

OCCLUSIÓN DE HACES VASCULARES PARA EVALUAR RESISTENCIA DE CAÑA DE AZÚCAR A *Xanthomonas albilineans*

Manuel Huerta Lara, Elizabeth Cárdenas Soriano, Reyna Isabel Rojas Martínez, Jesús Francisco López Olgúin, Delfino Reyes López, Juliana Bautista Calles y Omar Romero Arenas

RESUMEN

La evaluación de resistencia de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) a escaldadura de la hoja ha sido realizada sin consideración del porcentaje de daño al sistema vascular. En el presente estudio se analizó la oclusión de haces vasculares del tallo, en la parte basal y apical de la caña de azúcar, para evaluar resistencia a *Xanthomonas albilineans* (Xa). Se utilizó caña de azúcar de la variedad susceptible Mex 64-1487 y la resistente Co 997, distribuidas en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. La inoculación se realizó por inyección en la parte media del tallo de plantas de tres meses de edad, con 3ml de Xa con 2×10^8 UFC/ml o agua estéril. Los muestreos se realizaron a 0, 30, 60, 110 y 213 días después de

la inoculación (ddi), cortando dos tallos al azar por repetición. De cada tallo se tomó un nudo de la parte basal y otro de la parte apical, los cuales se colocaron en formaldehído-alcohol-ácido acético. La oclusión se analizó utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2^3 con tres repeticiones. La identificación de Xa se realizó utilizando Bio-PCR (colonias bacterianas en la PCR), con los iniciadores PGBL1 y PGBL2, específicos para DNA de Xa. El mayor porcentaje de haces vasculares ocluidos se detectó a los 110 ddi en la parte basal ($p \leq 0,05$) de ambas variedades. La oclusión de haces vasculares permitió evaluar correctamente la resistencia de Mex 64-1487 y Co 997 ($p \leq 0,05$) utilizando la parte basal del tallo.

Introducción

El daño al sistema vascular de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) no ha sido utilizado como una variable respuesta para evaluar resis-

tencia a *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, aun cuando se conoce que la bacteria es sistémica y causa oclusión de vasos del xilema (Birch y Patil, 1983; Rott *et al.*, 1994; Champoiseau *et al.*, 2006). En tallos no hay

estudios histopatológicos, pero se ha señalado la presencia de haces vasculares café rojizos en cortes de tallos enfermos (Rott *et al.*, 1995; Huerta *et al.*, 2003a). No obstante, algunos autores han descrito la histo-

patología de plantas infectadas con bacterias vasculares, señalando la presencia de bacterias, gomas, geles, sustancias pécticas de la pared celular, polifenoles y polisacáridos insolubles en el lumen de vasos

PALABRAS CLAVE / Bacterias Fitopatógenas / Escaldadura / *Saccharum officinarum* / Sistema Vascular / Tallo / *Xanthomonas albilineans* /

Recibido: 27/09/2008. Modificado: 10/03/2009. Aceptado: 13/03/2009.

Manuel Huerta Lara. Doctor en Ciencias, Colegio de Postgraduados, (COLPOS), México. Profesor Investigador, Departamento de Agroecología y Ambiente (DAGAM), Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), México. Dirección: 14 Sur 1601, C.P. 72570, Colonia San Manuel,

Puebla, México. e-mail: batprofessor@hotmail.com
Elizabeth Cárdenas-Soriano. Doctora en Ciencias, Profesora Investigadora, Instituto de Fitosanidad, COLPOS, Montecillo, México.
Reyna Isabel Rojas-Martínez. Doctora en Ciencias. Profesora Investigadora, Instituto de Fito-

sanidad, COLPOS, Montecillo, México.
Jesús Francisco López-Olgúin. Doctor en Ciencias. Profesor Investigador, DAGAM-BUAP, México.
Delfino Reyes-López. Doctor en Ciencias. Profesor Investigador, Ingeniería Agrohidráulica, BUAP, México.

