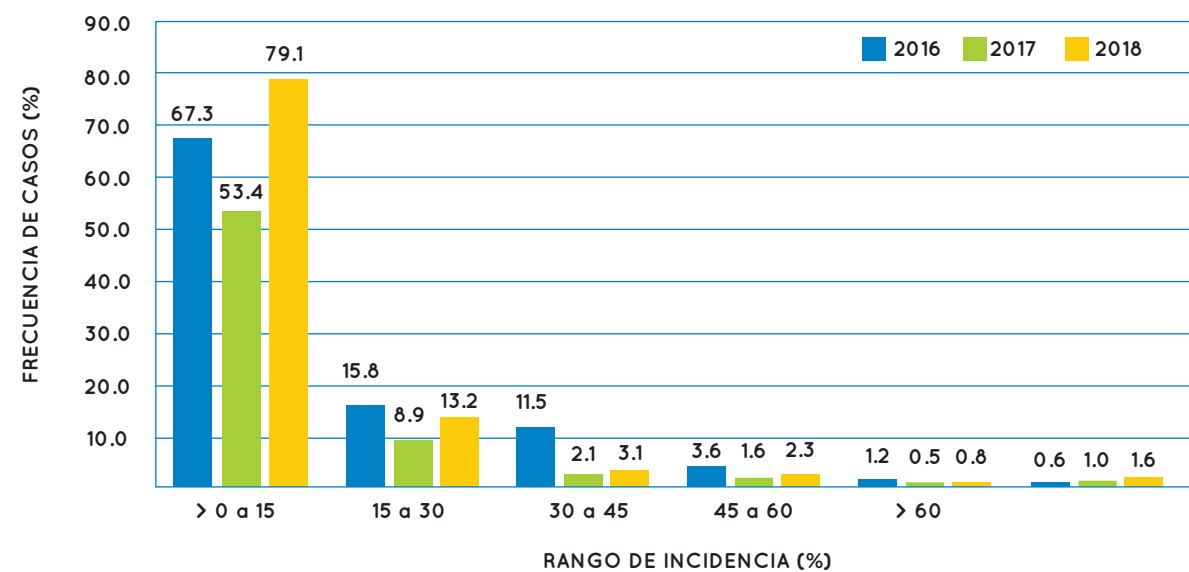




**Cuadro 2.**

Valores de incidencia (%) del *F. moniliforme* en plantaciones de caña de azúcar en Costa Rica.

Año	Unidades productivas diagnosticadas	Incidencia (%)
2011	8	52,1
2012	8	19,6
2013	11	61,1
2014	9	14,8
2015	9	49,1
2016	12	41,3
2017	13	20,9
2018	27	19,1



Fuente: Tomado de LAICA 2019.

**Figura 7.**

Distribución de frecuencias de los casos de aparición del *Fusarium moniliforme* en las evaluaciones fitopatológicas en fases 5, 6 y parcelas de validación semicomercial del proceso de selección de variedades de caña de azúcar. Costa Rica, 2018.



**Figura 8.**

Comparación entre los síntomas del ataque de *F. moniliforme* y los síntomas de deficiencia de boro (B) en caña de azúcar. a) Síntoma de *F. moniliforme* en la variedad B 80-689, Liberia, Guanacaste. b) Síntoma de deficiencia de boro (B) en la variedad LTMEX 92-301, Liberia, Guanacaste.



**Figura 9.**

Comparación entre los síntomas del ataque de *F. moniliforme* y los síntomas de deficiencia de boro (B) en caña de azúcar. a) Síntoma de *F. moniliforme* en la variedad NA 56-42, Cañas, Guanacaste. b) Síntoma de deficiencia de boro (B) en la variedad LTMEX 92-301, Liberia, Guanacaste.



**Figura 10.**

Comparación entre los síntomas del ataque de *F. moniliforme* y los síntomas de deficiencia de boro (B) en caña de azúcar. a) Síntoma de *F. moniliforme* en la variedad RB 86-7515, Bagaces, Guanacaste. b) Síntoma de deficiencia de boro (B) en la variedad RB 86-7515, Bagaces, Guanacaste.

### Recomendaciones

Existe la posibilidad de que los lotes comerciales dedicados a otras actividades agrícolas y que posteriormente cambien de actividad a caña de azúcar, posean una alta cantidad de inóculo de *F. moniliforme* por lo que de ser factible se recomienda la aplicación de fungicidas directo al suelo, y a los esquejes al momento de la siembra antes de tapar las semilla, con el fin de reducir el inóculo inicial del *F. moniliforme* al menos hasta que el sistema recupere el equilibrio, lo cual puede tardar unos 2 o 3 años, pasado este tiempo es posible que las incidencias se reduzcan y no sea necesario recurrir más a esta práctica. Como alternativas se pueden utilizar el folpet a 130 g i.a.\*\*/ha.

La utilización de abonos orgánicos puede estimular al *F. moniliforme* e incrementar la incidencia en las plantaciones de caña, es altamente recomendable la incorporación de organismos benéficos especialmente del género *Trichoderma* spp. al suelo para favorecer la competencia y acercar la microflora a un equilibrio que tienda a disminuir la incidencia del *F. moniliforme*.

La fertilización nitrogenada podría ser un factor promotor del aumento en la incidencia de los ataques del *F. moniliforme*, no obstante no se ha medido el efecto de manera que se pueda cuantificar el aporte de esta práctica al aumento de los casos, sino que lo que se ha detectado es el aumento de la frecuencia de la aparición de síntomas en épocas cercanas a la aplicación de fuentes nitrogenadas a nivel de plantaciones comerciales.

Al igual que con la aplicación de fertilizantes nitrogenados, no hay valoraciones cuantitativas ni existen datos concluyentes con respecto al efecto del B sobre la enfermedad por lo que no se recomienda para el tratamiento de la misma, aunque la aplicación de B en el cultivo tiene por sí solo un efecto terapéutico y beneficioso en condiciones limitantes para la obtención del elemento, considerando que el B interviene en la planta en el desarrollo de tejidos jóvenes de raíces y hojas, adicionalmente favorece el transporte de azúcares entre las células que componen los tejidos de la planta.

### Literatura consultada

LAICA (Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar). 2019. Programa de Fitosanidad. Área de Fitopatología: Informe de Resultados 2018. DIECA (Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar). San José, Costa Rica. 34 p.

Nelson, PE. 1992. Taxonomy and biology of *F. moniliforme*. Mycopathologia 117:29 – 36.

Nelson, PE; Dignani, MC; Anaissie, AE. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clinical microbiology reviews 7(4):479 – 504.

Heng, MH; Baharuddin, S; Latiffah, Z. 2012. Characterization of *Fusarium* species section *Liseola* by restriction analysis of the IGS region. Genetics and Molecular Research 11(1):383 – 392.

IMA (International Mycological Association). 2016. MycoBank. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks (en línea). Munich, Alemania. Consultado el 20 de julio del 2018. Disponible en: <http://www.mycobank.org/BioMICSDetails.aspx?Rec=10750>.



# Sabe a lo que nunca has probado!

Nuevas bebidas instantáneas



Bajo en calorías

Con extracto de  
**Stevia**

Descubrí tu sabor