



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

**“Daño celular en hojas de caña de azúcar por
incidencia de mosca pinta y su correlación con la
concentración de azúcares”**

ROSARIO PACHECO COETO

TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ

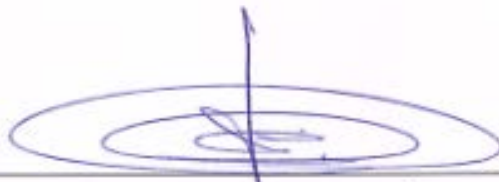
2015

La presente tesis, titulada: **Daño celular en hojas de caña de azúcar por incidencia de mosca pinta y su correlación con la concentración de azúcares**, realizada por la alumna: **Rosario Pacheco Coeto**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ ROSAS

ASESOR:



DR. LUIS CÁRDENAS TORRES

ASESOR:



DR. JUAN VALENTE HIDALGO CONTRERAS

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México

Daño celular en hojas de caña de azúcar por incidencia de mosca pinta y su correlación con la concentración de azúcares

Rosario Pacheco Coeto, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

Resumen

Mosca pinta es el principal insecto plaga en caña de azúcar debido al daño mecánico ocasionado por la inserción de su estilete en las hojas, dañando las láminas foliares, que por infestación afectan en gran medida el proceso fotosintético, lo que se ve reflejado en el desarrollo del cultivo. Por lo cual se realizó un estimado para conocer el momento de corte y determinar la calidad del jugo durante el desarrollo de la planta infestada y no infestada por mosca pinta y así realizar curva de maduración a través del método Pol-Ratio. Los datos se analizaron con el programa SAS para obtener datos de correlación entre la calidad del jugo y los niveles de población de la mosca pinta. Para lo cual se pudo observar como las variables Brix y pol relacionadas con mosca pinta, muestran una correlación significativa con una confiabilidad de 99% lo cual indica que el daño de la mosca pinta se ve reflejado en la disminución de la concentración de azúcares. Esta investigación está enfocada en las respuesta de la planta ante la presencia de dicho hemíptero, donde se involucra la producción de calosa que expresa β -glucanos y alta presencia de especies reactivas de oxígeno (ERO) con la reacción de peróxidos. Estas ocasionan muerte celular en la zona dañada y delimitan el daño celular. En este trabajo, se expresa la presencia de calosa y ERO en plántulas de caña de azúcar sometidas a infestaciones de mosca pinta. Dicha expresión fue medida en nanómetros con base en la intensidad de fluorescencia expresada por la presencia de β -glucanos (700 a 7000 nm) y peróxidos expresados entre 1000 a 6400 nm que muestran el daño real ocasionado por el estilete del insecto en la hoja y sus efectos sobre la superficie y en el interior de la misma.

Palabras Clave: Daño mecánico, muerte celular, *Aeneolamia albofasciata*, curva de madurez, calidad de jugo, *Saccharum officinarum*.

Cell damage in sugar cane leaves by *spittlebug* incidence and its correlation with the concentration of sugars

Rosario Pacheco Coeto, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

Abstract

Spittlebug is the main insect pests in sugarcane due to mechanical damage caused by the stylet bug into the leaves, damaging to leaf blades, which greatly affect the photosynthetic process, which is seen by infestation reflected in the development of the crop. This research is focused on analysis of mature stems exposed to spittlebug adults into the cage. To estimate the time of harvest, was measured the quality of the juice during the development of the plant and a maturation curve was performed by the Pol-Ratio method. The data were analysed with the SAS program to obtain data on the correlation between the quality of the juice and the spittlebug adult population levels. It was observed as Brix and pol spittlebug adult -related variables show a correlation with 99% reliability that indicates that damage to spittlebug adults, if it decreases the concentration of sucrose. This research focuses on the response of the plant in the presence of hemiptera bug, where is involved in the production of callose expressing β -glucans and high presence of reactive oxygen species (ROS) with the reaction of peroxides. They cause cell death in the damaged area and delimit the cellular damage. This work expresses the presence of callose and ROS in sugarcane seedlings with adults from spittlebugs infestations. Damaged leaves tissues were treated with dyes fluorescent as blue aniline fluorochrome that adheres to the (1-3) β -glucans of the callose and the CM-H₂DCFDA that binds to the intracellular glutathione of ROS by the presence of peroxides. This expression was measured in nanometers based on fluorescence intensity expressed by the presence of β -glucans (700 to 7000 nm) and peroxides expressed between 1000 to 6400 nm, showing the real damage caused by stylet bug on the leaf and their effects on the surface and inside of the same tissue.

Key words: Mechanical damage, Cellular death, *Aeneolamia albofasciata*, Ripening Curve, Juice Quality, *Saccharum officinarum*.

DEDICATORIA

A mi madre por creer en mí.

A mis hermanas por el apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca otorgada, la cual me ayudo a concluir mis estudios de Maestría. Gracias.

Al Colegio de Postgraduados, por abrirme las puertas de esta casa de estudios y darme la oportunidad de seguir superándome profesionalmente.

A la MAP zona Centro que fue donde se realizó la investigación.

Al Ingenio Fideicomiso El Potrero por permitirme realizar las pruebas y los muestreos en su zona de abasto.

Al Dr. Francisco Hernández Rosas por su dedicación y esfuerzo para concluir este trabajo, y sobre todo por el apoyo incondicional y la confianza que deposito en mí.

Al Dr. Luis Cárdenas Torres por su gran apoyo, dedicación y esfuerzo.

Al Dr. Juan Valente Hidalgo, por su apoyo incondicional y dedicación para la conclusión de este trabajo, muchas gracias.

Dra. Guadalupe Zavala Padilla del área de Microscopia Electrónica del IBT de la UNAM por el apoyo en los cortes histológicos y la toma de imágenes.

A mis amigos; Gloria, Marisol, Anel, Isaac, Pedro, Eutiquio, Mario, Manuel y Cheli porque siempre estuvieron conmigo en los mejores y peores momentos de este camino, gracias por el apoyo.

CONTENIDO

| | | |
|------|--------------------------------|---|
| I. | INTRODUCCIÓN GENERAL | 1 |
| II. | JUSTIFICACIÓN..... | 2 |
| III. | HIPÓTESIS | 2 |
| IV. | OBJETIVOS | 2 |
| | 4.1 Objetivo General..... | 2 |
| | 4.2 Objetivos específicos..... | 3 |

CAPITULO 1 REVISIÓN DE LITERATURA

| | | |
|------|---|----|
| 1.1 | Antecedentes generales..... | 4 |
| 1.2. | El cultivo de la caña de azúcar. | 6 |
| | 1.2.1 Descripción botánica..... | 7 |
| | 1.2.2 Crecimiento vegetativo..... | 8 |
| | 1.2.3 Variedades comerciales..... | 9 |
| 1.3 | Enfermedades del cultivo de caña de azúcar..... | 11 |
| 1.4 | Plagas en el cultivo de caña de azúcar..... | 11 |
| | 1.4.1 Mosca Pinta (<i>Aeneolamia albofasciata</i>)..... | 12 |
| 1.5 | Daño foliar por insectos plaga..... | 16 |
| 1.6 | Sistemas de defensa en las hojas de caña por daño mecánico..... | 17 |
| | 1.6.1 Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)..... | 17 |
| | 1.6.2 Calosa | 18 |
| 1.7 | Calidad de jugo de caña de azúcar..... | 18 |
| | 1.7.1 Factores de calidad antes del corte | 19 |
| 1.8 | Referencias | 20 |

CAPITULO 2 EXPRESIÓN CELULAR DE PERÓXIDOS Y CALOSA POR LA INSERCIÓN DEL ESTILETE DE MOSCA PINTA EN EL TEJIDO DE CAÑA DE AZÚCAR

| | | |
|-----|---------------------------|----|
| 2.1 | Resumen | 28 |
| 2.2 | Palabras clave | 28 |
| 2.3 | Abstract | 28 |
| 2.4 | Keywords..... | 29 |
| 2.5 | Introducción | 29 |
| 2.6 | Materiales y Métodos..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 2.6.1 Selección de muestras..... | 32 |
| 2.6.2 Cortes histológicos..... | 32 |
| 2.6.3 Microscopía de fluorescencia de tejidos de hoja de caña de azúcar | 33 |
| 2.6.4 Adquisición de Imágenes y su procesamiento | 34 |
| 2. 7 Resultados..... | 34 |
| 2.7.1 Cortes histológicos..... | 34 |
| 2.7.2 Tratamientos Fluorescentes | 36 |
| 2.8.2 Tratamientos Fluorescentes | 43 |
| 2.9 Conclusión..... | 45 |
| 2.10 Agradecimientos..... | 46 |
| 2.11 Referencias | 46 |

CAPITULO 3

ACUMULACIÓN DE SACAROSA EN CAÑA DE AZÚCAR Y SU CORRELACIÓN CON LA INCIDENCIA DE MOSCA PINTA

| | |
|---|-----------|
| 3.1 Resumen | 50 |
| 3.2 Palabras clave | 50 |
| 3.3. Introducción | 51 |
| 3.4 Materiales y Métodos..... | 52 |
| 3.4.1 Diseño experimental | 53 |
| 3.4.2 Condiciones de desarrollo del cultivo | 53 |
| 3.4.3 Muestreo de adultos de mosca pinta..... | 53 |
| 3.4.4 Conteo de huevos..... | 53 |
| 3.4.5 Muestreo de tallos..... | 54 |
| 3.4.6 Método Pol Ratio..... | 55 |
| 3.5 Resultados..... | 55 |
| 3.5.1 Muestreo de adultos de mosca pinta..... | 55 |
| 3.5.2 Conteo de huevos..... | 57 |
| 3.5.3 Método Pol-Ratio | 58 |
| 3. 6 Discusión..... | 61 |
| 3.7 Conclusión..... | 62 |
| 3.8 Agradecimientos..... | 62 |
| 3. 9 Referencias | 62 |
| V. CONCLUSIÓN GENERAL..... | 64 |
| IV. REFERENCIAS..... | 64 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Taxonomía de la caña de azúcar (ITIS, 2015). | 7 |
| Tabla 2. Requerimientos para el cultivo (FONAIP, 1986). | 8 |
| Tabla 3. Censo de variedades de la caña de azúcar industrializadas en México, durante la zafra 2010-2011. | 10 |
| Tabla 4. Conteos para conocer la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para la jaula 1..... | 55 |
| Tabla 5. Conteos para conocer la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 2..... | 56 |
| Tabla 6. Huevos encontrados por punto de muestreo, en el área experimental (cinco de oros)..... | 57 |
| Tabla 7. Correlación de Pearson | 59 |
| Tabla 8. Correlaciones más significativas entre las variables medidas donde el valor de significancia es del 99%. | 60 |
| Tabla 9. Comparación de medias, Tukey. | 61 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Ciclo biológico de mosca pinta..... | 12 |
| Figura 2. A. Corte transversal de tejido de hoja de caña expuesto por un día a los adultos de mosca pinta..... | 35 |
| Figura 3. Corte transversal de tejido de hoja de caña expuesto por tres días a los adultos de mosca pinta..... | 36 |
| Figura 4. Tejido de hoja de caña con estructuras miceliales intracelulares a los tres días de exposición con adultos de mosca pinta. | 37 |
| Figura 5. Tejido de hoja de caña de azúcar dañada por inserción de estilete mosca pinta y <i>sin daño</i> | 39 |
| Figura 6. Tejido de hoja de caña de azúcar dañada por inserción de estilete de mosca pinta <i>con expresión de ERO</i> | 40 |
| Figura 7. Diferentes valores de fluorescencia para ERO y calosa en tejido de hoja de caña de azúcar. | 41 |
| Figura 8. Comparación entre los valores de fluorescencia (nm) de ERO y calosa en tejido de hoja de caña de azúcar (muestras de la Figura 7)..... | 42 |
| Figura 9. Comportamiento de la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 1..... | 56 |
| Figura 10. Comportamiento de la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 2 (cinco de oros). | 56 |
| Figura 11. Puntos críticos de presencia de huevos de mosca pinta en jaula 1 | 58 |
| Figura 12. Puntos críticos de presencia de huevos de mosca pinta en jaula 2 | 58 |

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es un cultivo afectado por varias especies de insectos plaga, entre las que destaca el salivazo o mosca pinta (Walk, 1858) que se alimenta de las láminas foliares y provoca una fitotoxemia llamada quema de las hojas con la consecuente disminución de la capacidad fotosintética (Fewkes, 1969; Badilla, 2002). La mosca pinta (*Aeneolamia albofasciata*) (Lallemand, 1939) (Hemiptera: Cercopidae) en el caso de México, llega a causar pérdidas hasta de 9 ton/ha en el menor de los casos incluso duplicar dicha pérdida en rendimiento y en acumulación de sacarosa (De la Cruz-Llanas *et al.* 2005; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015). Por lo tanto, existe el interés desde el punto de vista agrícola y económico por las pérdidas que puede llegar a ocasionar (De la Cruz-Llanas *et al.* 2005; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

El daño de la mosca pinta puede dividirse en dos tipos: El daño provocado por la ninfa o salivazo al alimentarse de las raíces superficiales de la cepa y raíces adventicias de los tallos de la planta; y el otro tipo de daño, el provocado por el adulto al alimentarse de retoños o pelillo y hojas a nivel medio y superior del tallo. El insecto en estado de ninfa y adulto, se caracterizan por tener un estilete que insertan en la lámina foliar para alimentarse mediante la succión de la savia a nivel del floema y obtener los nutrientes de la planta; esto, permite el desarrollo del insecto aunque al mismo tiempo provoca daño celular con la fractura inter e intracelular (daño mecánico) que induce estrés biótico (Ammar *et al.* 2013).

La presencia de altas densidades de población de mosca pinta se relaciona con diversos factores entre ellos la falta de enemigos naturales (Hewitt, 1986; Hewitt y Nilakhe, 1986; Sujii, 1998). Sin embargo, la disponibilidad y calidad de la planta huésped también pueden desempeñar un papel en la dinámica de las poblaciones de mosca pinta al afectar directamente el rendimiento la ninfa y el adulto (Pires *et al.* 2000a). Por lo tanto, la plaga constituye uno de los factores limitantes de la productividad cañera. Estas afectaciones por presencia de mosca pinta se ven reflejadas durante la cosecha en la calidad del jugo de los tallos dañados.

Esta investigación tuvo como objetivo conocer el daño a nivel celular que causa la inserción del estilete de la mosca pinta y la baja concentración de azúcares

que puede ocasionar por la succión de la savia en la caña y por la reducción del área fotosintética de las hojas.

II. JUSTIFICACIÓN

La necesidad de conocer la dimensión de daño que la mosca pinta puede llegar causar en el cultivo de caña de azúcar, ha impulsado la búsqueda de estrategias e investigaciones que lleven a una respuesta sobre la capacidad de daño que esta plaga puede alcanzar. Puesto que se sabe que la presencia de mosca pinta en caña de azúcar reduce de un 10% a un 30% el rendimiento de sacarosa, por lo que se considera una de las plagas más perjudiciales en caña de azúcar. Considerando como precio de referencia para pago de caña \$10,617.72 por tonelada de azúcar para este 2013-2014, pérdidas que se pueden estimar hasta \$3,185.31 por tonelada (Cámara Nacional de la Industria Azucarera y Alcohólica, 2013). Es por esto que conocer el comportamiento de mosca pinta y las reacciones que la planta tiene hacia ella, nos lleva a buscar soluciones y propuestas de cambio en el manejo fitosanitario de dicha plaga para su control.

III. HIPÓTESIS

El daño mecánico de la mosca pinta por la inserción del estilete, provoca una respuesta en las células de la hoja por con daño en la planta y que se expresa como muerte celular y en consecuencia limita el área fotosintética; que redundará en la reducción de la acumulación de sacarosa.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Reconocer la expresión de ERO y calosa en respuesta de las células al daño causado por el estilete de mosca pinta en el tejido de las hojas de caña de azúcar y la relación que existe entre las poblaciones de mosca pinta y la calidad del jugo en los tallos maduros.

4.2 Objetivos específicos

1. Identificar el tejido de las hojas de caña con daño reciente por el estilete de mosca pinta.
2. Reconocer el daño celular por inserción del estilete de la mosca pinta
3. Identificar las estructuras celulares dañadas por ERO y calosa a través de fluorescencias.
4. Realizar muestreo de las poblaciones de mosca pinta presente en un área específica.
5. Realizar estimados de madurez fisiológica para tallos confinados en jaulas y al aire libre.
6. Conocer a través de métodos estadísticos la relación entre mosca pinta y calidad de jugo

CAPITULO 1.

REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Antecedentes generales.

La agroindustria de la caña de azúcar es una actividad productiva de gran importancia social, cultural, política y económica (Sánchez, 1997; Crespo, 1988); su valor es de 3 mil millones de dólares anuales, lo que representa 11.6 por ciento del total de las materias primas agroindustriales. Los 164 mil agricultores de caña y los 51 ingenios del sector generan más de 450 mil empleos (11.35% del total de la agroindustria de alimentos), y beneficios directos para más de 2 millones de personas (CONADESUCA, 2015). Veracruz, Jalisco y San Luis Potosí producen el 61.1% del azúcar en México y cuentan con el 54.9% de los ingenios (CNIAA, 2014). Sin embargo, en México esta agroindustria se ha visto afectada por plagas y enfermedades que reducen la calidad y rendimientos de este cultivo.

Las plagas y enfermedades de la caña de azúcar constituyen uno de los principales factores negativos para la producción de azúcar a nivel mundial. En las últimas décadas, el número de organismos patógenos y agentes etiológicos detectados sobre este cultivo ha crecido considerablemente y se han extendido de forma notable (INIFAP, 2012).

El salivazo o mosca pinta, se ha convertido en una plaga clave de los campos de caña de azúcar en los litorales del Golfo de México y del Océano Pacífico. Estudios previos han demostrado que las ninfas de *Aeneolamia spp.* causan daños masivos en la caña de azúcar (Dinardo - Miranda *et al.* 2003; García *et al.* 2006.). Estas succionan el agua y los nutrientes a través de la savia de la raíz y las hojas (García *et al.* 2007), lo que hace que las plantas se deshidraten y presenten deficiencia de nutrientes. Los adultos de *Aeneolamia spp.* extraen la savia de las hojas, y realizan inyección de saliva para facilitar la digestión. Las reducciones en el rendimiento de tallo pueden ser significativas para la mayoría de los genotipos de caña de azúcar, principalmente en el centro y el final de la temporada de cosecha (Dinardo-Miranda *et al.* 1999). Existen registros de hasta 44.8 % de las pérdidas debido al ataque del salivazo (Dinardo-Miranda *et al.* 2001). A pesar de que el salivazo se ha convertido en una plaga clave de caña

de azúcar, se han realizado pocos trabajos sobre su impacto en la calidad de la caña de azúcar y el procesamiento. El daño causado por esta plaga se mide principalmente por el rendimiento del tallo y pérdidas de azúcar (Dinardo-Miranda *et al.* 2003; Gonçalves *et al.* 2003).

Los rendimientos del tallo pueden ser resultado de respuestas bioquímicas a los ataques de plagas, a través de la descomposición de los azúcares y sus compuestos celulares (Ravaneli *et al.* 2006). Las plantas producen una amplia variedad de ácidos orgánicos y compuestos fenólicos para hacer frente a la infestación de insectos (Bi *et al.* 1997; Taiz y Zeiger, 2004; Guimarães *et al.* 2008), que son generalmente indeseable para el crecimiento de la caña, ya que causan disminución del rendimiento y calidad de los productos finales.