Juliana Bautista-Calles. Doctora en Ciencias. Investigadora de la Sociedad Mexicana para el Estudio de los Patosistemas Vegetales, A.C. México.
Omar Romero-Arenas. Maestro en Ciencias. Profesor Investigador, Ingeniería Agroforestal, BUAP, México.

VASCULAR BUNDLE OCCLUSION AS A MEASURE OF SUGARCANE RESISTANCE TO *Xanthomonas albilineans*

Manuel Huerta Lara, Elizabeth Cárdenas Soriano, Reyna Isabel Rojas Martínez, Jesús Francisco López Olguín, Delfino Reyes López, Juliana Bautista Calles and Omar Romero Arenas

SUMMARY

The sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) resistance to leaf scald has been studied without consideration of the percentage of damage to the vascular system. In the present study the occlusion of vascular bundles in the basal and apical parts of the sugarcane stalk was analyzed to evaluate the resistance to *Xanthomonas albilineans* (Xa). The susceptible sugarcane variety Mex 64-1487 and the resistant variety Co 997 were used under a randomized design with four replications. Inoculation was carried out by injection in the middle of the stalk of 3 month old plants, using 3ml of a 2×10^5 UFC/ml bacterial suspension or sterile water. The sampling was done at 0, 30, 60, 110 and 213 days after the inoculation, cutting two stalks by replication. In

each plant two nodes from the basal part and two from the apical part were sampled and kept in a formaldehyde-alcohol-acetic acid solution, to determine occlusion with a complete randomized design in factorial composition 2^3 with three replications. The Xa diagnosis was done employing Bio-PCR (bacterial cells in the PCR) and PGBL1 and PGBL2 DNA specific primers for Xa. The percentage of vascular bundle occlusion was larger in the basal part of the stalk in both varieties ($p \leq 0,05$). The determination of the vascular bundle occlusion allowed a correct evaluation of the resistance of both Mex 64-1487 and Co 997 ($p \leq 0,05$), analyzing the lower basal part of the stalk.

OCCLUSÃO DE FEIXES VASCULARES PARA AVALIAR RESISTÊNCIA DE CANA DE AÇUCAR A *Xanthomonas albilineans*

Manuel Huerta Lara, Elizabeth Cárdenas Soriano, Reyna Isabel Rojas Martínez, Jesús Francisco López Olguín, Delfino Reyes López, Juliana Bautista Calles e Omar Romero Arenas.

RESUMO

A avaliação de resistência de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) a escaldadura da folha tem sido realizada sem consideração da porcentagem de dano ao sistema vascular. No presente estudo se analisou a oclusão de feixes vasculares do caule, na parte basal e apical da cana de açúcar, para avaliar resistência a *Xanthomonas albilineans* (Xa). Utilizou-se cana de açúcar da variedade suscetível Mex 64-1487 e a resistente Co 997, distribuídas em um desenho aleatório de blocos com quatro repetições. A inoculação se realizou por injeção na parte média do caule de plantas de três meses de idade, com 3ml de Xa com 2×10^5 UFC/ml ou água estéril. As amostragens foram realizadas a 0, 30, 60, 110 e 213 dias após a inoculação (dai), cor-

tando dois caules aleatoriamente por repetição. De cada caule foi retirado um nó da parte basal e outro da parte apical, os quais foram colocados em formaldeído-álcool-ácido acético. A oclusão se analisou utilizando um desenho completamente aleatório com arranjo fatorial 2^3 com três repetições. A identificação de Xa se realizou utilizando Bio-PCR (colônias bacterianas na PCR), com os iniciadores PGBL1 e PGBL2, específicos para DNA de Xa. A maior porcentagem de feixes vasculares ocluídos foi detectada aos 110 dai na parte basal ($p \leq 0,05$) de ambas as variedades. A oclusão de feixes vasculares permitiu avaliar corretamente a resistência de Mex 64-1487 e Co 997 ($p \leq 0,05$) utilizando a parte basal do caule.

del xilema. Estos materiales provocan la oclusión del haz vascular, tornándolo café rojizo y producen el síntoma de marchitez (Nelson y Dickey, 1970; Trigiano *et al.*, 2004; Blanco *et al.*, 2005). Por ello, Nelson y Dickey (1970) señalaron que el tejido afectado en el hospedante puede ser utilizado para medir la cantidad de daño ocasionado por patógenos vasculares.

