



**Trabajo
presentado en
el XXXII ISSCT
Centennial
Congress, 24 al 28
de agosto de 2025,
Cali, Colombia,
traducido al
castellano.**

Fecha de
recepción:
16/09/2025

Fecha de
aceptación:
17/09/2025

Proyecto Vitroplantas de la EEAOC: la importancia del diagnóstico fitosanitario y su impacto en el estado sanitario de los lotes comerciales en Tucumán, Argentina

Constanza M. Joya*, Romina P. Bertani*, M. Francisca Perera*, Sofía Fajre**, Juan A. Giardina** y Aldo S. Noguera*

*Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Las Talitas, Tucumán, República Argentina, T4101XAC. **Agronomía, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, Tucumán, República Argentina, T4101XAC. Email: contijoya@gmail.com

RESUMEN

Las enfermedades de la caña de azúcar con mayor impacto económico se transmiten mediante el uso de material de plantación infectado durante la multiplicación comercial. La producción de caña semilla de alta calidad, junto con el conocimiento del estado sanitario del cultivo, constituye un factor clave para diseñar estrategias de manejo de enfermedades. El Proyecto Vitroplantas de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) tiene como objetivo proveer caña semilla de alta calidad fitosanitaria mediante técnicas de cultivo *in vitro* de meristemas y micropropagación. En este trabajo se presentan los resultados de diagnóstico obtenidos en las últimas cinco campañas agrícolas, para la identificación de enfermedades sistémicas de la caña de azúcar en Tucumán, Argentina. Las plantas donantes de meristemas y las líneas micropropagadas se evaluaron mediante PCR para la detección de los agentes causales del raquitismo de la caña soca (RSD), la escaldadura de la hoja (LS) y la estría roja (RS); y por RT-PCR, para el virus del amarillamiento de la hoja (YL) y el virus del mosaico (MV). Asimismo, se utilizó *tissue-blot immunoassay* (TBIA) para determinar la presencia de RSD y LS en los semilleros Registrados. Se incluyen además, resultados de la presencia de RSD en lotes comerciales. Entre 2020 y 2024, YL presentó la mayor incidencia tanto en plantas donantes como en líneas *in vitro*. En los semilleros Registrados, la incidencia de RSD (número de tallos infectados/número total de tallos) varió entre 0,13% y 0,89%, mientras que la incidencia de LS osciló entre 0,09% y 0,33%. En los lotes comerciales, aproximadamente el 80% de las muestras analizadas resultaron apropiadas para su uso como caña semilla. Actualmente, el 74,5% del área de producción de caña de azúcar de Tucumán se encuentra ocupada por caña semilla de alta calidad proveniente del Proyecto Vitroplantas de la EEAOC. Esta tecnología reduce las enfermedades sistémicas y mejora los rendimientos en cañaverales comerciales. La disponibilidad de métodos de diagnóstico eficaces, aplicados del laboratorio al campo, asegura material libre de patógenos y plantas élite a los productores locales.

Palabras clave: caña semilla de alta calidad, manejo de enfermedades, diagnóstico molecular, TBIA.

ABSTRACT

EEAOC Vitroplants Project: the importance of phytosanitary diagnosis and its impact on the health status of commercial sugarcane fields in Tucumán, Argentina

Most economically significant sugarcane diseases are transmitted by infected planting material during commercial propagation. The production of high-quality planting