El ciclo de vida de esta plaga consiste en el apareamiento de los insectos (macho y hembra), ocurre de 48 a 72 horas después de emergido el adulto, y las hembras se aparean solamente una vez en su vida. El número de huevecillos que oviposita cada hembra, varía de 39 hasta un máximo de 150. La incubación de los huevecillos que son puestos en los meses del verano, requiere generalmente de 10 a 15 días. En las condiciones de temperatura y humedad predominantes durante los meses del verano en los cañaverales de la vertiente del Golfo de México (30° a 37°C y más de 70% de humedad relativa), el estado de la ninfa o salivazo tarda de 19 a 27 días. Los insectos adultos viven de 1 a 2 semanas, tiempo en que tiene lugar el apareamiento y se alimentan del jugo de las hojas de la planta, se estima un periodo de 6 a 7 semanas para el ciclo completo (huevecillo, ninfa y adulto) durante los meses de julio a septiembre (Flores 1994).

Se considera que la mosca pinta a través del daño causado por la inserción del estilete, provoca efectos negativos en la concentración de sacarosa, lo que reduce la calidad de jugo extraído para la fabricación de subproductos. Por lo tanto se pretende conocer el factor que está limitando dicha concentración. Considerando el daño mecánico por muerte celular y reacciones bioquímicas por intercambio de fluidos.

El estudio de la muerte celular se apoya en la microscopía óptica y electrónica para la búsqueda de rasgos fenotípicos, caracterización de variedades con diferentes grados de resistencia y evaluación de trastornos de las células ante el ataque de patógenos (Díaz-Vivancos *et al.* 2006).

Los estudios bioquímicos se basan en el empleo de reacciones y determinaciones de sustancias específicas para llegar a conocer los cambios que ocurren tras la llegada del patógeno, también permiten caracterizar la composición de determinados metabolitos en variedades susceptibles y resistentes.

En numerosas interacciones hospedero-patógeno existen isoformas particulares de proteínas que se activan de forma rápida y durante un corto período de tiempo, particularmente dentro de las 24 a 72 horas postinoculación, para contrarrestar los daños que ocurren a la llegada del patógeno (Bari y Jones, 2009; Zurbriggen *et al.* 2010).

En otros estudios de interacciones hospedante-patógeno se asocian las enzimas oxidativas (superóxido dismutasas, peroxidasas y polifenoloxidasas) e hidrolíticas (quitinasas y glucanasas) con los mecanismos de resistencia (Nittler *et al.* 2005; Boava *et al.* 2010). La acumulación diferencial de oligosacáridos es otro elemento a tener en cuenta durante la interacción planta-patógeno ya que estos componentes están involucrados en la transducción de las señales de las heridas (Galletti *et al.* 2008).

1.2. El cultivo de la caña de azúcar.

La caña es un cultivo de zonas tropicales o subtropicales del mundo. Requiere agua y suelos adecuados para crecer bien. Es una planta con alta capacidad de asimilación de la luz solar, teniendo una eficiencia cercana a 4.0% de conversión de la energía incidente en biomasa (Gliessman, 2002). Un cultivo eficiente puede producir 100 a 150 toneladas de caña por hectárea por año (con 14% a 17% de sacarosa, 14% a 16% de fibra y 2% de otros productos solubles).

El cultivo de la caña de azúcar se estableció en México por los españoles a mediados del siglo XVI. Entre los años 1522-1523 se estableció en Santiago Tuxtla, Ver., dando inicio en 1534 la fabricación de azúcar en el ingenio Tepeca (Sandoval, 1951). Este cultivo ha tenido un incremento constante, principalmente en la superficie de cultivo y al mejoramiento de las técnicas agrícolas; la caña de azúcar se catalogó entre los cinco productos básicos alimenticios junto con el maíz, frijol, trigo y café (Flores, 1997).

En el país, la siembra de caña de azúcar se concentra en 15 estados; sin embargo según la Cámara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcohólica, Veracruz, en el sureste mexicano, aporta el 37.56% de la producción, por lo que lo coloca en el primer lugar de los estados azucareros. Esta industria en Veracruz se compone de 22 ingenios que generan 167,000 empleos directos e indirectos (CONADESUCA, 2015).

En tanto a nivel nacional, la industria de la caña de azúcar cuenta con 55 ingenios, lo que hace que México se encuentre en el sexto lugar en producción mundial de azúcar, el cuarto productor mundial en cultivo de caña de azúcar y el sexto exportador mundial de azúcar.

1.2.1 Descripción botánica

La caña de azúcar es una planta tropical perenne que pertenece a la familia de las gramíneas (Poaceae) de género *Saccharum* (Fiallos Encalada y Quilambaqui Jara, 2010). La taxonomía asignada al cultivo de la caña de azúcar se describe a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Taxonomía de la caña de azúcar (ITIS, 2015).

| | |
|---------------------|--|
| Reino: | Vegetal |
| Subreino: | Viridiplantae |
| División: | Tracheophyta- plantas vasculares, traqueófitas |
| Subdivisión: | Spermatophytina- spermatophytes |
| Clase: | Monocotiledoneas |
| Orden: | Poales |
| Familia: | Poaceae * |
| Subfamilia: | Panicoideae |
| Tribu: | Andropogonae |
| Subtribu: | Sacarineae |
| Género: | <i>Saccharum</i> |
| Especie: | <i>officinarum</i> L |

Existen requerimientos específicos para el cultivo de la caña de azúcar, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Requerimientos para el cultivo (FONAIP, 1986).

| | |
|-----------------------------|--|
| Altitud (msnm) | 0 – 1000 m |
| Ciclo vegetativo | 12 – 18 meses. |
| Temperatura | Rango 15- 45 °C. Óptimo 30 – 35 °C |
| Precipitación | 1000 – 2200 mm. |
| Suelos | Francos, Franco-limosos, franco arcillosos. |
| pH | 5.5 – 8.2 |

La caña de azúcar es originaria de las regiones tropicales y subtropicales del Oriente (India y China). El género *Saccharum spp* es la gramínea que mejor utiliza la energía solar.

Este cultivo tiene características física específicas, como lo es: la raíz de la caña de azúcar es fibrosa. Generalmente el 70 % de las raíces se encuentran en los primeros 40 cms. El tallo es cilíndrico, alargado y sin ramificaciones, en su extremo tiene una yema apical de crecimiento que en variedades floreadas se transforma en yema floral y después en espiga. Está dividido en nudos y entrenudos, el entrenudo es la parte más importante porque es allí donde se almacena el azúcar. Las hojas se dividen en tres porciones claramente diferenciadas: láminas, lígulas y vaina. La lámina es la parte de mayor actividad fotosintética, con longitud variable de acuerdo a las condiciones y a la variedad. (TECNICAÑA, 1986).

1.2.2 Crecimiento vegetativo

Se conoce como crecimiento vegetativo al aumento continuo del tamaño de las plantas, el cual es un proceso fundamental que está relacionado con la formación de nuevas células, tejidos y órganos; así como también el aumento de volumen. A medida que la planta va aumentando de tamaño forma nuevos

órganos como hojas, raíces y tallos hasta llegar a su madurez total. En el caso de las plantas perennes, los órganos pueden seguir formándose en áreas meristemáticas especiales proporcionando un sistema abierto de crecimiento (De-Bashan *et al.* 2007).

El crecimiento no es uniforme en todas las plantas ya que solo se encuentra especializado en las zonas meristemáticas. Se propaga convencionalmente de manera vegetativa por medio de estacas o esquejes, el crecimiento de los tallos es lento y se acentúa con las condiciones ambientales y la humedad del suelo (Hernández, 2005).

Las cuatro fases de crecimiento de la caña de azúcar son: fase de brotación y emergencia o establecimiento; fase de amacollamiento y cierre de la plantación; fase de crecimiento rápido o de gran crecimiento, y maduración y cosecha (Cheavegatti-Gianotto *et al.* 2011; Patishtán-Pérez *et al.* 2014).

Brotación y emergencia. Proceso que inicia cuando el cultivo está recién plantado y aun no ocurre la emergencia o germinación, después de los 10 a 15 días de la brotación, se produce la emergencia de tallos. Macollamiento y cierre de la plantación. Se inicia la proliferación de tallos, desarrollo de raíces y follaje. Gran crecimiento. El desarrollo es más vigoroso, con porte erecto y mayor número de hojas por tallo. Maduración y cosecha. La maduración, es la etapa final de crecimiento y almacenaje de sacarosa en los tallos para finalmente hacer el corte (Patishtán-Pérez *et al.* 2014).

La caña de azúcar tiene dos ciclos de crecimiento. El ciclo planta, comienza con la siembra y termina después de la primera cosecha; el ciclo soca, comienza después de la cosecha de la planta y se continúa con las resocas conocidas como R1 hasta las R5 o más y que cumplen los ciclos del cultivo hasta la renovación de campo (Cheavegatti-Gianotto *et al.* 2011)

1.2.3 Variedades comerciales

Los trabajos de mejoramiento genético de la caña de azúcar que se realizaron en el periodo de 1970 al 2000 dieron como resultado más de 50 variedades de buena calidad agroindustrial, que para ese entonces cubrieron 400 000 hectáreas, en las que destacaron la Mex 57-473, Mex 68-P-23, Mex 69-290 y Mex 79-431 (Flores, 2001).

Estas variedades se caracterizan por su alto rendimiento y adaptabilidad a las condiciones climáticas y edáficas de las regiones cañeras. En la Tabla 3 se reporta la superficie sembrada de las variedades de caña de azúcar. Las principales ocupan el 78% predominando la variedad CP-72-2086 seguida de la variedad Mex 69-290. La primera tiene alto contenido de sacarosa pero es susceptible a algunas enfermedades entre ellas la hoja amarilla, raya roja y mosaico.

Tabla 3. Censo de variedades de la caña de azúcar industrializadas en México, durante la zafra 2010-2011.

| Núm | Variedad y cruza | Superficie (ha) |
|-----|--------------------------------------|-----------------|
| 1 | CP 72-2086 (CP 62-374 x CP 63-588) | 212 678.20 |
| 2 | Mex 69-290 (Mex 56-476 x Mex 53-142) | 72 427.16 |
| 3 | Mex 79-431 (Co 421 x Mex 57-473) | 53 666.82 |
| 4 | Mex 68-P-23 (Mex 59-89) | 29 186.87 |
| 5 | Mex 57-473 (CB 40-77 x CP 43-73) | 22 680.81 |
| 6 | RD 75-11 (CB 38-22 x CP57-603) | 20 147.48 |
| 7 | ITV 92-1424 (CP 72-2086) | 9190.40 |
| 8 | ZMex 55-32 (Q 50 x CP 43-33) | 8809.45 |
| 9 | MY 55-14 (CP 34-79 x B 45-181) | 8608.58 |
| 10 | SP 70-1284 (CB 41-76) | 8115.32 |

1.2.3.1 Variedad CP 72-2086

La variedad CP 72-2086 proviene del cruce entre CP 62-374 x CP 63-588 resultado de investigaciones colaboración con el Departamento de Agricultura de Estados Unidos Servicio de Investigación Agrícola, la Universidad de Florida y la Liga de Cañicultores de Florida en 1967 y fue liberada a la industria azucarera en 1972 e introducida a México. (Miller *et al.* 1984).

Es una de las variedades precoces más difundida en México y Centroamérica, con un porcentaje de contenido de sacarosa de 13.19% y rendimiento de 120 ton/ha (De Souza *et al.* 1994). Esta variedad presenta tallos erectos, la coloración del tallo verde avinado cuando es expuesto al sol y color verde claro cuando está cubierta por la vaina; los tallos presentan cera color blanco y en ocasiones negra.

El diámetro del entrenudo del tallo es de 3 a 3.5 cm con yema media de forma pentagonal y ligeramente abultada; hojas erectas, con ápice curvado y de anchura media.

1.3 Enfermedades del cultivo de caña de azúcar

China y Rodríguez (1994) y Flores (1994) mencionan que en la actualidad se han descrito más de 200 enfermedades de caña de azúcar a nivel mundial, de estas 58 han sido reportadas en Brasil y 57 en Cuba. Salgado *et al.* (2013) mencionan que una enfermedad se desarrolla y establece cuando existen por lo menos las tres condiciones siguientes: la siembra de variedades susceptibles, la presencia del inoculo del patógeno virulento y la presencia de condiciones ambientales favorables.

Según Cook (1932) enfermedades como la pudrición roja del tallo, el corazón negro y el mal de la corteza se reportaron como las primeras enfermedades en México. Años después se mencionó la existencia de la marchitez, el Pokkah-boeng, la mancha de anillo y la mancha roja de la vaina, estas últimas cuatro no ocasionaban daños de importancia.

En el año de 1946 al 47 el Banco de México financio la investigación sobre las enfermedades presentes en la caña de azúcar, monitoreando las diferentes zonas cañeras del país para reconocer e identificar las especies de hongos, bacterias y virus presentes en cultivos comerciales, dicha investigación se tituló “La Industria Azucarera de México” y fue publicado en 1953. En esta publicación se mencionaron las siguientes enfermedades presentes en la caña de azúcar: Mosaico de la hoja, raya roja de las hojas, pudrición de la raíz, pudrición por *Marasmius*, pudrición de la vaina, pudrición roja del tallo, Pokkah-boeng, mancha de ojo, mancha de anillo, mancha roja de la vaina, peca o mancha café, corazón negro del tallo, enfermedad de la corteza, roña de la vaina, pudrición seca (fisiológica) y clorosis caliza (deficiencia) (Chilton, 1953).

1.4 Plagas en el cultivo de caña de azúcar

Salgado *et al.* (2003) mencionan que las plagas de este cultivo son uno de los principales factores negativos para la producción de azúcar a nivel mundial. Destacando la importancia económica se enlistan las siguientes plagas: mosca

pinta (*Aeneolamia spp*), rata de campo (*Sigmodon hispidus*), la tuza (*Orthogeomys hispidus*) y el barrenador del tallo (*Diatraea spp*). Durante los últimos diez años el número de organismos patógenos y agentes etiológicos que se presentan en este cultivo se ha ido incrementando considerablemente (Flores, 1994).

1.4.1 Mosca Pinta (*Aeneolamia albofasciata*)

La mosca pinta presenta metamorfosis gradual o sencilla denominada paurometábola que se caracteriza por los estados de huevo, ninfa y adulto en el ciclo biológico de los insectos y porque las formas jóvenes o ninfas tienen una forma similar al insecto adulto.

Flores en 1994 y Hernández-Rosas *et al.* en el 2010 mencionan que el ciclo biológico se inicia desde el apareamiento de adultos, fines del mes de octubre y los primeros días de noviembre. Los huevos diapáusicos son depositados a finales de la época de lluvias, permanecen en este estado durante todo el periodo de sequía hasta el inicio de las lluvias (mayo a junio), razón por la cual la primera generación de salivazo generalmente coincide con el inicio de las lluvias e incremento de la temperatura. Los huevos no diapáusicos eclosionan poco tiempo después de la ovoposición (10 a 20 días) en la Figura 1 se concentran la información sobre el ciclo biológico de *Aeneolamia spp* (Hernández-Rosas y Figueroa-Rodríguez, 2011; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

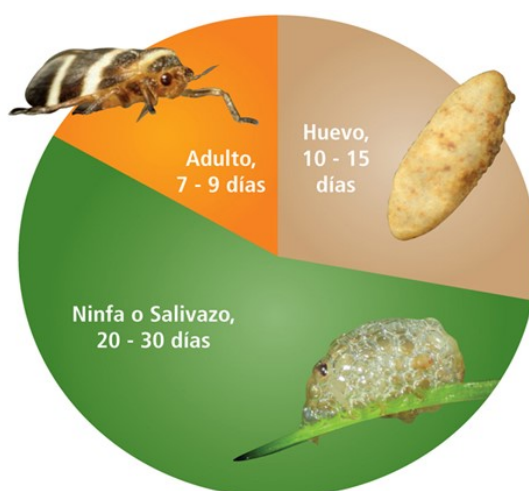


Figura 1. Ciclo biológico de mosca pinta. Desarrollo de los diferentes instares de la mosca pinta, *Aeneolamia albofasciata* en la zonas del Golfo de México (25-28 °C y 70% HR). Hernández-Rosas *et al.*, (2010).

1.4.1.1 Huevo

La hembra pone entre 40 a 100 huevos a 2 cm de profundidad, cerca de la cepa de caña de azúcar. Los huevos de mosca pinta recién ovipositados presentan forma oval, coloración amarillo cremoso, no distinguiéndose ninguna estructura en especial, con superficie lisa y aproximadamente 1 mm de longitud y 0.3 mm de diámetro (Vargas, 1970; Sánchez, 2005; Garza y Sánchez, 2007; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

Linares (2002) menciona que la humedad relativa juega un papel importante para el desarrollo del huevo influyendo en el periodo de incubación. Cuando las condiciones de humedad es de 80 o 90% con temperatura de 26 °C los huevos de *Aeneolamia varia fabricius* incuban por un periodo de 15 días, con un rango de 12 a 18 días; si las condiciones son baja humedad relativa el periodo de incubación puede prolongarse a 20 o 30 días (sin diapausa), y en ocasiones se inhibe la incubación y los huevos entran en diapausa mediana, eclosionan de 30 a 90 días (diciembre-enero) y diapausa larga que tardan en eclosionar más de 90 días (agosto-noviembre), (Figueiredo *et al.* 2012; Garza y Sánchez, 2007), de esta manera el desarrollo del huevo puede durar de unos pocos días hasta casi un año., Esta característica hace coincidir las mayores poblaciones durante el período menos lluvioso y esta a su vez es responsable de una eclosión continua de huevos durante todo el año observándose así la mezcla de poblaciones.

Los huevos pasan por cuatro fases de desarrollo y la duración promedio del desarrollo es de 18 días. En la fase uno, los huevos son de color amarillo y sin evidencia de desarrollo. En la fase dos, hay una mancha localizada debajo de la línea de eclosión. En la fase tres, la línea de eclosión está abierta y la superficie negra del opérculo está expuesta. En la fase cuatro, hay un par de puntos a los costados del corión, y otra pareja al lado de la línea de eclosión que representan los ojos (Rodríguez *et al.* 2003).

1.4.1.2 Ninfa o salivazo

La espuma es formada por una sustancia de consistencia mucilaginosa que es secretada por glándulas hipodérmicas grandes, que están situadas a nivel de la región pleural del séptimo y octavo segmento abdominal y se denominan

glándulas de Batelli. La sustancia que secreta el salivazo está compuesta en su mayor parte de un amino-azúcar y por el exceso de líquido que extraen de la planta al alimentarse, misma que sirve como mecanismo de defensa y las protege de la desecación y de enemigos naturales (CIAT, 1982).

Las ninfas recién eclosionadas están desprovistas de zonas quitinizadas, son sumamente activas e inmediatamente buscan refugio en las partes húmedas y sombreadas de la base de las plantas en donde inician su alimentación, algunas ninfas permanecen al pie de la cepa y suelo alimentándose de la raíz superficial, algunas otras se dirigen hacia el cogollo, para alimentarse de la savia (Bodegas, 1973; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

Durante el desarrollo de las ninfas, se pueden identificar cinco instares o estadios que pueden variar según las condiciones de temperatura y cuando estas son favorables el desarrollo ocurre entre 40 a 50 días, al final de cada instar la ninfa sufre una muda y aumento de tamaño, desarrollando progresivamente las estructuras alares y reproductivas (Fagan y Kuitert, 1969; Rodríguez *et al.*, 2003; Peck, 2003 y Thompson; Gonzales León, 2005).

En el primer estadio, las ninfas son muy pequeñas, con escasa espuma, su cuerpo es de color blanco o blanco cremoso, sus alas son vestigiales y apenas distinguibles, sus patas se ven alargadas y son torpes al caminar estas se esconden en la superficie del suelo o entre la hojarasca (Coronado, 1978).

En el segundo estadio ninfal las ninfas conservan su color inicial, sus alas vestigiales se distinguen al final del estadio cubriendo la mitad del primer segmento abdominal, su cabeza oscurece un poco y la parte dorsal del tórax es también amarillo grisáceo, el abdomen es abultado como consecuencia de la alimentación y la masa espumosa que la protege, y es de mayor tamaño (Bodegas, 1973; Coronado, 1978).