Rott *et al.* (1997) enfatizaron la inutilidad de la evaluación de resistencia a la escaldadura utilizando síntomas en hojas, debido a la presencia de la fase latente, en la cual no hay expresión de síntomas pero hay colonización de tejidos. Estos autores propusieron la utilización de la densidad poblacional del patógeno, variable que reflejó exitosamente la resisten-

cia de la planta. Huerta *et al.* (2003b) realizaron un estudio de colonización y dinámica poblacional de *Xanthomonas albilineans* en tallos de caña de la variedad resistente Co 997 y de la susceptible Mex 64-1487 y encontraron que la mayor colonización se presentó en la parte basal de ambas variedades ($p \leq 0,05$), con un máximo de población a los 110 días después de la inoculación, al alcanzar 1 165 500UFC/g de tejido fresco para Mex 64-1487 y 75 400UFC/g de tejido fresco para Co 997. Concluyeron que la resistencia de la caña a escaldadura se podía evaluar utilizando densidad poblacional en la base del tallo, pero al igual que Rott *et al.* (1997) encontraron un alto grado de dificultad para la medición de

la densidad poblacional en una muestra representativa.

Harrison y Davis (1988) encontraron el mayor número de haces vasculares infectados con la bacteria *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, así como la mayor densidad poblacional del patógeno por ml de extracto, en la variedad susceptible CP 72-1210. Concluyeron que el número de haces infectados puede proveer una indicación útil de la reacción del cultivar al raquitismo de la soca de la caña de azúcar.

Dado que el daño al sistema vascular puede indicar el nivel de resistencia de la caña de azúcar a bacterias sistémicas, se realizó el presente trabajo con el objetivo de analizar la dinámica de oclusión de haces vasculares del tallo de caña

de azúcar por la bacteria *X. albilineans* en la variedad de caña susceptible Mex 64-1487 y la resistente Co 997 bajo condiciones de campo.

Materiales y Métodos

Inoculación de plantas de caña con X. albilineans

La inoculación se realizó por inyección con jeringa esterilizada en la parte media del tallo de plantas de tres meses de edad en etapa de resoca, introduciendo 3ml de una suspensión bacteriana de *X. albilineans* conteniendo 2×10^5 UFC/ml, o agua destilada estéril para el testigo. El cultivo se seleccionó bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Cada blo-

que se conformó por cuatro parcelas, y cada parcela por un surco de 3m de longitud y una población de 50 plantas en promedio por variedad. En cada parcela se inocularon 20 plantas ubicadas en la parte central del surco. El tamaño de la parcela útil fue de 1,2m de longitud y una población de 18 plantas en promedio. Los tratamientos fueron: Mex 64-1487 inoculada con Xa, Mex 64-1487 inoculada con agua, Co 997 Inoculada con Xa y Co 997 inoculada con agua.

Toma de muestras de caña inoculada

Los muestreos se realizaron a 0, 30, 60, 110 y 213 días después de la inoculación (ddi), con la finalidad de analizar la dinámica de oclusión de haces vasculares. De cada tratamiento se cortaron dos plantas al azar, y de cada planta se tomaron dos nudos de la parte basal y dos de la apical. Ambas muestras se colocaron inmediatamente en la solución fijadora de FAA (formaldehído 10%, ácido acético glacial 5%, etanol absoluto 50% y agua destilada 35%) para evitar cambios en el tejido durante el transporte y almacenamiento.