material and knowledge of crop sanitary conditions are key factors for designing disease-management strategies. The Vitroplants Project of Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) aims to provide high phytosanitary quality seed cane through *in vitro* meristem-culture and micropropagation techniques. This work presents the results of diagnosis over the past five crop seasons to identify systemic sugarcane diseases in Tucumán, Argentina. Meristem donor plants and micropropagated plantlets are evaluated by PCR to detect the causal agents of ratoon stunting (RSD), leaf scald (LS) and red stripe (RS), while RT-PCR protocols are applied for yellow leaf (YL) and mosaic virus (MV). *Tissue-blot immunoassay* (TBIA) is used to determine the presence of RSD and LS in Registered nurseries. Data on the presence of RSD in commercial fields is also presented. From 2020 to 2024, YL had the highest incidence in both donor plants and *in vitro* plantlets. In the Registered nurseries, RSD incidence (number of infected stalks/total number of stalks) ranged between 0.13% and 0.89%, while LS incidence ranged from 0.09% to 0.33%. In commercial fields, around 80% of the samples analyzed were appropriate for use as seed cane. Nowadays, 74.5% of Tucumán sugarcane production area is occupied by high-quality seed cane from the EEAOC Vitroplants Project. This technology significantly reduces systemic diseases, leading to increased commercial field yields. The availability of effective and reliable diagnostic methods, from the laboratory to field propagation, is a valuable tool to ensure the absence of pathogens and provide elite plants for local producers.

Key words: High-quality seed cane, disease management, molecular diagnosis, TBIA.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es susceptible a diversas infecciones causadas por bacterias y virus, cuyo control solo es posible mediante la detección temprana y un diagnóstico preciso. Entre los principales factores que limitan su producción se destacan las enfermedades sistémicas, debido a que la multiplicación comercial se realiza de forma agámica a través de caña semilla, lo que favorece la rápida propagación de estos patógenos. Desde 2001, la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) produce caña semilla de alta calidad a través del Proyecto Vitroplantas, con el fin de propagar cultivares comerciales y nuevas variedades élite liberadas por el Programa de Mejoramiento Genético de Caña de Azúcar de la EEAOC (PMGCA-EEAOC). Para eliminar enfermedades bacterianas y virales, el estado sanitario del material vegetal se asegura mediante el cultivo *in vitro* de meristemas apicales provenientes de plantas donantes, previamente saneadas por hidro-termoterapia. Posteriormente, los plantines son multiplicados masivamente por micropropagación.

A fin de garantizar que las plantas donantes de meristemas y las líneas micropropagadas estén libres de enfermedades, el material vegetal se evalúa mediante técnicas de diagnóstico molecular. Estos análisis se aplican de manera rutinaria para cinco enfermedades de importancia regional: raquitismo de la caña soca (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*), escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans*), estría roja (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*), mosaico (virus del mosaico de la caña de azúcar – SCMV – y virus del mosaico del sorgo – SrMV) y amarillamiento de la hoja (virus del amarillamiento de la hoja de la caña de azúcar – SCYLV). Una vez propagadas en el laboratorio, las líneas *in vitro* atraviesan un proceso gradual de adaptación al crecimiento *ex vitro* bajo condiciones controladas en invernadero, y posteriormente se establecen en un semillero Básico.

Todas las plantas son propagadas convencionalmente en semilleros Registrados y Certificados antes de ser distribuidas entre los productores para la multiplicación comercial (Digonzelli *et al.*, 2009). El diagnóstico serológico se utiliza para evaluar el estado fitosanitario de los semilleros, ya que permite procesar un gran número de muestras en un tiempo reducido. Por lo tanto, resulta esencial evaluar el estado sanitario del material, tanto en la etapa de laboratorio como durante la propagación en campo, mediante métodos diagnósticos adecuados que eviten la diseminación de enfermedades sistémicas y contribuyan a mejorar la productividad del cultivo. La disponibilidad de herramientas de diagnóstico eficientes y de estrategias de manejo efectivas es fundamental para el control de enfermedades y la producción sostenible del cultivo.

En este trabajo se analizan los resultados del diagnóstico molecular realizado en plantas donantes de meristemas y líneas *in vitro*, así como del diagnóstico serológico del material propagado de manera convencional en semilleros Registrados durante los últimos cinco años. Asimismo, se presentan datos sobre la incidencia del raquitismo de la caña soca (RSD) en lotes comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre 2020 y 2024 se analizaron, de acuerdo con procedimientos estandarizados en el laboratorio, las siguientes muestras: i) 349 correspondientes al establecimiento de la colección de plantas madre (EPM); ii) 172 de la colección de plantas madre (PM); iii) 182 de líneas *in vitro* (LI) y iv) 76 de líneas *in vitro* introducidas desde cañaverales comerciales (LIC).