Durante el tercer estadio las ninfas tienen una tonalidad cremosa y el color de la cabeza y la parte dorsal del tórax es de tonalidad café-amarillenta o grisácea, contrastando con la coloración del cuerpo. Las alas son más desarrolladas, alcanzando la mitad del segundo segmento abdominal, son de color que puede varía de blanco-amarillento a café-amarillento, este instar estadio es similar al cuarto estadio, solo destaca el aumento de tamaño (Bodegas, 1973).

El quinto estadio es una etapa de transición entre el estado ninfal y el adulto. La ninfa deja de secretar la saliva y completa la formación de sus alas, aunque

inicialmente se observan descoloridas, combinando su coloración a través del tiempo. En esta transición se distinguen dos fases, el temprano y el tardío. Al emerger el adulto permanece inmóvil y es color blanco; al tener contacto con el aire, el cuerpo y las alas van adquiriendo su color normal. Durante los últimos instares, las ninfas se trasladan hacia las vainas más viejas del tallo donde permanecen hasta transformarse en adultos (CIAT, 1982; Thompson y Gonzales, 2005).

1.4.1.3 Adulto

El macho de *Aeneolamia spp.* mide de 7 a 8 mm de largo y la hembra es ligeramente más grande, sus dimensiones son de 8 a 9 mm de largo y de 5 a 6 mm de ancho. El cuerpo tiene una forma oval, la cabeza es de color oscuro o negro brillante, ojos simples (ocelos) muy cercanos uno del otro, aparte de los ojos compuestos que se encuentran desarrollados. Las antenas están formadas por tres segmentos, el último es muy corto y está provisto de dos cerdas. Las alas anteriores (superiores o primer par de alas) son más gruesas que las inferiores, tienen color café oscuro y en algunas especies las atraviesan dos bandas transversales de color amarillo claro, las alas inferiores son de consistencia membranosa. Las patas son de color oscuro, el abdomen está formado por nueve segmentos visibles, los dos primeros se encuentran reducidos. El tiempo promedio de vida del adulto es variable dependiendo de la especie (Rodríguez *et al.* 2003; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

Los adultos viven de seis a nueve días y tienen la capacidad de copular desde el segundo día de emergencia (Sánchez, 2005; Flores, 2007; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015). Cuando la hembra es fecundada inicia la ovoposición alrededor de la cepa, depositando de 40 a 100 huevecillos; dando inicio a una nueva generación. Los huevecillos permanecen 10 a 15 días para su eclosión y la aparición de nuevas ninfas, repitiendo el mismo mecanismo para convertirse en adulto. La rapidez en el incremento de la población está estrechamente relacionada con la infestación, presencia de ninfas y adultos, condiciones climáticas favorables y con la intensidad de los daños causados. (Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015)

1.5 Daño foliar por insectos plaga

Las plantas terrestres son la fuente de alimento para una cantidad estimada en más de un millón de especies de insectos de diferentes grupos taxonómicos, que usan varias estrategias de alimentación para obtener los nutrientes en cada parte de la planta. Aproximadamente dos tercios de todas las especies de insectos herbívoros se alimentan de hojas; los escarabajos (coleópteros) y las orugas (lepidópteros) causan daño con sus partes bucales desarrolladas para masticar; los herbívoros que perforan y succionan, utilizan estructuras tubulares para succionar el líquido contenido en células laceradas, mientras que los insectos minadores se desarrollan y alimentan en el tejido suave entre las capas de células de la epidermis; los áfidos, moscas blancas, y otros hemípteros insertan estiletes especializados entre las células para establecer un sitio de alimentación en el floema. En cada una de estas interacciones tanto el insecto como la planta, reciben y envían señales químicas que determinan el éxito de la interacción. Por un lado, los quimiorreceptores en las partes bucales, antenas y tarsos del insecto, miden la disponibilidad de la planta como una fuente de alimento. Por otra parte, las células de la planta reconocen y responden al movimiento del insecto y las heridas producidas durante la alimentación y los compuestos en las secreciones orales del insecto. En contraste al ataque de microorganismos patógenos, el ataque de los herbívoros produce heridas, por lo que el reconocimiento del ataque de herbívoros implica modificaciones en la respuesta a las heridas (Baldwin *et al.* 2001).

Cuando sucede un daño en el tejido de la planta, no existe la posibilidad de movilizar células para sanar las heridas, como en el caso de los mamíferos. Sin embargo, las plantas también han desarrollado estrategias bioquímicas para resistir a los predadores; la principal es que han desarrollado la habilidad para que cada célula pueda ser competente para activar respuestas de defensa. El daño mecánico que sufren las plantas puede ser de tipo abiótico, como la ruptura de las hojas por granizo o por el viento; o de tipo biótico como la mordedura por un insecto; en cualquier caso se activan un conjunto de respuestas que incluyen la activación de genes, llamados genes WR, que responden a las heridas. Algunos de estos genes pueden tener funciones defensivas contra organismos

que se alimentan de la planta o que entran a través de las heridas, mientras que otros genes tienen una función relacionada a sanar las heridas (Bowles, 1990).

1.6 Sistemas de defensa en las hojas de caña por daño mecánico

Respuesta inicial que tienen las plantas de caña de azúcar a nivel de la lámina foliar en presencia de la mosca pinta en estado adulto. Se conoce que cuando existen infecciones por la entrada de microorganismos patógenos, posterior al daño ocasionado por el insecto debido a la inserción de su estilete en la hoja de la planta y que tiende a activar sistemas de defensa que involucran un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la producción de calosa en la región de la infección (Benezer *et al* 2008; Skalamera *et al.* 1997).

1.6.1 Especies Reactivas de Oxígeno (ERO)

En las células vegetales, los niveles de ERO afectan diversos procesos, incluyendo el desarrollo, la respuesta hipersensible a ataque de patógenos y la respuesta al estrés (Mittler *et al.* 2001; Tsukagoshii *et al.* 2010).

Los cambios en los niveles de ERO se reconocen como firmas específicas de las plantas en respuesta a estreses biótico y abiótico (Wolf *et al.* 2014; Swanson y Gilroy 2009). Esta respuesta de la planta fortifica su pared celular y protege contra el daño mecánico del insecto. Esto se puede generar a través de la oxidación reversible de proteínas con residuos de cisteína adyacentes, que pueden incluir quinasas y fosfatasa. Además, pueden servir como un interruptor que regula la función de proteínas y vías de señalización redox en varias respuestas de estrés (Corcoran y Cotter 2013). En el caso de la caña de azúcar cada compartimento de células posee al menos un antioxidante (Smirnoff, 2000). El gran número de componentes antioxidantes redundantes puede ser explicado por el hecho de que cada uno puede tener una importancia particular para una ubicación específica y / o en una situación específica. Estos hechos indican que el estrés oxidativo es un fenómeno importante en la caña de azúcar debido a que sus células gastan una cantidad considerable de energía que expresan genes relacionados con este proceso (Soares, 2001).

Por lo que una de las reacciones más rápidas de defensa de todas las plantas al ataque de patógenos es la llamada explosión oxidativa, que constituye la producción de ERO, principalmente superóxido y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en el sitio de invasión (Apostol *et al.* 1989). Los hemípteros producen una herida mecánica durante su alimentación e inducen un aumento en los niveles de peróxido de hidrógeno dentro de la planta que asocia con la ráfaga de oxígeno provocada por patógenos (Bi y Felton 1995; Bradley *et al.* 1992).

1.6.2 Calosa

La calosa es otra de las respuestas al daño mecánico o infección por patógenos. Se observan frecuentes depósitos de calosa en las placas cribosas del floema, también se produce alrededor de los meiocitos en desarrollo y en las tétradas de las angiospermas con reproducción sexual. La calosa es un polisacárido de origen vegetal y un elemento sumamente importante para reparar sitios con heridas mecánicas en las plantas. Se halla compuesto por residuos de glucosa unidos entre sí por uniones β -1,3, y se lo denomina beta-glucano. La calosa se produce en la pared celular a partir de enzimas llamadas calosa sintasa y que esta puede ser degradada por la acción de β -1,3-glucanasas (Arcos y Narro 2009).

1.7 Calidad de jugo de caña de azúcar

La caña de azúcar está constituida por jugo y fibra. La fibra es la parte insoluble en agua y está formada principalmente por celulosa, que a su vez está constituida por azúcares sencillos como glucosa. El contenido porcentual de sólidos solubles en agua se denomina comúnmente Brix. La razón porcentual entre la sacarosa en el jugo y el Brix se conoce como pureza del jugo. El contenido aparente de sacarosa, expresado como un porcentaje en peso y determinado mediante un método polarimétrico, se denomina "pol". Los sólidos solubles diferentes de la sacarosa, que incluyen los azúcares reductores como la glucosa y otras sustancias orgánicas e inorgánicas, se denominan usualmente no-sacarosas, los cuales porcentualmente resultan de la diferencia entre el Brix y el pol.

En caña, el agua representa entre 73% y 76%. Los sólidos totales solubles (Brix, % caña) varían entre 10% y 16%, y la fibra (% caña) oscila entre 11% y 16%. Entre los azúcares más sencillos se encuentran la glucosa y la fructuosa (azúcares reductores), que existen en el jugo de cañas maduras en una concentración entre 1% y 5%. La calidad del azúcar crudo depende, en parte, de la proporción de estos azúcares reductores, y que aumentan por causa del deterioro o falta de maduración de la planta, pueden producir incrementos en el color y grano defectuoso (Clarke *et al.* 1986a).

1.7.1 Factores de calidad antes del corte

Los factores que contribuyen a la calidad de la caña de azúcar antes del corte están relacionados con: la variedad y prácticas culturales

1.7.1.1 Variedad

El contenido de sacarosa, el proceso de maduración, el nivel de compuestos no-sacarosos y la morfología de tallos, son características varietales que influyen directamente en la calidad de los jugos. Es difícil hacer una clasificación rígida de las variedades de acuerdo con su contenido de sacarosa; no obstante, existen marcadas diferencias entre ellas y, a menudo, se denominan variedades precoces o tardías, ya sea que a una edad temprana alcancen un contenido alto o bajo de sacarosa en el tallo, para que ocurra es necesario que se presente una disminución en la celeridad del crecimiento, que favorezca la acumulación de los azúcares producidos durante la actividad fotosintética.

1.7.1.2 Prácticas culturales

El desarrollo de la planta está ligado a la acumulación mineral. La fertilización tiene por objeto estimular el crecimiento de la planta, pero algunos nutrientes tienen efectos adversos sobre la calidad en el momento de la cosecha, en tanto que otros la mejoran y son clave en el proceso en fábrica.

Las aplicaciones excesivas de nitrógeno tienden a disminuir el contenido de sacarosa y a retrasar la maduración, no obstante, niveles altos de este nutriente están casi siempre asociados con un vigoroso desarrollo vegetativo,

como lo demuestran los estudios realizados en Hawaii y México (Wang, 1976), donde se observaron disminuciones en el pol (% caña) e incrementos en la producción de la variedad de caña NCo 310 con la aplicación de dosis altas de nitrógeno.

Por otra parte, el fósforo mejora la calidad de los jugos, como lo demuestran los trabajos de Meade y Chen (1977), quienes en Hawaii encontraron aumentos significativos en la calidad de los jugos con la fertilización fosfatada. Honig (1960) considera que la cantidad de fosfatos presente en el jugo de la caña es importante durante el proceso de clarificación, ya que se acepta que para una buena floculación después del enclamiento y de la adición de floculantes, las concentraciones de fósforo en el jugo deben estar entre 300 y 600 mg/l de P₂O₅. El fósforo, en forma de fosfatos solubles, además de ser un elemento clave para el crecimiento y el desarrollo del cultivo, es también de gran utilidad en el procesamiento y recuperación de azúcar de buena calidad.

El potasio es importante en el metabolismo de los vegetales, ya que sirve para mantener en dispersión el protoplasma, para la asimilación del carbono y para la síntesis y traslocación de las proteínas. Cuando se presentan deficiencias de este nutrimento en un cultivo de caña, el porcentaje de sacarosa se reduce y los niveles de azúcares reductores se incrementan, lo que resulta posiblemente, en bajo rendimiento y en la presencia de altas cantidades de materiales coloreados, debido a la descomposición térmica de los azúcares reductores o a las reacciones de Maillard antes mencionadas. Imrice y Tilbury, 1972 en Sudáfrica encontraron que las aplicaciones de potasio en suelos deficientes contribuían a disminuir el contenido de almidón en los jugos de diferentes variedades, evitando problemas posteriores en el proceso en fábrica.

1.8 Referencias

Alatorre-Rosas, R y Hernández-Rosas, F. 2015. Mosca pinta, *Aeneolamia spp* y *Prosapia spp* (Hemiptera: Cercopidae). In: Arredondo-Bernal, H. C. y Rodríguez del Bosque, L.A. Casos de Control Biológico en México. Vol. 2. Editorial BBA. Pp. 416.

- Apostol I, Heinstein PF, Low PS. 1989. Rapid stimulation of an oxidative burst during elucidation of cultured plant cells. Role in defense and signal transduction. *Plant Physiology*. 90:106–16.
- Arcos, A. L.; Narro, L. A. 2009. Calosa como herramienta de selección para tolerancia de maíz al aluminio. *Manual de Laboratorio*. CIMMYT, 1-5 México, D.F.
- Baldwin, I. T.; Halitschke, R.; Kessler, A.; Schittko, U. 2001. Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 351-358.
- Bari, R; Jones, JD. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Mol Biol.* 69(4):473-488.
- Benezer-Benezer, M., Castro-Mercado, E. y García-Pineda, E. 2008. La producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26:56-61.
- Bi JL, Felton GW. 1995. Foliar oxidative stress and insect herbivory: primary compounds, secondary metabolites and reactive oxygen species as components of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology*. 1511–30.
- Bi, J.L.; Felton, G.W.; Murphy, J.B.; Howles, P.A.; Dixon, R.A.; Lamb, C.J. 1997. Do plant phenolics confer resistance to specialist and generalist insect herbivores? *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.45, p.4500-4504.
- Boava, LP; Kuhn OJ; Pascholati, SF; Di Piero, RM; Furtado, EL. 2010. Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com *Puccinia psidii*. *Tropical Plant Pathology* 35(2):124-128.
- Bodegas, V. P.R. 1973. Aspectos biológicos sobre la mosca pinta de los pastos, con énfasis en el periodo de incubación de los huevecillos de *Aeneolamia occidentalis* (Fennah). Tesis MC. Monterrey, N.L. ITESM. 111p.
- Bowles, D. J. 1990 Defense-related proteins in higher-plants. *Annual review of biochemistry* 59: 873-907.

- Bradley DJ, Kjellbom P, Lamb CJ. 1992. Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cellwall protein: A novel, rapid defense response. *Cell*. 70:21–30
- Cheavegatti-Gianotto, A.; Couto de A.; H.M., Arruda, P., Bernal, F. J.C., Lee B., W., Creste, S.; Di Ciero, L.; L., Aparecido, F. J., Vargas de O. F.; A., De Sousa F. T., Grossi-de-Sá, M.; Cesar G. E., Hoffmann, P.; Guimarães de A. L. M.; Macedo N.; Matsuoka, S.; De Castro R. F.; Romano, E.; Da Silva W.J.; De Castro S. F. M.; Ulian, E.C. (2011). Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A Reference Study for the Regulation of Genetically Modified Cultivars in Brazil. *Tropical Plant Biol.* 4:62–89.
- Chilton, S.J.P. 1953. Enfermedades de la caña de azúcar. La Industria Azucarera de México. Banco de México, S.A. Apéndice A, Traduc. Vol. II 135-268.
- China, A. y Rodríguez, E. (1994). Enfermedades de la caña de azúcar. Publicaciones IMAGO. Ciudad de La Habana, Cuba. pp. 22 – 24.
- CIAT. 1982. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cercópodos de los pastos en América Tropical. Biología y control: guía de estudio. Cali, Colombia. CIAT. 51p.
- Clarke, M. A.; Blanco, R. S.; y Godshall, M. A. 1986^a. Colorant in raw sugars. *Proceedings. Intern. Soc. Sugar Cane Technol. (ISSCT)* 2:670-682.
- CNIAA, 2014. Manual Azucarero Mexicano 2014. México: CNIAA. <http://www.camaraazucarera.org.mx/>
- CONADESUCA. 2014. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar (CONADESUCA), con Información de las Delegaciones de la SAGARPA en los Estados. Avance de Siembras y Cosechas Perennes 2014. <http://www.conadesuca.gob.mx/>
- Cook, M. T. 1932. Report on the International Survey of the Diseases of Sugar Cane. *Proct. Congr. ISST. Puerto Rico* 4:63; *Bull.* 128, 15 p.
- Corcoran, A.; Cotter, T., H. 2013. Redox regulation of protein kinases. *The Febs journal.* 280: 1944–1965.
- Coronado Padilla, R. 1978. Memoria de la campaña contra la mosca pinta. Coyoacán, México. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). 126p.
- Crespo, H. 1988. Historia del azúcar en México. México: Fondo de Cultura Económica.

- De-Bashan, L.E., Holguin, G., Glick, B.R. and Bashan, Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propositos agricolas y ambientales. In: Microbiologia agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biologico, planta-microorganismo. (Eds.) Ferrera-Cerrato, R., and Alarcon, A. Chapter 8. Published by: Editorial Trillas, Mexico City, Mexico. pp. 170-224.
- De Souza, O., González, V. y Rea, R. 1994. Caracterización de catorce variedades promisoras de caña de azúcar en Venezuela (en línea). *Biotecnología Vegetal*. 12(1): 3-45. Consultado el 24 de Julio del 2015. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/canadeazucar/cana1201/texto/caracterizacion.htm
- Díaz-Vivancos P, Rubio M, Mesonero V, Periago PM, Ros Barceló A, Martínez-Gómez P, Hernández JA. 2006. The apoplastic antioxidant system in *Prunus*: response to plum pox virus. *Journal of Experimental Botany*. 57:3813–3824.
- Dinardo-Miranda, R. Rossetto & J.P. Stupiello. 1999. IV Semana da Cana-de-açúcar de Piracicaba. *Anais*.
- Dinardo-Miranda, L.L., J.M.G. Ferreira & P.A.M. Carvalho. 2001. Influência da época de colheita e do genótipo de cana-de-açúcar sobre a infestação de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 145-149.
- Dinardo-Miranda, L.L. 2003. Cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar. Instituto Agrônomo, Campinas, São Paulo, 70p.
- Fagan, E.B; Kuitert, L.C. 1969. Biology of the two-lined spittlebug, *Prosapia bicincta*, on Florida pastures (Homoptera: Cercopidae). *The Florida Entomologist* 52(3):199-206.
- Fiallos Encalada, F.F., y Quilambaqui, Jara, M. 2010. Reacción de 100 variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) del Banco de Germoplasma del CINCAE, al carbón (*Ustilago scitaminea* Sydow), Roya (*Puccinia melanocephala* Sydow) y Mosaico (Sugarcane Mosaic Virus) en la zona del Cantón El Triunfo.
- Figueiredo, L., Andrade, O., Cova, J., Mora, O., y Aza, G. 2012. Distribución espacio temporal de ninfas de *Aeneolamia varia* Fabricius (1787)

- (Hemiptera: Cercopidae) en caña de azúcar a través de un sistema de información geográfica. Sociedad Venezolana de Entomología. ENTOMOTROPICA. Vol. 27(1): 7-18.
- Flores, C. S. 1997. Enfermedades de la caña de azúcar en México. Editorial Núñez. Córdoba, Veracruz, México. 285p
- Flores, C. S. 2007. Las Plagas de la Caña de Azúcar en México. Segunda Edición. México. D.E 288.
- FONAIAP. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1986. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/. Consultado 2 de Noviembre de 2005
- Galletti, R; Denoux, C; Gambetta, S; Dewdney, J; Ausubel FM; De Lorenzo G; Ferrari S. 2008. The atrbohD-mediated oxidative burst elicited by oligogalacturonides in arabidopsis is dispensable for the activation of defense responses effective against Botrytis cinerea. Plant Physiology 148:1695-1706.
- García, J. F.; Botelho, P.S. M.; Parra, J. R. P. 2006. Biology and fertility life Table of *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. Scientia Agricola, v.63, p.317-320.
- García, J. F.; Grisoto, E.; Machado, B. P. S.; Postali, P. J. R.; Appezzato-da-Glória, B. 2007. Feeding site of the spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) on sugarcane. Scientia Agricola. 64 (5): 555-557.
- Garza, U.E., y Sanchez, G.C. 2007. La mosca pinta *Aenolamia postica* y su manejo en la planicie Huasteca. INIFAP. No. 16, 6-8 pp.
- Gliessman, S. R. 2002. Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible. Turrialba. 271-274. Costa Rica.
- Gonçalves, T.D., M.A. Mutton, D. Perecin, J.M. Campanhão & M.J.R. Mutton. 2003. Qualidade da matéria prima em função de diferentes níveis de danos promovidos pela cigarrinha-das-raízes. Stab 22: 29-33.
- Guimarães, E.R.; Mutton, M.A.; Ferro, M.I.T.; Silva, J.A. da; Mutton, M.J.R. 2008. Níveis constitutivos de compostos fenólicos podem estar relacionados à resistência da cana-de-açúcar a cigarrinha-das-raízes. Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, v.1, p.357-365.