Diagnóstico de *X. albilineans* utilizando Bio-PCR

La bacteria *X. albilineans* (Xa) fue aislada de los tallos de caña de azúcar inoculados, Mex 64-1487 y Co 997, utilizando el Medio Basal Selectivo (Davis *et al.*, 1994), por medio de diluciones seriadas (Huerta *et al.*, 2003b).

La reacción de Bio-PCR (reacción en cadena de la polimerasa más colonias bacterianas; Wang *et al.*, (1999)) se preparó con un volumen de 25µl, incluyendo los iniciadores altamente específicos PGBL1 y PGBL2 (Pan *et al.*, 1999) tal

como lo señalaron Huerta *et al.* (2003b), con la única diferencia de que, en lugar de ADN, se colocaron 4µl de colonias de *X. albilineans* en suspensión, en una concentración aproximada de 10⁶UFC/ml. El programa de amplificación de ADN utilizado fue el propuesto por Wang *et al.* (1999).

Oclusión de haces vasculares

Para obtener las muestras para microscopía de luz, los tejidos fijados en FAA se lavaron tres veces con agua corriente a intervalos de 15min, se cortaron en trozos de 1cm², se envolvieron en malla de tul y se deshidrataron e infiltraron con paraplast en un cambiador automático de tejidos TISSUE-TEK II (Sakura, mod. 4640-B). El tiempo programado por recipiente fue de 4h. Las muestras se cortaron en un micrótopo rotatorio (American Optical, mod. Spencer 820), con grosor de 10-12µm. Los cortes fueron teñidos empleando la técnica de safranina-verde rápido (Curtis, 1986). Los tejidos se montaron y sellaron con resina sintética para su observación al microscopio compuesto, y se tomaron fotografías en un fotomicroscopio Ultraphot II Carl Zeis®.

Dinámica de oclusión de haces vasculares

La comparación de la dinámica de oclusión de haces

vasculares entre las variedades de caña Mex 64-1487 y Co 997 se realizó con el porcentaje de haces vasculares ocluidos en las secciones basal y apical del tallo, más el parámetro de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), mediante la fórmula

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{y_i + y_{i+1}}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

donde n: número de mediciones; y_i: número de haces ocluidos en un área de 38,5mm² del nudo del tallo, al día de medición i; y t_i: número de

38,5mm² de tejido seleccionado al azar.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos para oclusión de haces vasculares se realizaron con el sistema de análisis estadístico SAS® (1997). La oclusión se analizó con un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2³ con tres repeticiones. Los factores analizados fueron: 1) variedades de caña: Mex 64-1487 y Co 997; 2) posición de haces vasculares en la planta: base y ápice; y 3) número de bacterias inoculadas de *X. albilineans*: 0 y 2x10⁵UFC/ml, lo cual produjo un total de ocho tratamientos. La comparación de medias tanto para haces vasculares ocluidos como para ABCPE se hizo con Tukey (α=0,05).

Resultados

Diagnóstico de *X. albilineans* utilizando Bio-PCR

EL diagnóstico de la bacteria *X. albilineans* fue positivo en los 10 muestreos realizados para determinar oclusión, al amplificar una banda de 288 pares de bases de ADN tanto a los 30 como a los 110 ddi (Figura 1).

Dinámica de oclusión de haces vasculares

Los tallos de las variedades de caña inoculadas, tanto resistentes (Co 997) y susceptibles (Mex 64-1487), presentaron un comportamiento de daños similares en el sistema vascular a los 30, 60, 110 y 213 ddi; siendo el principal daño la oclusión de vasos del metaxilema y protoxilema (Figura 2).