La extracción de ácidos nucleicos totales se realizó mediante el método CTAB con modificaciones (Aljanaibi *et al.*, 1999), y la calidad del material obtenido se evaluó por electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con Gel-

Red. Posteriormente, el gel fue visualizado bajo luz UV ($\lambda = 320$ nm).

Se emplearon dos protocolos utilizando pares de cebadores específicos: a) PCR para la detección de enfermedades bacterianas: raquitismo de la caña soca (RSD, del inglés *raton stunting disease* - *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*) (Sun *et al.*, 2019), escaldadura de la hoja (LS, del inglés *leaf scald* - *Xanthomonas albilineans*) (Pan *et al.*, 1997, 1999) y estría roja (RS, del inglés *red stripe* - *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*) (Li *et al.*, 2017); y b) RT-PCR para la detección de los virus, *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) y *Sorghum mosaic virus* (SrMV) (Yang and Mirkov, 1997), causantes de la enfermedad del mosaico, y del *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV), agente causal del amarillamiento de la hoja (Girard *et al.*, 2012).

Las amplificaciones por PCR se realizaron en un volumen final de 20 μ L, con tampón 1x, 2 mM de MgCl₂, dNTPs 200 μ M para RSD y RS, y 75 μ M para LS, 0,40 μ M de cada cebador para RSD y RS, y 0,20 μ M para LS (Tabla 1), 1 U de Taq ADN polimerasa (5 U/ μ L) para RSD, 1,5 U para LS, 0,5 U para RS y 1 μ L de ADN templado. El volumen final se completó con agua de grado molecular. Las condiciones de ciclado se describen en la Tabla 2.

La amplificación por RT-PCR se inició con la síntesis de la cadena de ADNc en un volumen final de 4,5 μ L, utilizando 2 μ L de ácidos nucleicos totales y 10 μ M del cebador reverso correspondiente (Tabla 1). La mezcla se incubó a 100°C (YL) o a 70°C (MV) durante 5 min, seguida de un enfriamiento a 4°C por 3 min. Posteriormente,

se añadió una mezcla de reacción de 3 μ L que contenía tampón RT 1x, 100 μ M de dNTPs, 10 U de inhibidor de RNAsas y 100 U de transcriptasa reversa M-MLV. La retrotranscripción se realizó a 42°C durante 30 min para MV y a 60°C durante 60 min para YL.

La mezcla de PCR para MV se preparó en un volumen final de 12,5 μ L. Para SCMV: tampón 0,625x, 1,69 mM de MgCl₂, 62,5 μ M de dNTPs, 1,5 μ M del cebador directo (Tabla 1) y 1,75 U de Taq ADN polimerasa (5 U/ μ L). Para SrMV: tampón 0,65x, 0,75 mM de MgCl₂, 65 μ M de dNTPs, 1,58 μ M del cebador directo (Tabla 1) y 1 U de Taq ADN polimerasa (5 U/ μ L). En ambos casos, el volumen de reacción se completó con agua de grado molecular.

La reacción de PCR para YL se realizó en un volumen final de 12,5 μ L, con tampón 0,40x, 1,31 mM de MgCl₂, 25 μ M de dNTPs, 1 μ M del cebador directo (Tabla 1), 1,5 U de Taq ADN polimerasa y agua de grado molecular hasta completar el volumen final.

Las condiciones de ciclado de PCR se detallan en la Tabla 3.

Los productos de amplificación se separaron en geles de agarosa al 1,5% teñidos con bromuro de etidio, y posteriormente se visualizaron bajo luz UV ($\lambda = 320$ nm) (Sambrook *et al.*, 1989).