- Hernández, J. R.; Aramendiz, H.; Cardona, C. E. 2005. Influencia del ácido indolbutírico y ácido naftalenoacético sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). *Temas Agrarios*. 10: (1) 5-13.
- Hernández-Rosas, F y Figueroa-Rodríguez, K.A. 2011. Barrenador (*Diatraea saccharalis*) y Mosca pinta (*Aeneolamia spp.*; *Prosapia spp.*) en caña de azúcar y sus enemigos naturales. *Agro productividad*. Año 4. Volumen 4. Número 3.
- Hernández-Rosas, F., Figueroa-Sandoval, B., y Figueroa-Rodríguez, K. 2010. Biología de la mosca pinta. Línea 13 comunidades rurales y agrarias, ejidos y conocimiento local. Ficha Técnica
- Honig, P. 1960. The presence of phosphorus in cane juice. En: Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists (ISSCT), 10th., Hawaii, May 3-22, 1959. Proceedings. Elsevier, Amsterdam, Países Bajos. p. 356-361.
- Imrice, F. K. y Tilbury, R. H. 1972. Polysaccharide in sugar cane and its products. *Sugar Technol. Rev.* 1:291-361.
- INIFAP, 2012. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), con Información de las Delegaciones de la SAGARPA en los Estados. Avance de Siembras y Cosechas Perennes 2012. <http://www.sagarpa.gob.mx>
- ITIS. Integrated Taxonomic Information System. 2015. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42058. Consultado el 16 de julio de 2015.
- Linares, B. 2002. La utilización de umbrales para el manejo de la candelilla de la caña de azúcar *Aeneolamia varia* (Homoptera:Cercopidae) en Venezuela. *Revista Caña de Azúcar* 20(2):17-46.
- Miller, J.D., P.Y.P. Tai, B. Glaz, J.L. Dean, and M.S. Kang. 1984. Registration of CP 72-2086 sugarcane. *Crop Sci.* 24:210
- Mittler, R.; Berkowitz, G. Hydrogen peroxide, a messenger with too many roles? *Redox Rep.* 2001, 6, 69–72.
- Moore, P.H. 1987. Physiology and control of flowering. In: Copersucar International Sugarcane Breeding Workshop, São Paulo:Copersucar pp 103–128

- Nittler, MP; Hocking-Murray, D; Foo, CK; Sil, A. 2005. Identification of *Histoplasma capsulatum* transcripts induced in response to reactive nitrogen species. *Mol. Biol. Cell.* 16:4792-4813.
- Patishtán-Pérez, J., Mata-Vázquez, H. y Vázquez-García, E. 2014. Capítulo III Fases de crecimiento. *Manejo Integral de Caña de Azúcar.* 42-43 p.
- Peck, D.C. 2003. Distribución y reconocimiento del salivazo de los pastos (Homoptera: Cercopidae) en la Costa Caribe de Colombia. *Pasturas Tropicales* 24(1):4-15.
- Salgado, G.S., Bucio, L.A., Riestra, D., y Lagunés E. 2003. *Caña de Azúcar: Hacia un manejo sustentable.* Colegio de Postgraduados; Villahermosa Tabasco. México 394 p.
- Sánchez, F., M. 1997. *Desarrollo de la producción de caña de azúcar en la república mexicana.* Montecillo Texcoco: Colegio de Postgraduados.
- Sánchez, G. C. 2005. *Estrategia de manejo integrado de plagas de la caña de azúcar para la Huasteca Potosina.*
- Sandoval, F.B. 1951. *La Industria del Azúcar en Nueva España.* Inst. de Historia, UNAM. México. 155 p.
- Skalamera, D; Jibodh, S; Heath, MC. 1997. Callose deposition during the interaction between cowpea (*Vigna unguiculata*) and the monokaryotic stage of the cowpea rust fungus (*Uromyces vignae*). *New Phytologist* 136:511-524
- Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Curr. Op. Plant Biol.* 3: 229-235.
- Soares, N. L. E. 2001. Oxidative stress response in sugarcane. *Genetics and Molecular Biology*, 24 (1-4), 93-102
- Swanson, S.; Gilroy, S. 2009. ROS in plant development. *Physiol Plant.* 138: 384–392.
- Ravaneli, G. C.; Madaleno, L. L.; Presotti, L.E.; Mutton, M. A.; Mutton, M. J. R. 2006. Spittlebug infestation in sugarcane affects ethanolic fermentation. *Scientia Agricola*, v.63, p.543-546.
- Rodríguez, Ch.J., Castro, U., Morales Rodríguez, A., Peck, D.C. 2003. Biología del salivazo *Prosapia simulans* (Homoptera: Cercopidae), nueva plaga de gramíneas cultivadas en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 29 (2):149-155.

- Taiz, L.; Zeiger, E. 2004. Fisiología vegetal. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. 719p.
- TECNICAÑA, (1986). El cultivo de la caña de azúcar. Memorias del curso didáctico en la ciudad de Cali, Colombia.
- Thompson, V. y León González, R. 2005. La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica. Manejo Integrado de Pagas y Agroecología (Costa Rica), 75, 43–51.
- Tsukagoshi, H.; Busch, W.; Benfey, P.N. 2010. Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. Cell. 143: 606–616.
- Vargas Picado, O. 1970. Estudio sobre la baba de culebra *Prosapia distantii* (Homoptera: Cercopidae) y un ensayo sobre su combate en el pasto kikuyu (*P. clandestinum* Hochst.). Tesis Ing. Agr. San José, CR. UCR, 75p.
- Wang, C. C. 1976. The effect of fertilizer application on sucrose content of sugar cane. Taiwan Sugar. 23:167-171
- Wolf, S.; Hofte, H. Growth. 2014. Control: A Saga of Cell Walls, ROS, and Peptide Receptors. Plant Cell. 26: 1848–1856
- Zurbriggen, MD; Carrillo, N; Hajirezaei, MR. 2010. ROS signaling in the hypersensitive response: When, where and what for? Plant. Signal Behav. 26:5(4).

CAPITULO 2.

EXPRESIÓN CELULAR DE PERÓXIDOS Y CALOSA POR LA INSERCIÓN DEL ESTILETE DE MOSCA PINTA EN EL TEJIDO DE CAÑA DE AZÚCAR

2.1 Resumen

Mosca pinta es el principal insecto plaga en caña de azúcar debido al daño mecánico ocasionado por la inserción de su estilete en las hojas. Esta investigación está enfocada en las respuesta de la planta ante la presencia de dicho hemíptero, donde se involucra la producción de calosa que expresa β -glucanos y alta presencia de especies reactivas de oxígeno (ERO) con la reacción de peróxidos. Estas ocasionan muerte celular en la zona dañada y delimitan el daño celular. En este trabajo, se expresa la presencia de calosa y ERO en plántulas de caña de azúcar sometidas a infestaciones de mosca pinta. Los tejidos de las hojas dañadas se trataron con colorantes fluorescentes como el azul de anilina fluorocromo que se adhiere a los (1-3) β -glucanos de la calosa y el CM-H2DCFDA que se une al glutatión intracelular de ERO por la presencia de peróxidos. Dicha expresión fue medida en nanómetros con base en la intensidad de fluorescencia expresada por la presencia de β -glucanos (700 a 7000 nm) y peróxidos expresados entre 1000 a 6400 nm que muestran el daño real ocasionado por el estilete del insecto en la hoja y sus efectos sobre la superficie y en el interior de la misma.

2.2 Palabras clave

Daño mecánico, longitud de onda, hemípteros, muerte celular, ERO, *Aeneolamia albofasciata*

2. 3 Abstract

Spittlebug is the main insect pests in sugarcane due to mechanical damage caused by the stylet bug into the leaves. This research focuses on the response of the plant in the presence of hemiptera bug, where is involved in the production of callose expressing β -glucans and high presence of reactive oxygen species (ROS) with the reaction of peroxides. They cause cell death in the damaged area

and delimit the cellular damage. This work expresses the presence of callose and ROS in sugarcane seedlings with adults from spittlebugs infestations. Damaged leaves tissues were treated with dyes fluorescent as blue aniline fluorochrome that adheres to the (1-3) β -glucans of the callose and the CM-H2DCFDA that binds to the intracellular glutathione of ROS by the presence of peroxides. This expression was measured in nanometers based on fluorescence intensity expressed by the presence of β -glucans (700 to 7000 nm) and peroxides expressed between 1000 to 6400 nm, showing the real damage caused by stylet bug on the leaf and their effects on the surface and inside of the same tissue.

2.4 Keywords

Mechanical damage, wavelength, cellular death, ROS, *Aeneolamia albofasciata*

2.5 Introducción

La mosca pinta (*Aeneolamia albofasciata*) (Lallemand, 1939) (Hemiptera: Cercopidae) presente en México llega a causar pérdidas hasta de 9 ton/ha en el menor de los casos incluso duplicar dicha pérdida en rendimiento y en acumulación de sacarosa (De la Cruz-Llanas *et al.* 2005; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015). Por lo tanto, existe el interés desde el punto de vista agrícola y económico por las pérdidas que puede llegar a ocasionar (De la Cruz-Llanas *et al.* 2005; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

El daño de la mosca pinta puede dividirse en dos tipos: El daño provocado por la ninfa o salivazo al alimentarse de las raíces superficiales de la cepa y raíces adventicias de los tallos de la planta; y el otro tipo de daño, el provocado por el adulto al alimentarse de retoños o pelillos y hojas a nivel medio y superior del tallo. El insecto en estado de ninfa y adulto, se caracterizan por tener un estilete que insertan en la lámina foliar para alimentarse mediante la succión de la savia a nivel del floema y obtener los nutrientes de la planta; esto permite el desarrollo del insecto aunque al mismo tiempo provoca daño celular con la fractura inter e intracelular (daño mecánico) que induce estrés biótico (Ammar *et al.* 2013).

Lo anterior, provoca que las plantas sometidas a cualquier tipo de estrés presenten la capacidad mínima para poder sostener el crecimiento, y específicamente, en el cultivo de la caña de azúcar no se obtiene la producción

o acumulación de sacarosa esperada. Las manchas de color amarillo blanquecino que aparecen en las hojas son un síntoma inicial del daño por adultos de mosca pinta y conforme avanza se puede observar como una mancha o línea longitudinal a todo lo largo de la lámina foliar con una coloración rojiza a ocre. De acuerdo a la incidencia de la plaga los daños son más frecuentes que se expresan en manchas que logran unirse entre sí o en líneas longitudinales paralelas a todo lo largo de la lámina foliar, lo que ocasiona una seria reducción en el área disponible para la fotosíntesis y que redundará en la productividad de la caña de azúcar y pastizales (Thompson y León, 2005). En este sentido, las áreas dañadas de la hoja se secan gradualmente. Si la infestación es grave por presencia de adultos de mosca pinta con niveles mayores de 20 adultos capturados en promedio por trampa verde en 24 horas, las lesiones empiezan a fusionarse entre sí y grandes porciones de la hoja mueren (Ortega, 1987; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015).

Además del daño mecánico ocasionado por el insecto, se abre un espacio celular donde podrían entrar con mayor facilidad esporas circundantes en el aire o hifas de hongos que encuentran en dicho espacio condiciones propicias para su desarrollo. Como consecuencia del daño mecánico y posible establecimiento de microorganismos en el tejido expuesto, la planta reacciona y activa sistemas de defensa, que involucran un incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS) y la consecuente producción de calosa en el tejido de la hoja afectado. También en las células vegetales, los niveles de ERO afectan diversos procesos incluyendo el desarrollo, la respuesta hipersensible al ataque de patógenos y la respuesta al estrés (Mittler et al 2001; Tsukagoshii *et al.* 2010). Los cambios en los niveles de ERO se reconocen como firmas específicas de las plantas en respuesta a estrés biótico y abiótico (Wolf *et al.* 2014; Swanson y Gilroy 2009). Esta respuesta de la planta fortifica su pared celular y protege contra el daño mecánico del insecto. Esto se puede generar a través de la oxidación reversible de proteínas con residuos de cisteína adyacentes, que pueden incluir quinasas y fosfatasa que son componentes frecuentes en la transducción de señales de células eucarióticas. Donde la principal función consiste en transducir los estímulos extracelulares reconocidos por los receptores de la célula a un gran número de moléculas blanco (Ichimura *et al.* 2002). Esto puede servir como un interruptor que regula la función de proteínas

y vías de señalización redox en respuesta a estrés por daño o invasión de microorganismos (Corcoran y Cotter 2013). Las reacciones más rápidas de defensa de las plantas al ataque de patógenos es la llamada explosión oxidativa, que induce la producción de ERO, principalmente superóxido y peróxido de hidrógeno (H_2O_2); en el sitio de invasión (Apostol *et al.* 1989). Por lo anterior, cuando los hemípteros producen una herida mecánica por la inserción de su estilete durante su alimentación, inducen un aumento en los niveles de peróxido de hidrógeno dentro de la planta, que está asociada con la ráfaga de oxígeno provocada por patógenos al momento de penetrar por dicha fractura celular (Bi y Felton 1995; Bradley *et al.* 1992).

Por otra parte, la calosa se expresa en respuesta al daño mecánico o por invasión de patógenos en la hoja de las plantas. Se observan frecuentes depósitos de calosa en las placas cribosas del floema, alrededor de los meiocitos en desarrollo y en las tétradas de las angiospermas con reproducción sexual. La calosa es un polisacárido de origen vegetal y un elemento sumamente importante para reparar sitios con heridas mecánicas en las plantas. Está compuesto por residuos de glucosa unidos entre sí por uniones β -1,3, y se lo denomina beta-glucano. La calosa se produce en la pared celular a partir de enzimas llamadas calosa sintasa y que esta puede ser degradada por la acción de β -1,3-glucanasas (Arcos y Narro 2009).

Sin embargo, muchas veces la respuesta de la planta no es suficiente y el daño mecánico continua debido a la succión constante de la savia mediante el estilete que se puede extender durante periodos largos, de parte del adulto de mosca pinta, esto puede ocasionar la desnutrición de la hoja de la planta y la invasión de hongos oportunistas al colonizar la zona afectada del cultivo (Gutiérrez, 2001). Estos procesos se han estudiado en diversos modelos, algunos en cítricos donde estudian el daño causado por el estilete de las ninfas de *Diaphorina citri*; el sitio de alimentación, la longitud del cuerpo en comparación con la longitud del estilete del insecto a través de microscopía electrónica de barrido (Ammar *et al.* 2013), en el caso de las gramíneas existen estudios en maíz donde se observó la acumulación de calosa por presencia de aluminio debido a la exposición que tienen las raíces a dicho elemento que les induce la expresión de un daño (Arcos y Narro 2009). Sin embargo, en el caso de la caña de azúcar se desconoce la

respuesta de las células cuando la mosca pinta introduce el estilete en la hoja de la planta y que se desencadena por el daño del tejido de la hoja.

En el presente trabajo evaluamos a nivel tisular y celular la respuesta en el sitio de infección durante el ataque del patógeno, el desencadenamiento de ERO y calosa a partir del daño ocasionado por adultos de mosca pinta sobre la lámina foliar de la hoja de caña de azúcar. Para ello, se emplearon técnicas de microscopía de luz transmitida, fluorescencia y confocal que permitieron visualizar las zonas afectadas y la reacción de ERO y calosa expresadas en sondas fluorescentes.

2.6 Materiales y Métodos

Se colectaron insectos adultos de la mosca pinta de parcelas de caña de azúcar de la zona de abasto del Ingenio Fideicomiso El Potrero, Veracruz y se llevaron al laboratorio de Biotecnología Microbiana Aplicada del Colegio de Postgraduados campus Córdoba. Los adultos se colocaron en plántulas de caña de azúcar variedad CP 72-2086 producidas *in vitro* (VitroMotz) con un promedio de edad de 4 meses y libres de síntomas de patógenos.

2.6.1 Selección de muestras

Para el procesamiento de las muestras, fueron trasladadas las plantas de caña con adultos de mosca pinta dentro de cajas de plástico con ventanas de malla antifidos al laboratorio de Biología Molecular de Plantas del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en Cuernavaca Morelos. Para la selección de las hojas para cortes histológicos se procedió a la observación visual de las zonas afectadas por el estilete de mosca pinta y con la ayuda de un microscopio de disección (Marca Nikon®), se cortó la zona con el tejido dañado procurando delimitar la zona dañada. Estas zonas presentaron la sintomatología característica por afectación de adultos de mosca pinta.

2.6.2 Cortes histológicos

Para conocer el daño físico causado por el estilete de la mosca pinta en la hoja de caña se siguió la metodología descrita por Vázquez y Echeverría (2000). Ésta

describe las etapas de preparación del material biológico vegetal para el estudio de microscopía óptica; fijación, deshidratación, inclusión, corte y contraste.

2.6.3 Microscopía de fluorescencia de tejidos de hoja de caña de azúcar

Después de obtener las muestras de las plántulas dañadas, estas fueron tratadas con sondas fluorescentes. Se utilizó azul de anilina fluorocromo biosupplies® para observar calosa y CM-H2DCFDA Molecular Probes® para evidenciar la producción de ERO.

Para la tinción de calosa, se utilizó el colorante Azul de Anilina Fluorocromo que reacciona con el (1-3) β Glucanos. Se preparó la solución del colorante en agua destilada (1 mg en 10 ml) (p/v). Se tomó 1 ml de la solución para realizar las tinciones al tejido y el resto se refrigeró a 4 °C. Se incubaron las secciones de tejido a analizar (tejido fresco) con la solución de anilina fluorocromo (50 μ L /sección) durante 45 min a 20 °C. Se lavaron las muestras con agua destilada y se examinaron por microscopía de fluorescencia con un microscopio invertido TE300 (Nikon®, Japón) acoplado a una fuente de iluminación de xenón (DG-4, Sutter Instruments®, Novato, CA, EE.UU.). Un obturador Uniblitz® (Vincent Associates, Rochester, Nueva York, EE.UU.).

Para la tinción de ERO, se utilizó el colorante CM-H2DCFDA que se difunde pasivamente en las células.

Para la preparación del colorante se tomaron 25 μ l de colorante CM-H2DCFDA más 25 μ l de DMSO (Dimethyl Sulfoxide, anhydrous, 99.9%) y se le agregaron 80 μ l de medio Fahraeus (Fahraeus, 1957), se homogenizó la solución del colorante. En una caja Petri se colocaron 25 μ l de colorante preparado a cada muestra de tejido vegetal y se dejaron expuestas durante 30 min, se lavaron con agua destilada y se colocaron en cajas Petri modificadas, para observarse por microscopia de epifluorescencia (microscopio invertido TE300 (Nikon®, Japón) acoplado a una fuente de iluminación de xenón (DG-4, Sutter Instruments®, Novato, CA, EE.UU.). Un obturador Uniblitz® (Vincent Associates, Rochester, Nueva York, EE.UU.) y microscopia confocal (Metálaser Zeiss LSM 510).