El mayor porcentaje y cantidad de haces vasculares ocluidos en el tallo por la bacteria *X. albilineans*, tanto en tiempo como en espacio, se detectó

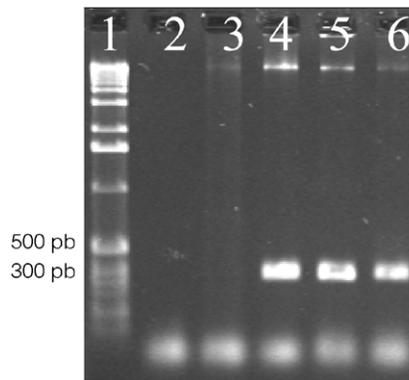


Figura 1. Fragmento de 288 pares de bases de ADN específico para *Xanthomonas albilineans* (Xa) amplificado por Bio-PCR. Carril 1: marcador de peso molecular 1kb, 2: agua, 3: bacteria saprófita amarilla, 4: cepa Xa inoculada, 5: cepa Xa aislada a 30 ddi, 6: cepa Xa aislada a 110 ddi.

días desde la inoculación a la fecha de medición i. El número de haces ocluidos se determinó contando los haces vasculares que presentaron el lumen del xilema teñido de color violeta-rojizo del total de haces en los

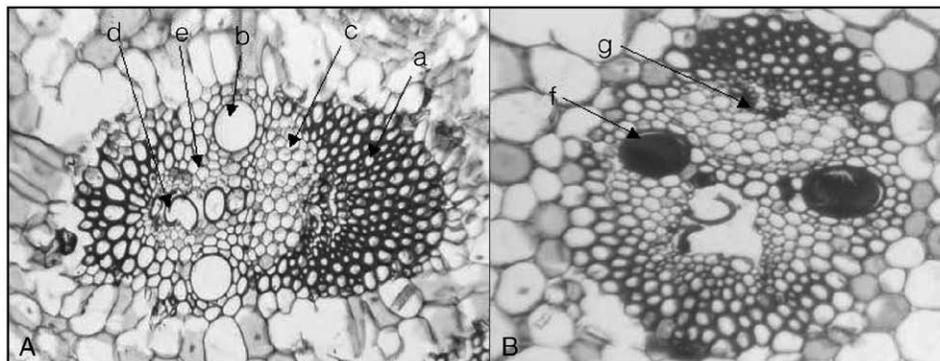


Figura 2. Haces vasculares en el nudo basal del tallo de caña de azúcar Mex 64-1487, teñidos con safranina-verde rápido (50x). A: Haz vascular sano y B: haz vascular ocluido por *X. Albilineans*. a: fibra del floema, b: metaxilema, c: floema, d: laguna del protoxilema, e: parénquima, f: oclusión de metaxilema, g: necrosamiento del floema.

en la parte basal ($p \leq 0,05$) de ambas variedades (Figura 3). A los 30 ddi la variedad Mex 64-1487 presentó 3,43 haces ocluidos en la parte basal de un total de 39,5 ($p \leq 0,05$) y 0 haces ocluidos en la parte apical de un total de 58,7 ($p \leq 0,05$); la variedad Co 997 presentó 3,1 haces ocluidos en la parte basal de un total de 66,3 ($p \leq 0,05$). A los 110 ddi la Mex 64-1487 presentó 48,5 haces ocluidos en la parte basal de un total de 49,1 y solo 14,6 en la parte apical de un total de 66,1 ($p \leq 0,05$). La variedad resistente Co 997 presentó 4 haces ocluidos en su parte basal de un total de 60,5 y 0 haces ocluidos en la parte apical de un total de 60,2 ($p \leq 0,05$). A los 213 ddi la variedad Mex 64-1487 presentó 29,7 haces ocluidos de un total de 57,95 ($p \leq 0,05$) y solo 12,8 haces ocluidos en el ápice de un total de 34,8. La variedad resistente presentó solo 5,5 haces ocluidos en su base de un total de 48,5 y cero haces ocluidos en el ápice de un total de 37,9 ($p \leq 0,05$). Los tratamientos testigos, variedad Mex 64-1487 y Co 997 inoculados con agua, presentaron 0 haces vasculares ocluidos, tanto en la base como en el ápice, en todos los muestreos realizados.

La comparación del ABCPE, utilizando oclusión vascular, reflejó una mayor susceptibilidad de la variedad Mex 64-1487 respecto a la variedad Co 997, al presentar la mayor ABCPE tanto en la base como en el ápice ($p \leq 0,05$). La sección basal de la variedad Mex 64-1487 superó con 85% a la sección basal de la variedad resistente Co 997, ya que presentó 6555 unidades a diferencia de la variedad Co 997 que alcanzó solamente 951 unidades. La menor ABCPE se detectó en la parte apical de ambas variedades ($p \leq 0,05$).

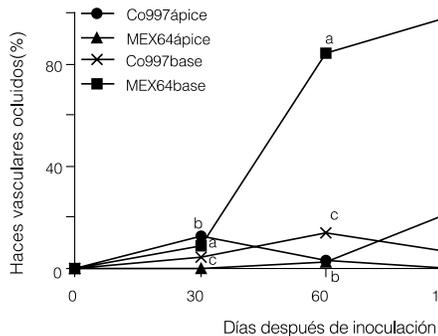


Figura 3. Dinámica de oclusión de haces vasculares por *Xanthomonas albilineans* en tallos de caña de azúcar variedad Mex 64-1487 y Co 997 en etapa de resaca, inoculadas por inyección bajo condiciones de campo en Veracruz, México, 2002. Letras iguales en la columna de ddi significa que no hay diferencia estadística significativa, Tukey ($p \leq 0,05$).

Discusión

La Bio-PCR permitió diagnosticar positivamente a *X. albilineans*, a partir de células bacterianas aisladas de los tallos de caña Mex 64-1487 y Co 997, sin extracción de ADN, tal como lo indicaron Pan *et al.* (1999) y Wang *et al.* (1999).

La oclusión de vasos del metaxilema y protoxilema, detectada en las cañas Mex 64-1487 y Co 997 inoculadas con *X. albilineans*, son síntomas que concuerdan con lo reportado para bacterias que afectan el sistema vascular de las plantas en general y no solo de la caña de azúcar (Nelson y Dickey, 1970; Boher *et al.*, 1995; Trigiano *et al.*, 2004; Blanco *et al.*, 2005). Varios autores han postulado que las oclusiones impiden el movimiento sistémico de las bacterias, así como su rápida multiplicación. Sin embargo, este mismo mecanismo causa marchitez, necrosis y clorosis (Nelson y Dickey, 1970; Harrison y Davis, 1988; Boher *et al.*, 1995).

Las pruebas histoquímicas (datos no mostrados) revelaron que el material que ocluyó los vasos de xilema fueron principalmente masas de células bacterianas, pectinas, polisacáridos y polifenoles, tal como lo describieron Nelson y Dickey (1970) y Boher *et al.* (1995) para bacterias que afectan el sistema vascular. En las pruebas con azul de

toluidina al 0,25% las oclusiones de metaxilema y protoxilema se tiñeron de un color azul oscuro, revelando la presencia de polifenoles, mientras que la tinción con rojo de rutenio fue de color rojo a rosa intenso, revelando la presencia de pectinas (polisacáridos). Ambas sustancias son producto de la degradación de componentes celulares por efecto de *Xanthomonas* (Boher *et al.*, 1995).

El hecho que la parte basal del tallo, tanto de la variedad susceptible Mex 64-1487 como de la resistente Co 997, presentara el mayor porcentaje y cantidad de haces vasculares ocluidos por *X. albilineans* ($p \leq 0,05$), tanto en tiempo como en espacio, se debió probablemente a que en la base de la planta es donde los tejidos están más desarrollados y contienen mayor cantidad de sacarosa (Huerta *et al.*, 2003a). Este fenómeno concuerda con lo reportado para la bacteria *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* por Harrison y Davis (1988), quienes señalaron que el patrón de colonización de haces vasculares de los internudos de caña por la bacteria parece estar correlacionado con la madurez de los tejidos del tallo, debido a que los haces vasculares ocluidos e infectados, así como la densidad poblacional del patógeno, fueron mayores en los tejidos de los internudos más bajos y más maduros. Este mismo aspecto de colonización fue observado por Huerta *et al.* (2003b), como se indicó arriba, con disminución total de la población bacteriana en la parte apical de la variedad resistente Co 997, que es donde están los tejidos menos desarrollados.