2.6.4 Adquisición de Imágenes y su procesamiento

Ambos fluoróforos fueron visualizados por medio de microscopía de fluorescencia y se obtuvieron imágenes con una cámara CCD (Sensys®, Roper Científico, Tucson, AZ, EE.UU.) conectada a un microscopio invertido TE300 (Nikon®, Japón) acoplado a una fuente de iluminación de xenón (DG-4, Sutter Instruments®, Novato, CA, EE.UU.). Un obturador Uniblitz® (Vincent Associates, Rochester, Nueva York, EE.UU.), que permite la adquisición de la luz transmitida para cada imagen. Se utilizó el filtro con longitud de onda de excitación de 390 nm que emite a 480 nm para ambos colorantes, por lo que los espectros de emisión se tomaron usando un filtro de emisión a 440/10 nm. Todos estos sistemas fueron operados por el software MetaMorph® / MetaFluor® (Universal Imaging-Molecular Devices, Downingtown, PA, EE.UU.).

2.7 Resultados

2.7.1 Cortes histológicos

Se examinaron tejidos de hoja de caña de la variedad CP-72-2086 con daño de adultos de mosca pinta, como se observó a través de cortes histológicos transversales el daño físico causado por la inserción del estilete del hemíptero (Figura 2). Se observó como el estilete casi logra atravesar la hoja llegando a la zona vascular a través de un estoma dañando el xilema y floema. Esto causa el aplastamiento de las células entre ellas la epidermis, células buliformes y vaina perenquimática que rodean la zona dañada

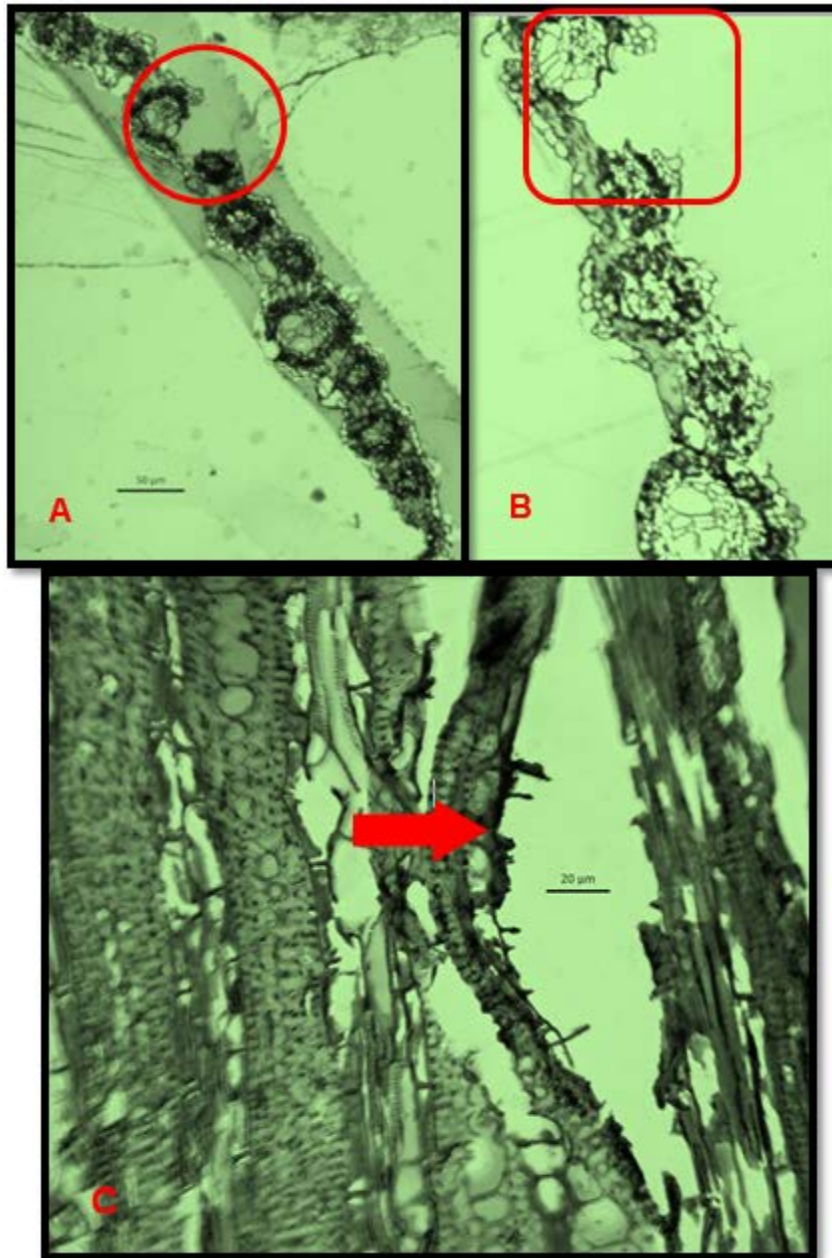


Figura 2. A. Corte transversal de tejido de hoja de caña expuesto por un día a los adultos de mosca pinta. A. Se observa en el círculo marcado, la abertura de la herida causada por el estilete de la mosca pinta. Fotografía tomada con objetivo 10X. B. Se observa en el círculo marcado, la abertura de la herida causada por el estilete de la mosca pinta. Fotografía tomada con objetivo 20X. C. Corte frontal del tejido de hoja de caña expuesto por un día a los adultos de mosca pinta. Fotografía tomada con objetivo 20X.

Después de 3 días de exposición a los adultos de mosca pinta se tomaron nuevas muestras de tejido y se realizaron los mismos tratamientos para la observación microscópica de luz transmitida, teniendo como resultado fotografías que muestran el daño que se va extendiendo al interior de las células del tejido de la hoja (Figura 3).

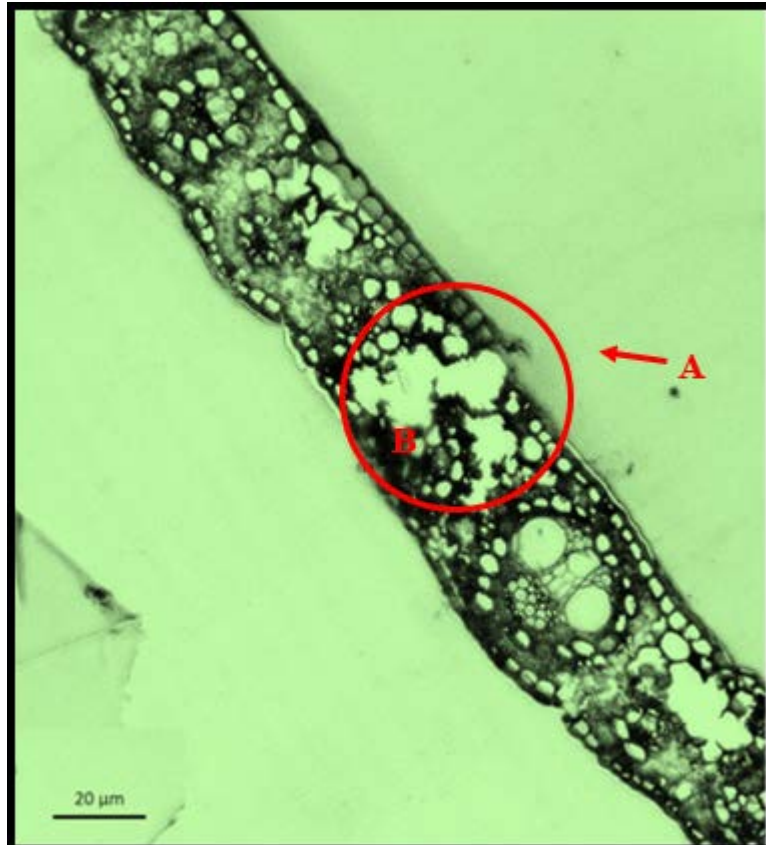


Figura 3. Corte transversal de tejido de hoja de caña expuesto por tres días a los adultos de mosca pinta. A. Daño en el tejido causado por la inserción del estilete de mosca pinta. B. Daño de las células en el interior del tejido. Fotografía tomada con objetivo 20X.

2.7.2 Tratamientos Fluorescentes

2.7.2.1 Tinción de estructuras miceliares

Debido al daño observado en las muestras histológicas de tres días de exposición. Se tomó una muestra fresca donde podemos observar claramente las estructuras celulares; células largas, silíceas, suberosas y las estomas

respectivas (Figura 4 **A**)Figura 4. **Tejido de hoja de caña con estructuras miceliales intracelulares a los tres días de exposición con adultos de mosca pinta. A. Células sanas (flechas) del tejido. B. Micelio e hifas que invadieron el tejido de la hoja de caña (flechas) (Fotografía tomada con objetivo 60X).** Para confirmar a través de fluorescencia que en el tejido fresco existe el crecimiento del hongo oportunista, se tomó una muestra de tejido con sintomatología de presencia de daño de mosca pinta y de algún patógeno oportunista con lo que se puede observar en la Figura 4 **B** la presencia de hifas que invadieron el tejido de la hoja de caña de azúcar. Las imágenes se obtuvieron siguiendo la metodología para ERO.

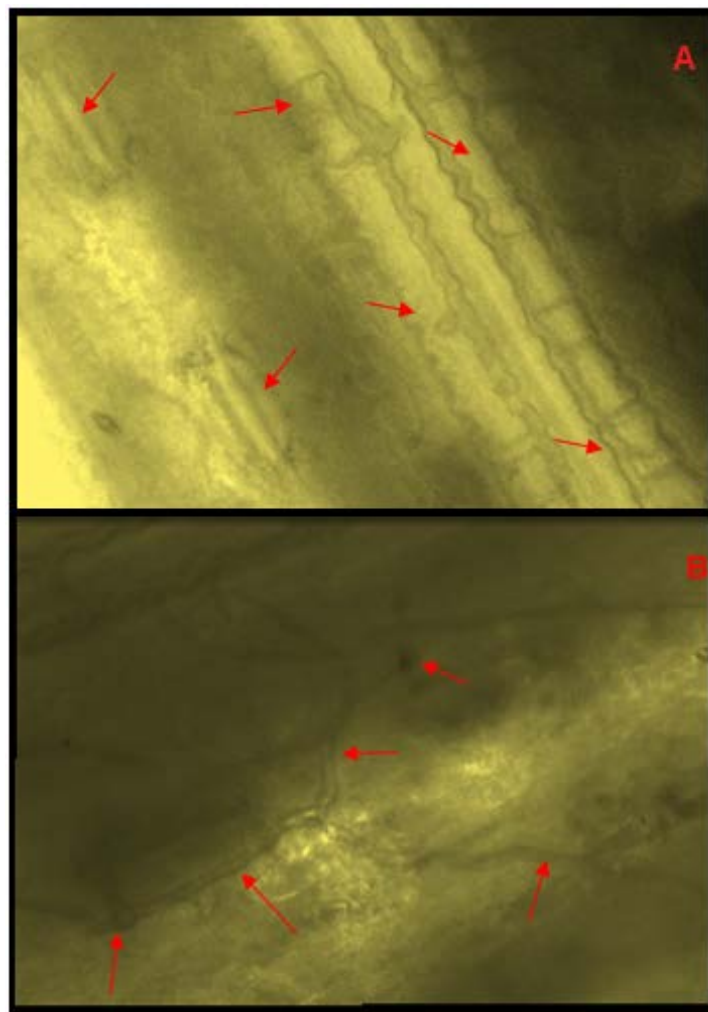


Figura 4. Tejido de hoja de caña con estructuras miceliales intracelulares a los tres días de exposición con adultos de mosca pinta. **A.** Células sanas (flechas) del tejido. **B.** Micelio e hifas que invadieron el tejido de la hoja de caña (flechas) (Fotografía tomada con objetivo 60X).

2.7.2.2 Tinción para calosa

Se obtuvieron fotografías a través del microscopio de epifluorescencia que nos permitieron visualizar la presencia de calosa en los tejidos dañados por inserción de estilete de los adultos de mosca pinta. En la Figura 5 se muestra la colocación de las imágenes de fluorescencia combinadas con la de luz transmitida. La imagen de fluorescencia revela la presencia de calosa con la ayuda del fluorocromo de azul de anilina. Los valores de fluorescencia (VF) varían con relación a la presencia de calosa, esto debido a que el colorante fluorescente evidencia la expresión de β -glucanos. En la zona de daño mecánico se puede observar claramente que existe una mayor presencia de calosa y conforme se va alejando de la zona del daño existe menor presencia de calosa. Esto ocurre debido a que conforme nos alejamos del sitio de daño, las células se encuentran menos dañadas hasta llegar a las células sanas. Estos datos nos permitieron demostrar que existe una alta acumulación de calosa en los sitios entorno al daño ocasionado por la mosca pinta (Figura 5 y Figura 7).

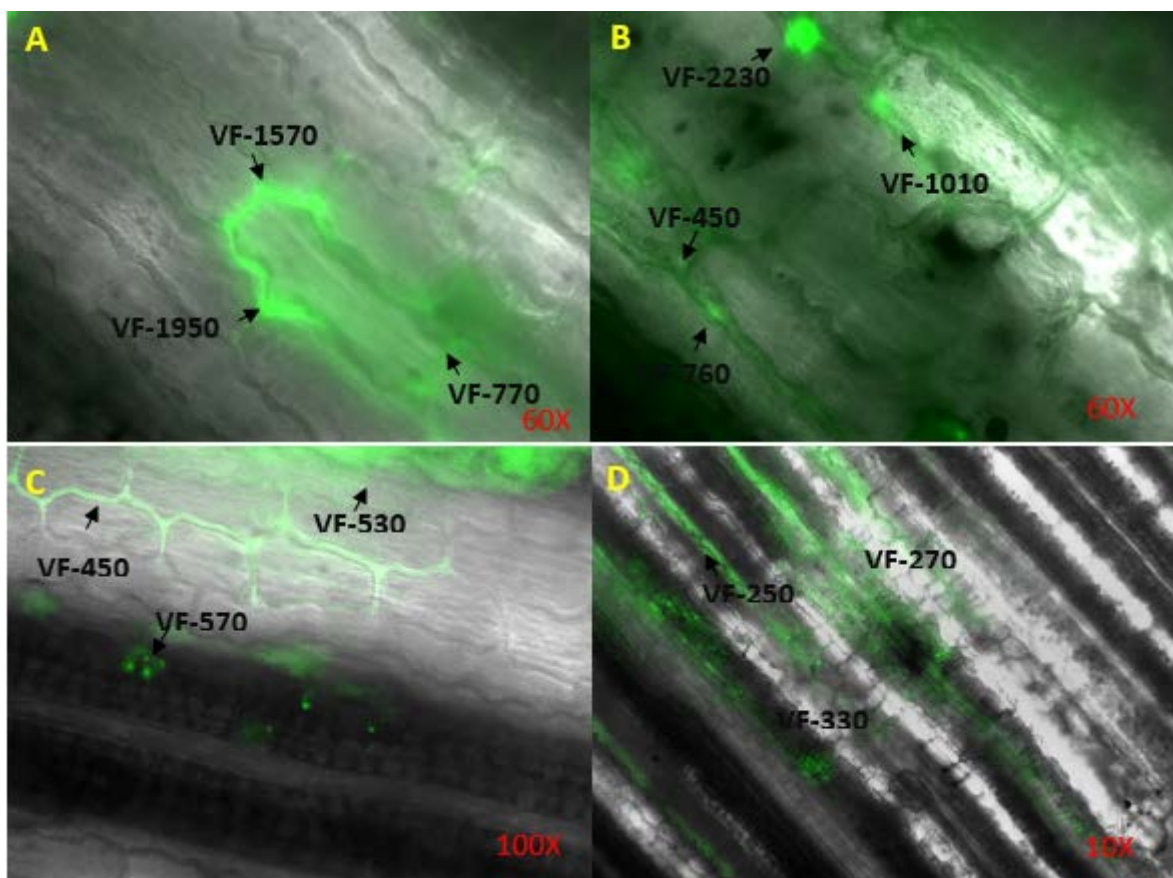


Figura 5. Tejido de hoja de caña de azúcar dañada por inserción de estilete mosca pinta y *sin daño*. A. Células largas *con* presencia de calosa producida *por* daño mecánico. Los valores de fluorescencia alrededor de esta célula indican la presencia de calosa (60X). B. *Expresión* de calosa en un solo punto con fluorescencia (2230 nm) *por* daño. C y D. Tejido de hoja de caña sin presencia de calosa, el color verde es la autofluorescencia *propia* de las plantas por presencia de *clorofila* (685 nm).

2.7.2.3 Tinción para ROS

Para la determinación de las ERO (ROS), las células fueron tratadas con la sonda fluorescente sensibles a ERO y se visualizó por medio de microscopía confocal. Los datos obtenidos nos permiten demostrar que existe una alta presencia de ERO en el tejido que está siendo dañado por inserción del estilete del adulto de mosca pinta. En la Figura 6 se muestran las imágenes con combinación de los canales de DHCF-DA-GFP (verde), cloroplastos (rojo) y luz transmitida con fluorescencia. El colorante específico para ERO solo se expresa en presencia de peróxidos presentes en la zona con daño mecánico causado por el insecto, por lo que en las imágenes se observa la zona de invasión del insecto en el tejido y como las células que rodean al daño comienzan a ser invadidas con la formación de estos radicales libres, que muy probablemente están involucrados en la muerte celular de las células del sitio de daño.

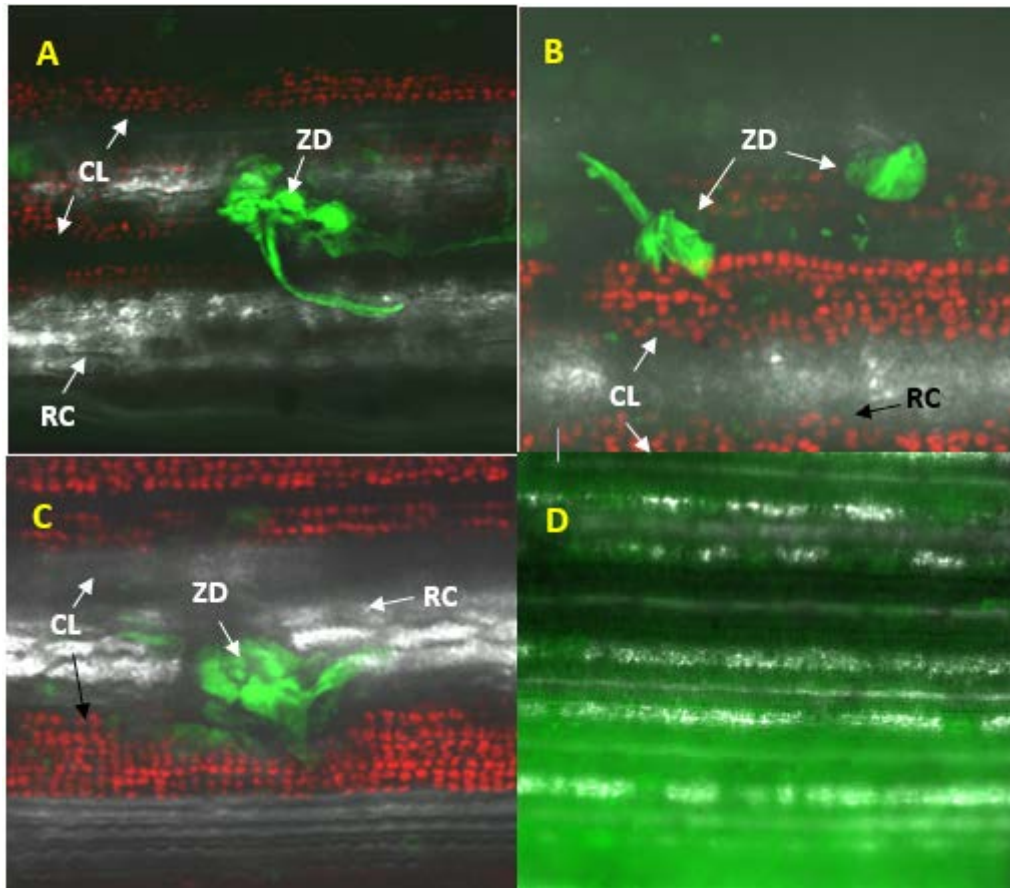


Figura 6. Tejido de hoja de caña de azúcar dañada por inserción de estilete *de mosca pinta con expresión de ERO*. A. Sitio de daño en hoja de caña de azúcar en una proyección en Z de la suma de 16 cortes (objetivo 40X). B. Proyección en Z de la suma de 20 cortes de una hoja de caña con estrés biótico (objetivo 40X). C. Proyección en Z de la suma de 16 cortes de una hoja de caña con estrés biótico (objetivo 60X). D. Epifluorescencia de una hoja de caña en un sitio *sin* lesión (objetivo 10X). CL *cloroplastos con autofluorescencia*; ZD *zona de daño del insecto por fluorescencia*; RC *región costal de la estructura de la hoja sin autofluorescencia*.