Harrison y Davis (1988) también encontraron que la infección vascular disminuye al disminuir la densidad bacteriana, aspecto que fue corroborado en el presente ensayo con la dinámica de

oclusión de haces vasculares y su comparación con la densidad poblacional reportada por Huerta *et al.* (2003b), donde la variedad susceptible Mex 64-1487 a los 30 ddi presentó 3,43 haces ocluidos de un total de 39,5 y una densidad poblacional de 76632UFC/g de tejido fresco; posteriormente, a los 60 ddi, la oclusión se incrementó considerablemente al ocluir 30,3 haces de un total de 35,85 con una densidad poblacional de 177545UFC/g de tejido fresco; a los 110 ddi se alcanzó cerca del 100% de oclusión de haces, al detectar 48,5 haces ocluidos de un total de 49,0 ($p \leq 0,05$) y una densidad poblacional de 1116500UFC/ml (Huerta *et al.*, 2003b). El porcentaje de oclusión disminuyó significativamente a los 213 ddi, ya que se presentaron 29,7 haces ocluidos de un total de 57,9 ($p \leq 0,05$) y una densidad poblacional de 145714UFC/ml.

El ABCPE del número de haces ocluidos confirmó que la variedad Mex 64-1487 es más susceptible a *X. albilineans* que la variedad Co 997, resultado que concuerda con lo reportado por Huerta *et al.* (2003b), quienes encontraron que la variedad Mex 64-1487 superó hasta con 94% a la variedad Co 997 al comparar el área bajo la curva de la densidad poblacional de *X. albilineans* en la base del tallo. Este resultado es semejante a lo reportado por Harrison y Davis (1988) para la bacteria sistémica *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, causante del raquitismo de la soca de la caña, quienes detectaron una correlación positiva ($r = 0,95$, $p = 0,0001$) entre el área bajo la curva del número de haces infectados y la densidad poblacional de la bacteria por ml de extracto en las variedades CP 70-1133, CP 44-101 y CP 72-1210. El mayor número de haces colonizados y la mayor densidad poblacional de la bacteria la detectaron en la variedad susceptible CP 72-1210 y las menores cantidades en la variedad resistente CP 70-1133, tal como ocurrió en este ensayo al detectar el

mayor porcentaje y número de haces ocluidos en la variedad susceptible Mex 64-1487, patrón de colonización que coincidió con lo reportado por Huerta *et al.* (2003b).

Conclusiones

El mayor porcentaje de haces vasculares ocluidos por *X. albilineans* se detectó en la sección basal del tallo, tanto de la variedad susceptible Mex 64-1487 como de la resistente Co 997. La dinámica de oclusión de haces vasculares del tallo fue directamente proporcional al incremento de la densidad poblacional de la bacteria en el tejido. Los principales daños observados fueron oclusión de metaxilema y protoxilema por masas bacterianas, polifenoles y polisacáridos. La escaldadura de la hoja de la caña de azúcar se puede evaluar muestreando la parte basal del tallo a 110 días después de la inoculación y determinando el porcentaje de oclusión de haces vasculares; variable con menor dificultad de medida que la densidad poblacional de la bacteria.

REFERENCIAS

- Birch RG, Patil SS (1983) The relation of blocked chloroplast differentiation to sugarcane leaf scald disease. *Phytopathology* 73: 1368-1374.
- Blanco Y, Blanch M, Piñón D, Legaz ME, Vicente C (2005) Antagonism of *Gluconacetobacter diazotrophicus* (a sugarcane endosymbiont) against *Xanthomonas albilineans* (pathogen) studied in alginate-immobilized sugarcane stalk tissues. *J. Biosci. Bioeng.* 99: 366-371.
- Boher BK, Pemoua K, Nicole M, Luisetti J, Geiger JP (1995) Ultrastructure of interactions between cassava and *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*: Cytochemistry of cellulose and pectin degradation in a susceptible cultivar. *Phytopathology* 85: 777-788.
- Champoiseau P, Daugrois JH, Girard JC, Royer M, Rott PC (2006) Variation in albicidin biosynthesis genes and in pathogenicity of *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen. *Phytopathology* 96: 33-45.
- Curtis PJ (1986) *Microtecnia Vegetal*. Trillas. México. 106 pp.
- Davis MJ, Rott P, Baudin P, Dean JL (1994) Evaluation of selective media and immunoassays for detection of *Xanthomonas albilineans*, causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Diseases* 78: 78-82.
- Harrison NA, Davis MJ (1988) Colonization of vascular tissue by *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* in stalks of sugarcane cultivars differing in susceptibility to ratoon stunting disease. *Phytopathology* 78: 722-727.
- Huerta LM, Ortega ALD, Landeros SC, Fucikovsky ZL, Marín GM (2003a) Respuesta de 10 variedades de caña de azúcar a la escaldadura de la hoja [*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson], en la región central costera de Veracruz. *Agrociencia* 37: 511-519.
- Huerta LM, Sandoval IJS, Cárdenas SE, Rojas MRI, Flores CS, Marín GM (2003b) Evaluación de resistencia de las variedades de caña Co 997 y Mex 64-1487 utilizando colonización y dinámica poblacional de *Xanthomonas albilineans* en el tallo. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21: 316-322.
- Nelson PE, Dickey RS (1970) Histopathology of plants infected with vascular bacterial pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 8: 259-279.
- Pan YB, Grisham MP, Burner DM, Legendre BL, Wey Q (1999) Development of polymerase chain reaction primers highly specific for *Xanthomonas albilineans*, the causal bacterium of sugarcane leaf scald disease. *Plant Dis.* 83: 218-222.
- Rott P, Abel M, Soupa D, Feldmann P, Letourmy P (1994) Population dynamics of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane plants as determined with an antibiotic-resistant mutant. *Plant Dis.* 78: 241-247.
- Rott P, Soupa D, Brunet Y, Feldmann P, Letourmy P (1995) Leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) incidence and its effect on yield in seven sugarcane cultivar in Guadeloupe. *Plant Pathol.* 44: 1075-1084.
- Rott P, Mohamed IS, Klett P, Soupa D, De Saint-Albin A, Feldmann P, Letourmy P (1997) Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization of sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. *Phytopathology* 87: 1202-1213.
- SAS (1997) *SAS for Windows*. ver. 3.2.1 SAS Institute Inc. Cary, NC, EEUU. s/p.
- Trigiano RN, Windham MT, Windham AS (2004) *Plant Pathology Concepts and Laboratory Exercises*. CRC. Washington, DC., EEUU. 413 pp.
- Wang ZK, Comstock JC, Hatziloukas E, Schaad NW (1999) Comparison of PCR, Bio-PCR, ELISA and isolation on semi-selective medium for detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of leaf scald of sugarcane. *Plant Pathol.* 48: 245-252.

INTERCIENCIA

JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY OF THE AMERICAS

SUBSCRIPTION PRICES FOR 2009

INDIVIDUAL	US\$ 130
INSTITUTIONAL	
Latin America & Caribbean	US\$ 160
Institutions U.S.A. & Canada	US\$ 190
Europe	US\$ 240
Africa & Asia	US\$ 260

For subscriptions please contact us at:
Apartado 51842, Caracas 1050 A, Venezuela. Fax: (58+212) 9923224

e-mail: interciencia@ivic.ve subs@revistainterciencia.org www.interciencia.org