2.7.2.4 Valores de fluorescencia de ERO y Calosa

En las diferentes muestras que fueron analizadas se notaron valores de fluorescencia con niveles de producción de ERO y calosa, debido al daño gradual que puede ocasionar el tiempo de inserción del estilete y la incidencia del insecto en la hoja de caña de azúcar (Figura 7 y Figura 8). La intensidad del color verde

en las imágenes de la Figura 7 indica la fluorescencia, se observan puntos verdes que dependiendo la zona donde se realizó el daño mecánico los valores serán mayores. En el caso de los valores menores a 685 nm son considerados autofluorescencia propia de las plantas por presencia de clorofila. Por lo que podemos decir que ambos sistemas de expresión denotan la evidencia del daño mecánico ya que presentan altos niveles de producción de ERO y calosa.

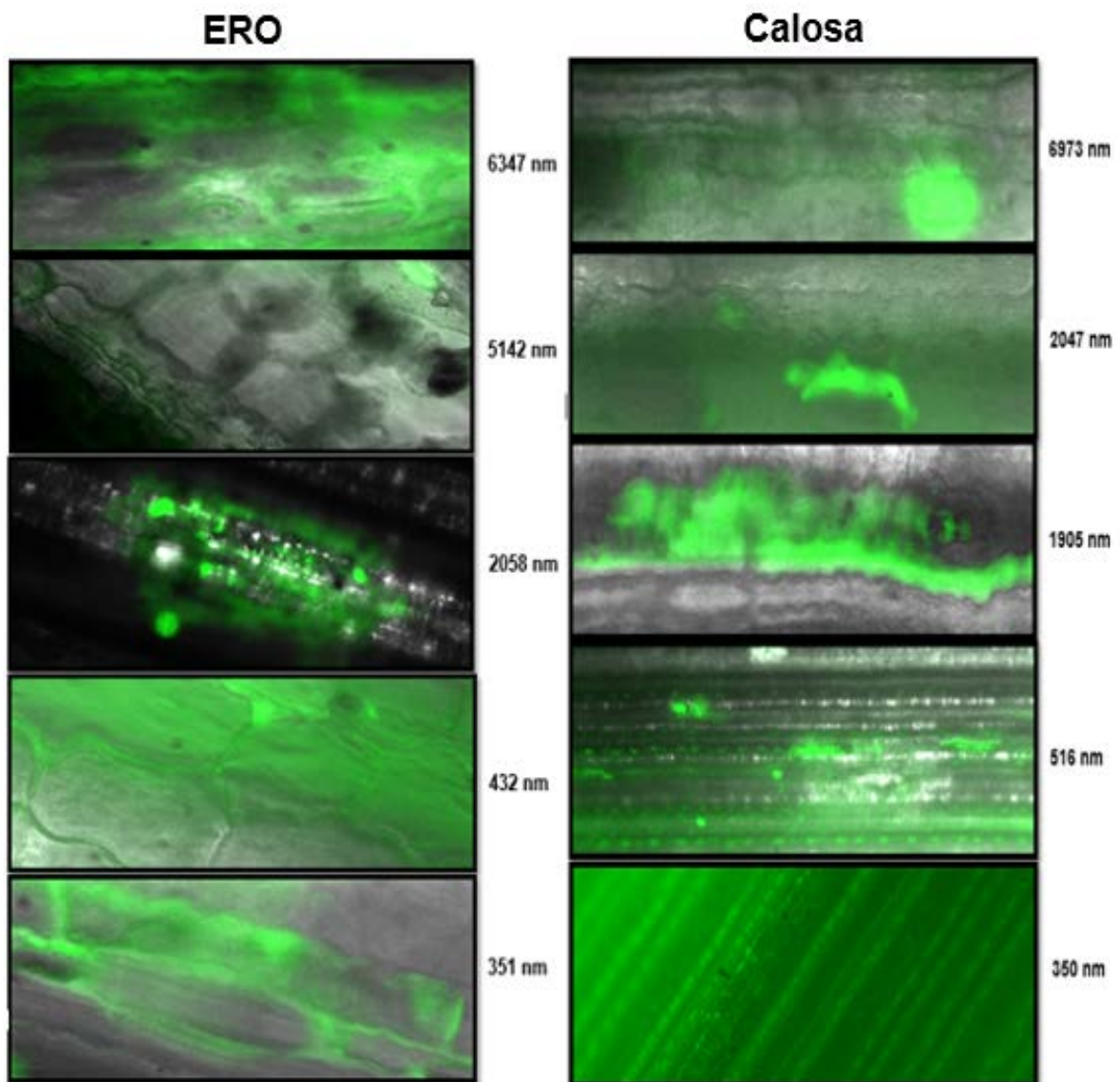


Figura 7. Diferentes valores de fluorescencia para ERO y calosa en tejido de hoja de caña de azúcar.

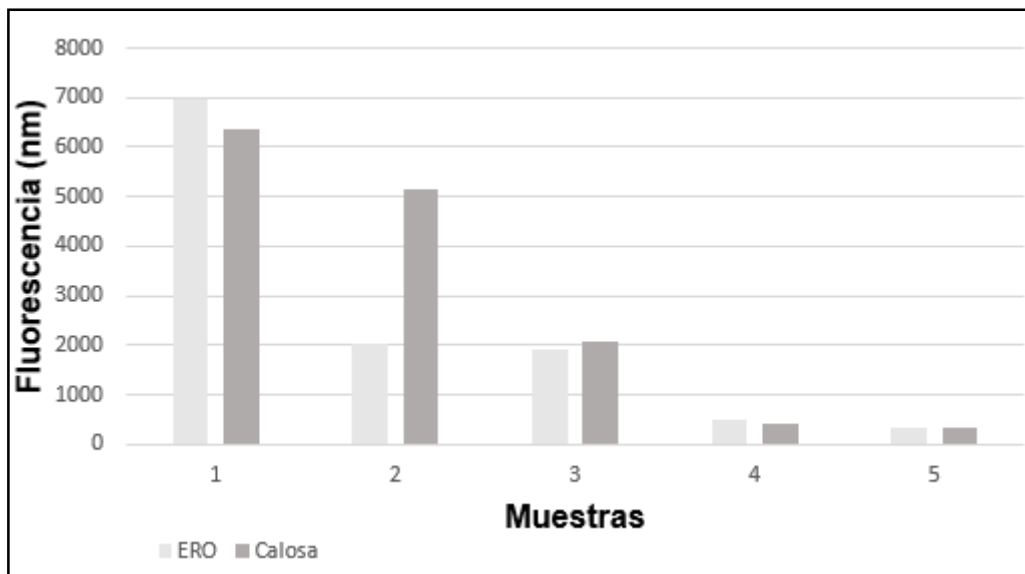


Figura 8. Comparación entre los valores de fluorescencia (nm) de ERO y calosa en tejido de hoja de caña de azúcar (muestras de la Figura 7).

2.8 Discusión

La evidencia sugiere que el estrés oxidativo es un factor perjudicial clave en plantas expuestas a una variedad de condiciones de estrés y que estas deben resistir el estrés oxidativo mediante la inducción de enzimas antioxidantes (Cuypers *et al.* 2002; Verma y Dubey 2003). En este trabajo abordamos el efecto del daño ocasionado por el estilete del adulto de mosca pinta durante el ataque de las células de la hoja de la caña de azúcar. En particular, el presente trabajo estudió el daño mecánico, la acumulación de calosa y la formación de ERO para poder entender de una mejor manera la relación fisiológica entre la presencia de adulto de mosca pinta y su daño por la inserción del estilete sobre la lámina foliar. Esta inserción del estilete fractura las células del tejido de la hoja por la zona vascular hasta atravesar el xilema y floema, en consecuencia el estrés oxidativo se estimula y el sistema de defensa antioxidante se expresa (Kombrink y Schmelzer, 2001).

2.8.1 Cortes histológicos

De acuerdo a Hagley y Blackman (1996) observaron que *Aeneolamia varia saccharina* introduce su estilete utilizando los estomas de hojas de caña de azúcar, atraviesa los tejidos hasta alcanzar las células en el borde de la hoja del parénquima (envés). De la misma manera García *et al.* (2007) demostró que los insectos adultos de *Mahanarva fimbriolata* introducen sus estiletos preferentemente en los estomas de la lámina de la hoja, estos pasan a través de los cloroplastos y del soporte de las células del parénquima hasta el metaxilema de los haces vasculares. Al igual que los trabajos mencionados anteriormente, el presente trabajo muestra que los adultos de mosca pinta (*A. albofasciata*), introducen su estilete buscando los estomas al posarse en la superficie de la lámina foliar, provocando así; la ruptura celular a nivel de la cámara subestomatica celular del parénquima y las vainas del haz, incluso hasta los límites de la epidermis inferior (envés) (Figura 2). Con lo anterior, se observó un daño mecánico considerable, con laceración y ruptura celular, provocando la muerte celular de la lámina foliar de la hoja de caña.

2.8.2 Tratamientos Fluorescentes

2.8.2.1 Tinción para observar las hifas

Ramesh Sundar *et al.* (2009) describió una pudrición roja causada por el hongo *Colletotrichum falcatum* que se transmite al tallo y hojas de la caña de un lugar a otro a través de las plantas con el inóculo de *C. falcatum*. En cambio, en nuestro estudio la planta no estuvo expuesta a otras plantas infestadas con el inóculo de algún patógeno debido a que fueron obtenidas de cultivo de tejidos libres de contaminantes, aunque los insectos adultos de mosca pinta fueron colectados de parcelas de campo de la zona de abasto del ingenio El Potrero, por lo que quizá el insecto adulto pudo ser el transmisor de inóculo que introdujo la espora o esporas en la hoja dañada (Atlahua-Lezama *et al.* 2014; Luna *et al.* 2012) y en consecuencia, al realizar las tinciones para ERO, se evidenciaron las hifas de un hongo oportunista presente en el tejido de la hoja de caña al observar la imagen capturada con luz visible y en fluorescencia.

2.8.2.2 Tinción para calosa

Calosa es un amorfo de alto peso molecular β -1,3-glucano que se deposita en forma de papilas por el desarrollo de hongos y otros patógenos en el tejido de las hojas (Aist, 1976). Actúa como una barrera física contra la colonización fúngica del espacio intercelular. Dos grupos de investigación han encontrado de forma independiente que las mutaciones en el gen de la calosa sintasa de *Arabidopsis thaliana*, paradójicamente confieren resistencia frente a hongos (Jacobs *et al.* 2003; Nishimura *et al.* 2003). También, Nishimura *et al.* (2003) mencionan que la deposición rápida de calosa durante las primeras etapas del daño, pueden inhibir la respuesta de defensa que la planta pueda tener y que potencialmente puede ser perjudicial para la misma. Si un patógeno ha desarrollado mecanismos para superar la barrera de defensa contra la calosa, las condiciones se vuelven favorables para su posterior colonización. Por otra parte Jacobs *et al.* (2003) confirmaron que la deposición de tapones de calosa en los sitios de penetración fúngica es una respuesta temprana ampliamente reconocida por las plantas huésped ante el ataque microbiano, por lo tanto los tapones de calosa están implicados en impedir la entrada del hongo o el confinamiento del desarrollo del mismo. En cambio, no solo pudimos observar el confinamiento de zonas de micelio sino que mediante fluorescencia se pudo evidenciar la expresión del daño mecánico y la magnitud del mismo con la expresión de β -glucanos en rango de 700 a casi los 7000 nm.

2.8.2.3 Tinción para ERO

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son conocidas por sus propiedades perjudiciales durante los procesos oxidativos tales como la isquemia, el envejecimiento, el cáncer y la muerte celular. En las plantas también juegan un papel preponderante en la respuesta a todo tipo de patógenos. Sin embargo, un número creciente de informes describen el posible papel de las especies reactivas de oxígeno (especialmente de peróxido de hidrógeno) como un mensajero celular en las vías de transducción de señales, en particular en la señalización de la respuesta de las plantas a los patógenos (Bolwell, 1999; Bowler y Fluhr, 2000; Grant y Loake, 2000). Un gran número de rutas bioquímicas están involucradas en la respuesta de la planta al ataque de

patógenos, pero la respuesta de la planta comienza con el reconocimiento del elicitor o señal del patógeno en el momento del contacto de las estructuras hifales sobre el tejido y en particular, en el contacto por el daño inter e intracelular. Este reconocimiento se da por la presencia de un receptor para el elicitor en la célula vegetal. La activación de éste receptor activa diversos procesos locales tales como la liberación de especies reactivas de oxígeno (el estallido oxidativo) al medio extra-celular. Esto a menudo resulta en respuesta a la hipersensibilidad (HR), un tipo de muerte celular programada localizada en el sitio en donde el patógeno inició el desarrollo para invadir a la planta (Bowler y Fuhr, 2000). Una respuesta tardía se produce por un mecanismo de señalización de largo alcance que más tarde provoca resistencia sistémica adquirida (SAR por sus siglas en inglés) en la que se localiza la exposición al patógeno y da lugar a la resistencia de toda la planta a los patógenos no relacionados, este tipo de resistencia puede durar varios meses (Bowler y Fuhr, 2000). Aunque se ha observado en las hojas de caña de azúcar, que la incidencia de adultos de mosca pinta por arriba de 20 adultos en promedio por trampa en 24 horas, ocasiona un daño que se expresa en manchas o líneas a todo lo largo de la lámina foliar de color rojizo a color ocre. Posterior a este daño las células se tornan secas por la muerte celular y que en la lejanía se observa el cultivo café o rojizo. Se torna “quemado” y en consecuencia esto puede ocasionar la inhibición o incluso el bloqueo de la síntesis de sacarosa. Por lo anterior, no ha sido posible medir el daño real con métodos cuantitativos sino cualitativos más que las referencias de severidad de daño establecidas por Campbell y Madden (1990). En cambio, la fluorescencia es una referencia numérica en nanómetros donde se puede asociar la severidad de daño mediante la expresión de peróxidos y cúmulos de calosa, por la inserción del estilete y tiempo de absorción de la savia; además la incidencia de los adultos sobre la lámina foliar repercute en gran medida a dicho daño.

2.9 Conclusión

Los métodos de tinciones fluorescentes establecidos para el reconocimiento de ERO y calosa en los tejidos de las hojas de caña de azúcar, permiten evidenciar el efecto por daño celular por mosca pinta para su exploración y con esto, se

pudo identificar las estructuras celulares dañadas mecánicamente y por presencia de patógenos oportunistas. Además, se pudo obtener un dato numérico que fluctuó para los tejidos observados en un rango de 1000 a 6400 nm y de 700 a 7000nm; y no cualitativo del daño celular, mediante la expresión de peróxidos y β -glucanos, respectivamente; que delimitan el daño real al interior del tejido y no de manera superficial del tejido de la lámina foliar.

2.10 Agradecimientos

Dra. Guadalupe Zavala Padilla del área de Microscopia Electrónica del IBT de la UNAM por el apoyo en los cortes histológicos y la toma de imágenes. Al ingenio Fideicomiso El Potrero por las facilidades para la colecta de los insectos en su zona de abasto.

2.11 Referencias

- Aist, J.R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. *Annual Review Phytopathology* 14: 145-63.
- Alatorre-Rosas, R y Hernández-Rosas, F. 2015. Mosca pinta, *Aeneolamia spp* y *Prosapia spp* (Hemiptera: Cercopidae). In: Arredondo-Bernal, H. C. y Rodríguez del Bosque, L.A. *Casos de Control Biológico en México*. Vol. 2. Editorial BBA. Pp. 416.
- Ammar E-D, Hall DG, Shatters RG Jr (2013) Stylet Morphometrics and Citrus Leaf Vein Structure in Relation to Feeding Behavior of the Asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri*, Vector of Citrus Huanglongbing Bacterium. *PLoS ONE* 8(3): e59914.
- Apostol I, Heinsteinst PF, Low PS. 1989. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells. Role in defense and signal transduction. *Plant Physiology*. 90:106–16.
- Arcos, A. L.; Narro, L. A. 2009. Calosa como herramienta de selección para tolerancia de maíz al aluminio. *Manual de Laboratorio*. CIMMYT, 1-5 México, D.F.
- Atlahua-Lezama, I., Yáñez- Morales, M. de J., Hernández-Rosas, F. y Alatorre-Rosas, R. 2014. Primer reporte formal de *Colletotrichum falcatum*

asociado a la mosca pinta en caña en Veracruz. XVI Congreso Nacional / XLI Congreso Nacional de Fitopatología. 20 al 24 de Julio. Ixtapa de la Sal, Edo. de México.

- Bi JL, Felton GW. 1995. Foliar oxidative stress and insect herbivory: primary compounds, secondary metabolites and reactive oxygen species as components of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology*. 1511–30.
- Bolwell, G.P. 1999. Role of active oxygen species and NO in plant defense responses. *Current Opinion in Plant Biology*. 2: 287-294.
- Bowler, C. and Fluhr, R. 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. *Trends in Plant Science*. 5: 241-246.
- Bradley DJ, Kjellbom P, Lamb CJ. 1992. Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cellwall protein: A novel, rapid defense response. *Cell*. 70:21–30.
- Campbell, C. L. and Madden, L. V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wile & Sons Inc. p. 552.
- Corcoran, A.; Cotter, T., H. 2013. Redox regulation of protein kinases. *The Febs journal*. 280: 1944–1965.
- Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H. 2002. Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*, copper and zinc phytotoxicity: a comparison. *Journal Plant Physiology*. 159:869–876
- De La Cruz-Llanas, J. J.; Vera-Graciano, J.; López-Collado, J.; Pinto, V. M.; Garza-García, R. 2005. Una técnica simple para el desarrollo de ninfas de *Aeneolamia postica* (Homoptera: Cercopidae). *Folia entomológica mexicana*. 44 (1): 91-93.
- Fahraeus, G. 1957. The Infection of Clover Root Hairs by Nodule Bacteria Studied by a Simple Glass Slide Technique. *Journal of General Microbiology*. 16: 374-381
- García, J. F.; Grisoto, E.; Machado, B. P. S.; Postali, P. J. R.; Appezzato-da-Glória, B. 2007. Feeding site of the spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) on sugarcane. *Scientia Agricola*. 64 (5): 555-557.

- Grant, J. J. and Loake, G. J. 2000. Role of Reactive Oxygen Intermediates and Cognate Redox Signaling in Disease Resistance. *Plant Physiology*. 124: 21-30.
- Gutiérrez, G. C. 2001. Señales entre hongos patógenos y plantas hospederas resistentes. *Revista Chapingo*. 7 (1): 15-19.
- Hagley, E.A.C.; Blackman, J.A. 1966. Site of feeding of the sugarcane froghopper, *Aeneolamia varia saccharina* (Homoptera: Cercopidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 59:1289-1291.
- Ichimura, K.; Shinozaki, K.; Tena, G.; Sheen, J.; Henry, Y.; Champion, A.; Kreis, M.; Zhang, S.; Hirt, H.; Wilson, C.; Heberle-Bors, E.; Ellis, B. E.; Morris, P. C.; Innes, R. W.; Ecker, J. R.; Scheel, D.; Klessig, D. F.; Machida, Y.; Munsy, J.; Ohashi, Y. y Walker, J. C. (2002) Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends Plant Science* 7: 301-308.
- Jacobs, A. K.; Lipka, V.; Burton, R. A.; Panstruga, R.; Strizhov, N.; Schulze-Lefert, P. and Finchera, G. B. 2003. An *Arabidopsis Callose Synthase*, *GSL5*, Is Required for Wound and Papillary Callose Formation. *The Plant Cell*. 15: 2503–2513
- Kombrink, Schmelzer E. 2001. La respuesta hipersensible y su papel en la resistencia a las enfermedades sistémicas y locales. *European Journal of Plant Pathology* 107 69 -78.
- Luna, R. I.J.; Melchor, O.J.; Cruz, C. R.; Rojas, A. L. I.; Figueroa, R. K. A.; Hernández-Rosas, F. 2012. Aislamiento e identificación de la micobiota patógena presente en hojas y tallos de *Saccharum officinarum* procedentes de cultivos del Estado de Veracruz. XXXIV Convención ATAM “Sergio Villa Godoy”. 31 de julio, 1, 2 y 3 de agosto. Veracruz, Boca del Río, Ver.
- Mittler, R.; Berkowitz, G. Hydrogen peroxide, a messenger with too many roles? *Redox Rep*. 2001, 6, 69–72.
- Nishimura, M. T., Stein M., Houl, B., Vogel, J. P., Edwards, H., Somerville, S. C. 2003. Loss of a Callose Synthase Results in Salicylic Acid-Dependent Disease Resistance. *Science*. 301 (5635): 969-972
- Ortega C. A. 1987. Insectos nocivos de maíz: una guía para su identificación en campo. CIMYYT. pp. 41.

- Ramesh Sundar A, Viswanathan R, Nagarathinam S. 2009. Induction of systemic acquired resistance (SAR) using synthetic signal molecules against *Colletotrichum falcatum* in sugarcane. *Sugar Tech.* 11 (3): 274-281.
- Swanson, S.; Gilroy, S. 2009. ROS in plant development. *Physiol Plant.* 138: 384–392.
- Thompson, V y León, G. R. 2005. La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología.* 75: 43-51.
- Tsakagoshi, H.; Busch, W.; Benfey, P.N. 2010. Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. *Cell.* 143: 606–616.
- Vázquez – Nin, G., Echección, O., 2000. Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas. *Microscopia electrónica de transmisión*, ed. Fondo de Cultura Económica, 54-91 México, DF.
- Verma S, Dubey RS. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science.* 164:645–655.
- Wolf, S.; Hofte, H. Growth. 2014. Control: A Saga of Cell Walls, ROS, and Peptide Receptors. *Plant Cell.* 26: 1848–1856

CAPITULO 3

ACUMULACIÓN DE SACAROSA EN CAÑA DE AZÚCAR Y SU CORRELACIÓN CON LA INCIDENCIA DE MOSCA PINTA

3.1 Resumen

La caña de azúcar tiene como principal plaga a nivel nacional a la mosca pinta, la cual se alimenta a través de un estilete dañando las láminas foliares que por infestación afectan en gran medida el proceso fotosintético, lo que se ve reflejado en el desarrollo del cultivo. Por lo cual, esta investigación está enfocada en la cosecha de tallos maduros expuestos a mosca pinta y en confinamiento. Para estimar el momento de corte se determina la calidad del jugo durante el desarrollo de la planta y se realiza una curva de maduración a través del método Pol-Ratio. Los datos se analizaron con el programa SAS para obtener datos de correlación entre la calidad del jugo y los niveles de población de la mosca pinta. Para lo cual se pudo observar como las variables Brix y pol relacionadas con mosca pinta, muestran una correlación con una confiabilidad de 99% lo cual indica que el daño de la mosca pinta si se ve reflejado en la disminución de la concentración de azúcares, sin embargo existen diferentes factores que impactan de igual manera en la calidad y madurez de los tallo.

3.2 Palabras clave

Palabras clave: Curva de madurez, calidad de jugo, rendimientos, *Aeneolamia albofasciata*, *Saccharum officinarum*

Sucrose accumulation in sugar cane and its correlation with spittlebug adults incidence

Abstract

Sugarcane has the main insect pest nationwide to the spittlebug adults since it feeds through a stylet that causes damage to leaf blades, which greatly affect the photosynthetic process, which is seen by infestation reflected in the development of the crop. This research is focused on analysis of mature stems exposed to

spittlebug adults into the cage. To estimate the time of harvest, was measured the quality of the juice during the development of the plant and a maturation curve was performed by the Pol-Ratio method. The data were analysed with the SAS program to obtain data on the correlation between the quality of the juice and the spittlebug adult population levels. It was observed as Brix and pol spittlebug adult-related variables show a correlation with 99% reliability that indicates that damage to spittlebug adults, if it decreases the concentration of sucrose. However, there are different factors that influence the quality and maturity of the stalks.

Keywords: ripening curve, juice quality, yield, *Aeneolamia albofasciata*, *Saccharum officinarum*

3.3. Introducción

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es un cultivo afectado por varias especies de insectos plaga, entre las que destaca el salivazo o mosca pinta (Walk, 1858) que se alimenta de las láminas foliares y provoca una fitotoxemia llamada quema de las hojas con la consecuente disminución de la capacidad fotosintética (Fewkes 1969; Badilla 2002; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015) y pérdidas de hasta 6 toneladas de caña por hectárea. La presencia de alta incidencia de adultos de mosca pinta se relaciona con diversos factores entre ellos la nutrición del cultivo, falta de nitrógeno; las condiciones ambientales con acumulación de calor por parte del insecto-plaga, y la aplicación de insecticidas, que quizá se inducen a la plaga pero al mismo tiempo afecta la presencia de enemigos naturales (Hewitt 1986, Hewitt y Nilakhe 1986, Sujii 1998; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas, 2015). Además, la disponibilidad y calidad de la planta huésped también pueden desempeñar un papel en la dinámica de las poblaciones debido a que se pueden tener en campo resacas de varios ciclos (Pires *et al.* 2000b; Alatorre-Rosas y Hernández-Rosas 2015). Se sabe que la resistencia varietal es probablemente la mejor medida de control para una plaga de insectos ampliamente establecida en vastas áreas de plantaciones de caña de azúcar, sin embargo poco se sabe sobre el uso de variedades resistentes como una alternativa de control de la mosca pinta en caña de azúcar (Barbosa y

Silveira, 2012). Esta plaga constituye uno de los factores limitantes de la productividad de la caña. Estas afectaciones de las hojas de la caña de azúcar por presencia de mosca pinta se ven reflejadas en fábrica en la calidad del jugo de los tallos.

La cosecha de tallos maduros constituye uno de los aspectos de mayor importancia para alcanzar altos rendimientos de producción, debido a que esta condición corresponde al momento en que se alcanza la más alta concentración de sacarosa. Este aumento se produce durante la última fase de desarrollo del cultivo, cuando la producción de materia verde de la planta disminuye para dar paso a la acumulación de carbohidratos en forma de sacarosa en las células de parénquima en el tallo (Fernández 1977; Clements 1980; Samuels 1984).

Para estimar el mejor momento de corte es necesario determinar la calidad del jugo durante el desarrollo de la planta y con estas determinaciones realizar la curva de maduración. La cosecha de la caña en un momento inapropiado puede generar pérdidas económicas considerables, ya que cuando se cosecha antes de alcanzar el máximo rendimiento o posterior a su madurez se produce la inversión de la sacarosa o la formación de polisacáridos insolubles (Alexander 1973; Gómez 1983).

Por lo anterior, la presente investigación consistió en la relación existente entre el daño causado por la incidencia de mosca pinta en los tallos maduros de caña de azúcar y su reducción en la concentración de sacarosa. Se realizó un análisis de tallos de caña expuestos a mosca pinta y en confinamiento para conocer la curva de madurez de los tallos y así realizar una correlación estadística que indique la relación existente entre la incidencia de adultos y la calidad de jugo.

3.4 Materiales y Métodos

El estudio se realizó en parcelas del Ingenio El Potrero, se colocaron dos jaulas de 6 m de largo por 3 m de ancho y una altura de 3 m, de aluminio y malla antiáfidos en la parcela 1047, lote 1288, tabla 18 y tabla 15, Campos Ingenio del Ingenio El Potrero. Las parcelas se encuentran sembradas con caña de azúcar variedad CP 72 2086 cuyo corte anterior fue en enero del 2014 en la zafra 2013-2014, y las plantas al inicio del experimento tenían una edad de diez meses con ciclo de cultivo resoca 3 para la tabla 18 y resoca 2 para la tabla 15.

3.4.1 Diseño experimental

Se usó un diseño experimental fue un completamente al azar con dos tratamientos y dos repeticiones. La diferencia entre los tratamientos consistió en utilizar una jaula que abarcó un área 70 m² donde dicha jaula funcionó como el tratamiento dos libre del daño por mosca pinta, mientras que el tratamiento uno correspondió al área expuesta a la mosca pinta alrededor de dicha jaula. Las muestras analizadas fueron tomadas en puntos al azar de sus respectivos tratamientos buscando mantener el tamaño de la unidad experimental en ambas repeticiones. El análisis de varianza para probar el efecto entre tratamientos y el cálculo de las correlaciones entre variables se realizaron a través del programa estadístico SAS versión 9.3.

3.4.2 Condiciones de desarrollo del cultivo

Para conocer las condiciones de temperatura y humedad que el cultivo mantuvo durante el tiempo del experimento se colocó un dispositivo data logger *HOBO® U23-001 Pro v2 Temperature/Relative Humidity data logger* que registró la temperatura y humedad relativa, éste fue programado mediante el software *HOBO®* y la comunicación de datos en lapsos de 30 minutos.

3.4.3 Muestreo de adultos de mosca pinta

Se colocaron trampas verdes bajo la forma conocida como cinco de oros con la finalidad de capturar los adultos de mosca pinta alrededor de las jaulas colocadas en las tablas antes mencionadas. Estas se distribuyeron una en cada esquina por la parte de afuera con un surco de distancia con la jaula y una se ubicó en la parte central de la jaula para descartar la presencia del insecto en el ambiente controlado.

3.4.4 Conteo de huevos

Se realizó un muestreo con base a la ficha técnica *Muestreo de huevos de mosca pinta en caña de azúcar FMP-004* (Hernández *et al.* 2013). Haciendo una modificación a la técnica establecida por las dimensiones del área experimental los puntos tomados para el muestreo del suelo fueron en la forma conocida como

Cinco de Oros. Se selecciona un área de 15x15 cm al pie de la cepa de caña de azúcar, se limpia la zona eliminando hojas y paja de la caña, se debe tener cuidado de no remover las raíces de la planta. Se coloca sobre el suelo seleccionado y limpio un marco de fierro colado de 15x15x5 cm el cual es enterrado con ayuda de un mazo, teniendo así el volumen de suelo para analizar, éste se toma con ayuda de una pala. La muestra obtenida se introduce en una bolsa de plástico y se homogeniza.

Para el conteo de los huevos en la muestra de suelo se siguió la técnica *Extracción de huevos de mosca pinta por gradiente salino FMP-006* (Hernández et al. 2013) la cual indica que la muestra debe ser aproximadamente de 1 kilogramo por cada punto, esta debe estar libre de piedras u objetos grandes sin eliminar la materia orgánica presente. Se determina el peso inicial durante el muestreo y después ya homogenizada la muestra se toma una submuestra de 250 gramos. La submuestra debe ser colocada en un recipiente de plástico y después agregar una solución salina al 70% se debe agitar para homogenizar y dejar reposar 30 minutos. La muestra se pasa por los tamices 20, 30, 40, 60 y 80, las mallas son colocadas de menor a mayor. Cuando todo el líquido haya pasado por las mallas estas se colocan apiladas bajo un chorro de agua corriente con el fin de desmoronar terrones de tierra. La tierra debe ir pasando por las mallas hasta llegar a la malla 80, una vez eliminada la mayor cantidad de tierra, el material retenido es colocado con ayuda de una piseta con solución salina al 30% en un embudo de separación con capacidad de 1 litro, se deja sedimentar 30 segundos para obtener tres fases: sedimento sólido, fase acuosa y materia orgánica flotante. Se desecha la fase sólida mientras que la fase acuosa y orgánica se colocan en un recuadro de tela organza la cual sirve para retener los huevos, para colocarlos en la tela se debe enjuagar el embudo de separación con agua salina al 30% para evitar la pérdida de huevos en las paredes del embudo. Se deja secar por 24 horas para observar la materia orgánica y evitar que los huevos se adhieran al pincel o aguja con el que se cuentan. Los huevos se cuantifican con ayuda de un microscopio estereoscópico.

3.4.5 Muestreo de tallos

Para la toma de muestras se tomó en cuenta el método Pol-Ratio el cual indica el corte de 5 tallos en 5 puntos de un lote. Para el caso de las jaulas se cortaron

solo 5 tallos dentro de cada jaula y 5 tallos fuera de ellas para realizar los análisis de estos en el laboratorio.

3.4.6 Método Pol Ratio

Los tallos se pican en un desfibrador se mezclan homogéneamente y se toma una muestra de 400 g; esta se coloca en una licuadora de un litro de capacidad y se acciona por un lapso de 5 minutos. Posteriormente, se decanta y se filtra el material licuado. Al jugo colectado se le determina el Brix, Pol % en caña y la pureza % del jugo. Para determinar la fibra, se procede a lavar el residuo con agua para extraer los sólidos solubles que permanezcan en el material; luego se le extrae el agua por medio de una prensa y se coloca en canastas en la estufa para secarlas hasta tener peso constante. Con los datos del peso inicial puede sacarse la fibra % en caña y el valor estimado de sacarosa.

3.5 Resultados

3.5.1 Muestreo de adultos de mosca pinta

Los conteos de las trampas verdes en las jaulas (Tabla 4. y Tabla 5) muestran cómo se mantuvo la presencia de la población durante la etapa experimental en la parte exterior y como en la parte interna de las jaulas (trampa 3) la presencia de moscas fue disminuyendo (Figura 9 y Figura 10) debido a que se realizaron dos aplicaciones de control biológico *Metarhizium anisopliae*.

Tabla 4. Conteos para conocer la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para la jaula 1 (cinco de oros, trampas 1, 2, 4 y 5 se colocaron fuera de la jaula).

| Jaula 1 | | | | | | | |
|-----------------|-----|----|------|------|------|--------------|--------------|
| Conteos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Total | Promedio |
| Trampa 1 | 71 | 7 | 8 | 34 | 16 | 136 | 45.33 |
| Trampa 2 | 31 | 20 | 28 | 21 | 4 | 104 | 34.66 |
| Trampa 3 | 8 | 2 | 1 | 1 | 0 | 12 | 4 |
| Trampa 4 | 34 | 13 | 19 | 9 | 13 | 88 | 29.33 |
| Trampa 5 | 26 | 13 | 47 | 52 | 46 | 184 | 61.33 |
| Total | 170 | 55 | 103 | 117 | 79 | 524 | 104.8 |
| Promedio | 34 | 11 | 20.6 | 23.4 | 15.8 | 104.8 | |

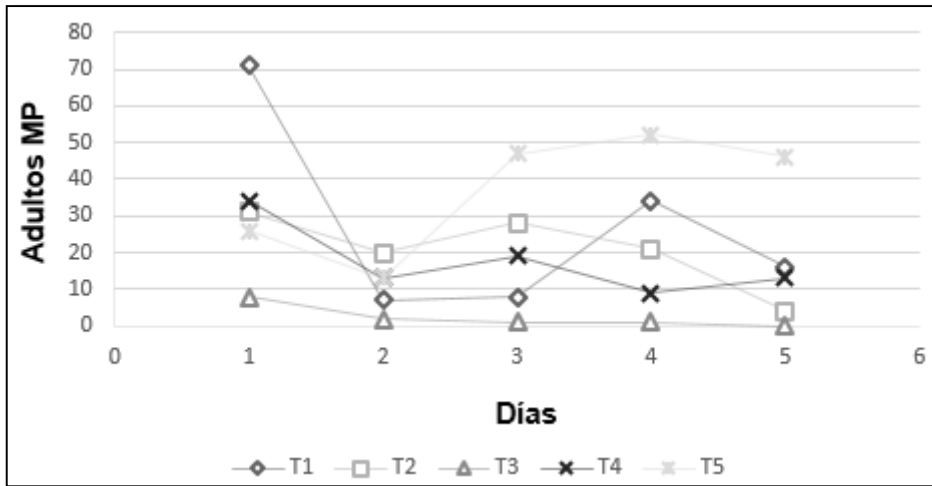


Figura 9. Comportamiento de la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 1 (cinco deoros, donde T3 es se encuentra en el interior).

Tabla 5. Conteos para conocer la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 2 (cinco deoros, trampas 1, 2, 4 y 5 se colocaron fuera de la jaula).

| Jaula 2 | | | | | | | |
|-----------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Conteos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Total | Promedio |
| Trampa 1 | 26 | 31 | 40 | 3 | 62 | 162 | 32.4 |
| Trampa 2 | 35 | 42 | 41 | 17 | 36 | 171 | 34.2 |
| Trampa 3 | 10 | 12 | 3 | 1 | 1 | 27 | 5.4 |
| Trampa 4 | 38 | 14 | 46 | 54 | 8 | 160 | 32 |
| Trampa 5 | 24 | 37 | 40 | 45 | 64 | 210 | 42 |
| Total | 133 | 136 | 170 | 120 | 171 | 730 | 146 |
| Promedio | 26.6 | 27.2 | 34 | 24 | 34 | 146 | |

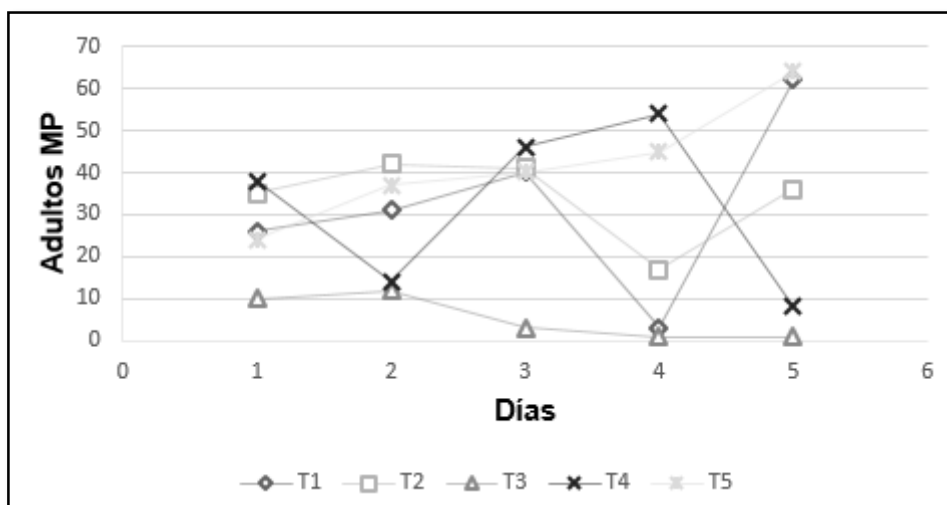


Figura 10. Comportamiento de la incidencia de mosca pinta por punto de muestreo para jaula 2 (cinco deoros).

3.5.2 Conteo de huevos

Al término del procesamiento de muestras de suelo donde se extrajeron los huevos de mosca pinta, se realizó el conteo de huevos (Tabla 6) que indica la posible presencia de salivazo y mosca pinta después de su eclosión. En las Figura 11 y Figura 12 **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se observa la gráfica de los datos donde muestra el punto con mayor presencia de huevos de la zona experimental, la escala de color indica por tonalidades la cantidad de individuos por punto.

Tabla 6. Huevos encontrados por punto de muestreo, en el área experimental (cinco de oros)

| Huevos Encontrados | | | | | | |
|--------------------|---------|--------------|----------|-------------|------------------|----------------------|
| Jaula | Muestra | Peso Inicial | Viabiles | No viabiles | Huevos en 250 gr | Huevos en peso total |
| 1 | 1 | 890 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 2 | 665 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 3 | 805 | 1 | 8 | 9 | 28.98 |
| 1 | 4 | 945 | 1 | 6 | 7 | 26.46 |
| 1 | 5 | 1150 | 0 | 7 | 7 | 32.20 |
| 2 | 1 | 1015 | 3 | 2 | 5 | 20.30 |
| 2 | 2 | 1150 | 1 | 1 | 2 | 9.20 |
| 2 | 3 | 1035 | 0 | 1 | 1 | 4.14 |
| 2 | 4 | 1165 | 0 | 5 | 5 | 23.30 |
| 2 | 5 | 880 | 2 | 0 | 2 | 7.04 |

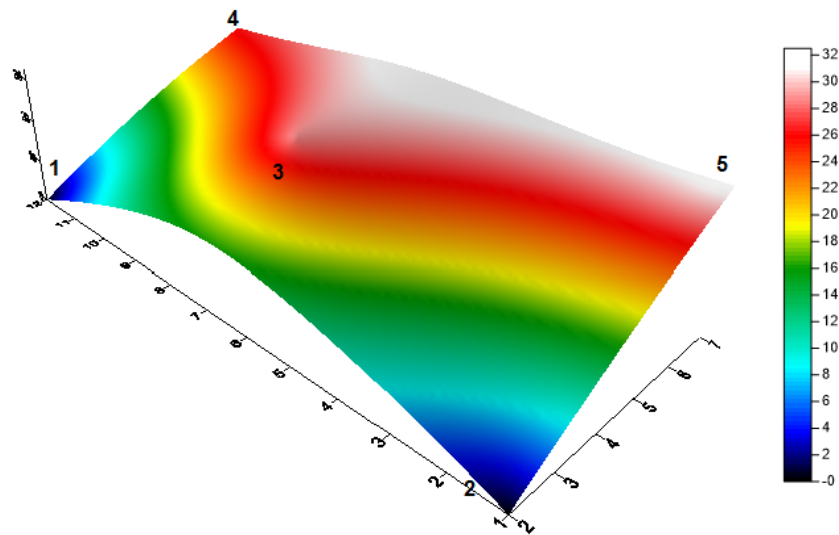


Figura 11. Puntos críticos de presencia de huevos de mosca pinta en jaula 1

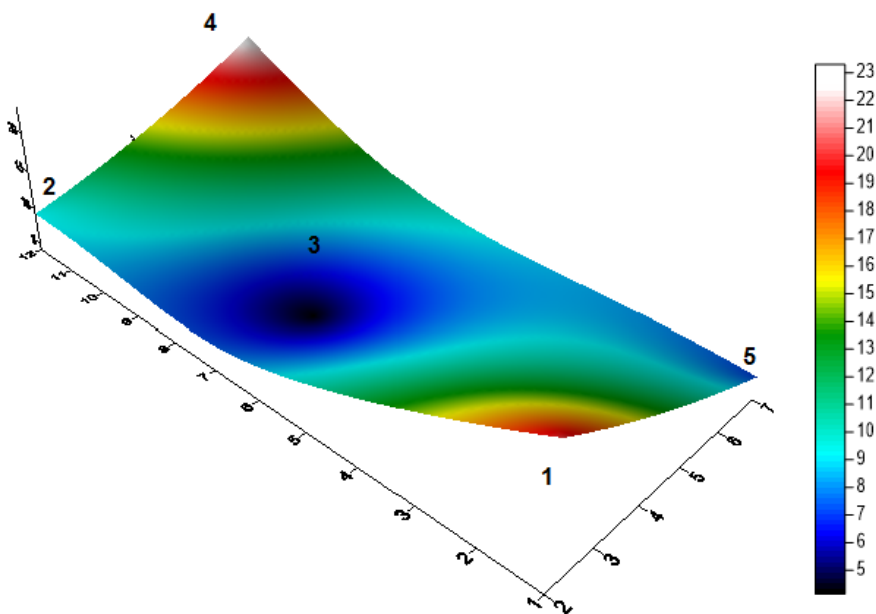


Figura 12. Puntos críticos de presencia de huevos de mosca pinta en jaula 2

3.5.3 Método Pol-Ratio

Los resultados obtenidos del método pol-ratio se correlacionaron con los conteos de huevos y la densidad de población de mosca pinta por el método Correlación de Pearson en el programa SAS, para conocer la relación existente entre las variables mencionadas. La Tabla 7 muestra los coeficientes de correlación entre las variables, donde se puede observar que entre más se acerquen los

coeficientes de correlación a 1 o -1 mayor será el nivel de asociación entre variables

En los datos obtenidos de la correlación de Pearson entre las variables analizadas, se verifica la validez de la hipótesis nula a través de comparar el coeficiente de correlación con un nivel de confiabilidad del 99% ($\alpha = 0.01$).

En la Tabla 8 podemos observar solo las variables que mantienen una correlación válida entre ellas a un nivel de significancia del 99%.

Tabla 7. Correlación de Pearson

| Coefficientes de correlación Pearson, N = 40 | | | | | | | | | |
|---|-------------------|--------------|----------------|-------------|---------------|----------------------------|------------|-------------------------------|------------------------------|
| Prob > r suponiendo H0: Rho=0 | | | | | | | | | |
| | Desarrollo | Fibra | Humedad | Brix | Pureza | Azucares reductores | Pol | Adultos de mosca pinta | Huevos de mosca pinta |
| Desarrollo | 100.000 | 0.26519 | -0.30145 | 0.1609 | 0.35108 | -0.38451 | 0.23103 | 0.10435 | -0.04244 |
| | | 0.0982 | 0.0587 | 0.3213 | 0.0263 | 0.0143 | 0.1515 | 0.5217 | 0.7948 |
| Fibra | 0.26519 | 100.000 | -0.81908 | 0.5974 | 0.64389 | -0.72535 | 0.65169 | 0.53298 | -0.31009 |
| | 0.0982 | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0004 | 0.0515 |
| Humedad | -0.30145 | -0.81908 | 100.000 | -0.90679 | -0.83179 | 0.87557 | -0.94062 | -0.69816 | 0.34553 |
| | 0.0587 | <.0001 | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.029 |
| Brix | 0.1609 | 0.5974 | -0.90679 | 100.000 | 0.72379 | -0.83857 | 0.97803 | 0.71121 | -0.32736 |
| | 0.3213 | <.0001 | <.0001 | | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0392 |
| Pureza | 0.35108 | 0.64389 | -0.83179 | 0.72379 | 100.000 | -0.83364 | 0.85069 | 0.49837 | -0.30178 |
| | 0.0263 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | <.0001 | <.0001 | 0.0011 | 0.0584 |
| Azucares Reductores | -0.38451 | -0.72535 | 0.87557 | -0.83857 | -0.83364 | 100.000 | -0.88661 | -0.54699 | 0.27493 |
| | 0.0143 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | <.0001 | 0.0003 | 0.086 |
| Pol | 0.23103 | 0.65169 | -0.94062 | 0.97803 | 0.85069 | -0.88661 | 100.000 | 0.69362 | -0.33795 |
| | 0.1515 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | <.0001 | 0.0329 |
| Adultos de mosca pinta | 0.10435 | 0.53298 | -0.69816 | 0.71121 | 0.49837 | -0.54699 | 0.69362 | 100.000 | -0.35582 |
| | 0.5217 | 0.0004 | <.0001 | <.0001 | 0.0011 | 0.0003 | <.0001 | | 0.0242 |
| Huevos de mosca pinta | -0.04244 | -0.31009 | 0.34553 | -0.32736 | -0.30178 | 0.27493 | -0.33795 | -0.35582 | 100.000 |
| | 0.7948 | 0.0515 | 0.029 | 0.0392 | 0.0584 | 0.086 | 0.0329 | 0.0242 | |

Tabla 8. Correlaciones más significativas entre las variables medidas donde el valor de significancia es del 99%.

| Variables | Coefficiente de Correlación | P-Valor | Descripción |
|-------------------------------|------------------------------------|----------------|---|
| Fibra y Humedad | -0.81908 | <.0001 | La fibra aumenta la humedad disminuye |
| Humedad y Brix | -0.90679 | <.0001 | La humedad aumenta el Brix disminuyen |
| Humedad y Pureza | -0.83179 | <.0001 | La humedad aumenta la pureza disminuye |
| Humedad y Azucares Reductores | 0.87557 | <.0001 | La humedad aumenta los azucares reductores aumentan. |
| Humedad y Pol | -0.94062 | <.0001 | La humedad aumenta la pol disminuye |
| Brix y Pureza | 0.72379 | <.0001 | El Brix aumenta la pureza aumenta |
| Brix y Azucares Reductores | -0.83857 | <.0001 | El Brix aumenta los azucares reductores disminuyen |
| Brix y pol | 0.97803 | <.0001 | El Brix aumenta la pol aumenta |
| Brix y Mosca Pinta | 0.71121 | <.0001 | La relación existente entre el aumento de Brix y la presencia de mosca pinta no alcanza una correlación válida. Pero es existente |
| Pureza y Azucares Reductores | -0.83364 | <.0001 | La pureza aumenta disminuyen los azucares reductores. |
| Pureza y Pol | 0.85069 | <.0001 | La pureza aumenta, la pol aumenta |
| Azucares Reductores y Pol | -0.88661 | <.0001 | Los azucares reductores aumentan si la pol baja. |
| Pol y Mosca Pinta | 0.69362 | <.0001 | La relación existente entre el aumento de la Pol y la presencia de mosca pinta no alcanza una correlación válida. Pero es existente |

En los cuadros marcados en verde en la Tabla 8 indican las variables de mayor interés Brix-mosca pinta y Pol-mosca pinta, en los cuales se resalta la correlación de 71% y 69% respectivamente. Lo anterior indica que el daño de la mosca pinta si se ve reflejado en la disminución de la concentración de azúcares, sin embargo es pertinente resaltar que además del efecto de la mosca pinta también entran

en juego diferentes factores que impactan de igual manera en la calidad y madurez de los tallo.

Por otro lado en la Tabla 9 se puede observar el efecto del tratamiento por cada variable a través de una comparación de medias con el método de Tukey. El presente análisis se realizó con la función Proc GLM del programa SAS. La significancia de los tratamientos se realizó a un nivel del 95%.

Tabla 9. Comparación de medias, Tukey.

| Variables | Tratamiento 1 | | Tratamiento2 | |
|----------------------------|----------------------|----------|---------------------|----------|
| Desarrollo | 1.9850 | A | 2.0100 | A |
| Fibra | 11.2240 | B | 12.9885 | A |
| Humedad | 75.530 | A | 71.4100 | B |
| Brix | 12.7155 | B | 15.020 | A |
| Pureza | 88.0360 | B | 92.9600 | A |
| Azúcares Reductores | 0.8276 | A | 0.3479 | B |
| Pol | 11.2007 | B | 13.972 | A |

La comparación de medias se hizo a través del método de Tukey, dónde letras iguales implica que no hay diferencias entre los tratamientos y letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. De la Tabla 9 se puede observar que si hay una diferencia entre tratamientos en la mayoría de las variables medidas, excepto para la variable desarrollo en la cual la diferencia no fue significativa. Con lo anterior se refuerza nuestra pregunta de investigación de que la presencia de mosca pinta tiene un efecto en la calidad del jugo de caña.

3. 6 Discusión

Cuando los tallos utilizados para los análisis de calidad presentan mayores daños por mosca pinta, se presenta una reducción de la calidad de jugo de caña de azúcar. Gonçalves *et al.* (2003) encontraron valores más bajos Brix y Pol en materia de caña de azúcar atacadas por una plaga hemíptera como la *Mahanarva fimbriolata* cuando el daño era extenso. Estos resultados podrían deberse a plantar el estrés, lo que le daría una apariencia quemada debido a los

tallos secos (Mendonça, 1996). Al evaluar valores de % de azúcares reductores del jugo obtenido, éstos se encontraron que aumenta cuando la materia prima presenta daño (García, 2010).

Cuando una planta sufre lesión, debido a plagas, por ejemplo, se altera su metabolismo e inicia la producción de más compuestos que se utilizan como un mecanismo de defensa contra el ataque. Esta producción requiere el uso de una cantidad extra de energía para la descomposición de la glucosa. En el experimento realizado por García *et al.* (2010); la caña de azúcar atacada por la plaga produce más glucosa y acumuló un contenido de sacarosa menor, inferior Brix, Pol, Pureza y valores de azúcares reductores.

3.7 Conclusión

El método pol-ratio y las correlaciones de Pearson permitieron mostrar la relación existente entre la acumulación de azúcares en los tallos de la caña de azúcar y el daño por la incidencia de adultos de mosca pinta presente en el cultivo durante su maduración. Se obtuvo un dato importante que indica el porcentaje de correlación entre la incidencia de mosca pinta durante la maduración de los tallos y la pol del jugo proveniente de éste, que es de un 69% y la correlación entre la incidencia de mosca pinta y Brix que es de un 71% en el jugo de tallos maduros, los cuales podrían ser utilizados como indicadores indirectos del daño provocado por la mosca pinta, además de ser referentes de la calidad del jugo.

3.8 Agradecimientos

Al ingenio Fideicomiso El Potrero por las facilidades para plantar el experimento en su zona de abasto y por realizar los análisis en el laboratorio de campo.

3.9 Referencias

- Alexander, A. 1973. Sugar cane physiology. Amsterdam, Elsevier. 752 p.
- Badilla, F. F. 2002. Un programa exitoso de control biológico de insectos plaga de la caña de azúcar en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 64 (2): 77-87.
- Barbosa, M.H.P.; Silveira, L. C. I. Melhoramento genético e recomenda

- Clemenst, H. F. 1980. Sugarcane crop logging and crop control. Principles and practices. Honolulu, University Press of Hawaii. 520 p.
- Fernandez, J. 1977. Factores de amadurecimento de cana de açúcar. Brasil Açucareiro 3: 116-122.
- Fewkes, D. W. 1969. The biology of sugar cane froghoppers. pp. 283-307. En: Williams, J.R.; Metcalfe, J. R.; Mungomery, R. W.; Mathes, R. (Eds.). Pests of sugar cane. Ed. Elsevier Publishing Company. New York. EEUU. 360 p.
- García, B., D., Ravaneli, G.C., Madaleno, L., L., Mutton, M., Rossini., M., M., 2010. Damages of spittlebug on sugarcane quality and fermentation process. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.) 555-561 p.
- Gómez, F. 1983. Caña de azúcar 2ed. Venezuela. Edicanpa. 661 p.
- Hewitt, G.B. 1986. Environmental factors affecting spittlebug egg survival during the dry season in Central Brazil. Pesq. Agropec. Bras. 21: 1237-1243.
- Hewitt, G.B. & S.S. Nilakhe. 1986. Environmental factors affecting the survival of eggs and early instar nymphs of spittlebugs *Zulia entreriana* and *Deois flavopicta* during the rainy season in central Brazil. An. Soc. Entomol. Brasil 15: 61-76.
- Pires, C.S.S., P. W. Price & E.G. Fontes. 2000. Preference performance linkage in the neotropical spittlebug *Deois flavopicta*, and its relation to the phylogenetic constraints hypothesis. Ecol. Entomol. 25: 71-80.
- Samuels, G. 1984. La madurez de la caña de azúcar: teoría y práctica. In: Seminarios Interamericanos de la Caña de Azúcar. Control de Malezas y Maduradores. Florida, Estados Unidos. 479-485 P.
- Sujii, E.R. 1998. Modelagem e simulação da dinâmica populacional da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas UNICAMP, Campinas, SP, 239p.
- Walker F. 1858 - List of the specimens of Homopterous insects in the collection of the British Museum, 1858. p. 1-307.

V. CONCLUSIÓN GENERAL

Los métodos de tinciones fluorescentes establecidos para el reconocimiento de ERO y calosa en los tejidos de las hojas de caña de azúcar, permiten evidenciar el efecto por daño celular por mosca pinta para su exploración y con esto, se pudo identificar las estructuras celulares dañadas mecánicamente y por presencia de patógenos oportunistas. Además, se pudo obtener un dato numérico que fluctuó para los tejidos observados en un rango de 1000 a 6400 nm y de 700 a 7000nm; y no cualitativo del daño celular, mediante la expresión de peróxidos y β -glucanos, respectivamente; que delimitan el daño real al interior del tejido y no de manera superficial del tejido de la lámina foliar.

Dicho daño foliar por infestación afecta en gran medida el proceso fotosintético, lo que se ve reflejado en el desarrollo del cultivo. Para lo cual el método pol-ratio y los análisis estadísticos como; las correlaciones de Pearson, varianza y Tukey permitieron mostrar la relación existente entre la acumulación de azúcares en los tallos de la caña de azúcar y el daño por la incidencia de adultos de mosca pinta presente en el cultivo durante su maduración. Se obtuvo un dato importante que indica el porcentaje de correlación entre la incidencia de mosca pinta durante la maduración de los tallos y la pol del jugo proveniente de éste, que es de un 69% y la correlación entre la incidencia de mosca pinta y Brix que es de un 71% en el jugo de tallos maduros. Al igual que mostró cuál de los tratamientos fue el mejor, dando como mejor opción para la mayoría de las variables independientes el tratamiento en confinamiento. Teniendo así el resultado esperado planteado en las hipótesis.

IV. REFERENCIAS

- Alatorre-Rosas, R y Hernández-Rosas, F. 2015. Mosca pinta, *Aeneolamia spp* y *Prosapia spp* (Hemiptera: Cercopidae). In: Arredondo-Bernal, H. C. y Rodríguez del Bosque, L.A. Casos de Control Biológico en México. Vol. 2. Editorial BBA. Pp. 416.
- Ammar E-D, Hall DG, Shatters RG Jr (2013) Stylet Morphometrics and Citrus Leaf Vein Structure in Relation to Feeding Behavior of the Asian Citrus

- Psyllid *Diaphorina citri*, Vector of Citrus Huanglongbing Bacterium. PLoS ONE 8(3): e59914.
- Badilla, F. F. 2002. Un programa exitoso de control biológico de insectos plaga de la caña de azúcar en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 64 (2): 77-87.
- De La Cruz-Llanas, J. J.; Vera-Graciano, J.; López-Collado, J.; Pinto, V. M.; Garza-García, R. 2005. Una técnica simple para el desarrollo de ninfas de *Aeneolamia postica* (Homoptera: Cercopidae). Folia entomológica mexicana. 44 (1): 91-93.
- Fewkes, D. W. 1969. The biology of sugar cane froghoppers. pp. 283-307. En: Williams, J.R.; Metcalfe, J. R.; Mungomery, R. W.; Mathes, R. (Eds.). Pests of sugar cane. Ed. Elsevier Publishing Company. New York. EEUU. 360 p.
- Hewitt, G.B. 1986. Environmental factors affecting spittlebug egg survival during the dry season in Central Brazil. Pesquisa Agropecuaria. Bras. 21: 1237-1243.
- Hewitt, G.B. & S.S. Nilakhe. 1986. Environmental factors affecting the survival of eggs and early instar nymphs of spittlebugs *Zulia entreriana* and *Deois flavopicta* during the rainy season in central Brazil. An. Soc. Entomology Brasil 15: 61-76.
- Pires, C.S.S., P. W. Price & E.G. Fontes. 2000. Preference performance linkage in the neotropical spittlebug *Deois flavopicta*, and its relation to the phylogenetic constraints hypothesis. Ecol. Entomol. 25: 71-80.
- Sujii, E.R. 1998. Modelagem e simulação da dinâmica populacional da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas UNICAMP, Campinas, SP, 239p.