Para evaluar las condiciones sanitarias de los semilleros Registrados, se determinó la incidencia de RSD y LS mediante diagnóstico serológico. El muestreo consistió en la recolección aleatoria de la parte basal de 20 tallos por hectárea, tomando un tallo por cepa e incluyendo dife-

Tabla 1. Lista de cebadores.

	Cebador	Secuencia (5'-3')	Región diana	Tamaño del amplicón (pb)
Raquitismo de la caña soca	Lxx-F1	CCGAAGTGAGCAGATTGACCAATGAT	ITS	439
	Lxx-R1	ACCCCTGTGTTGTTTCAACGCAGAG		
Escaldadura de la hoja	PGBL1	CTT TGG GTC TGT AGC TCA GG	ITS	288
	PGBL2	GCC TCA AGG TCA TAT TCA GC		
Estría roja	RS-ITS-F1	AGACCCA CCAAATCTCCG	ITS	450
	RS-ITS-R1	GACATCTCCGCTT TCTTCAAG		
Mosaico de la caña de azúcar	SCF4	GTTTTCACCAAGCTGGAACAGTC (Y=C/T)	Región codificante CP	900
	SCR3	AGCTGTGTCCTCTCTGTATTCTC		
Mosaico del sorgo	SrF3	AAGCAACAGCACAAGCAC	Región codificante CP	870
	SrR3	TGACTCTCACCGACATTCC		
Amarillamiento de la hoja	ScYLVf1	GACAGACTCGGCCAGTGGTCGTG	Región codificante CP	219
	ScYLVr1	GTAAGCCATTGTTGAACGCTGCG		

Tabla 2. Condiciones de ciclado de PCR para los protocolos de amplificación.

	Desnaturalización	Ciclos	Extensión
RSD	94°C, 3 min	35 ciclos: 94°C, 30 s; 61°C, 30 s; 72°C, 60 s	72°C, 10 min
LS	95°C, 5 min	40 ciclos: 94°C, 10 s; 57°C, 10 s; 72°C, 30 s	72°C, 2 min
ER	94°C, 3 min	30 ciclos: 94°C, 45 s; 60°C, 30 s; 72°C, 45 s	72°C, 10 min

Tabla 3. Condiciones de ciclado de PCR para los protocolos de amplificación.

	Desnaturalización	Ciclos	Extensión
SCMV	95°C, 5 min; 37°C, 60 s; 72°C, 2 s	35 ciclos: 94°C, 60 s; 54°C, 60 s; 72°C, 2 min	72°C, 7 min
SrMV	95°C, 5 min; 37°C, 60 s; 72°C, 2 min		
SCYLV	94°C, 4 min	35 ciclos: 95°C, 30 s; 63°C, 45 s; 72°C, 60 s	72°C, 10 min

rentes cultivares y edades de caña semilla. Es importante destacar que, para que los patógenos puedan ser detectados por esta técnica, el material vegetal debe tener entre siete y nueve meses de edad, lo que en la provincia de Tucumán corresponde aproximadamente al mes de abril.

Las muestras se analizaron mediante *tissue-blot immunoassay* (TBIA). Para ello, se realizaron impresiones de tejido del centro de cada tallo sobre membranas de nitrocelulosa, siguiendo el método descrito por Davis *et al.* (1994), con modificaciones. Los entrenudos basales se cortaron transversalmente y de la región central se extrajo un cilindro que se presionó sobre una membrana de nitrocelulosa de 0,45 µm. Los complejos antígeno-anticuerpo fijados a la membrana se revelaron utilizando anticuerpos policlonales conjugados con fosfatasa alcalina. Una muestra se consideró positiva cuando se observaba coloración púrpura en al menos una impresión del haz vascular en la membrana, mientras que las muestras negativas no mostraron coloración.

La incidencia se calculó a partir de la relación entre el número de tallos infectados y el total de tallos evaluados. Para estimar la incidencia promedio, se aplicó una media ponderada en función del número de surcos correspondientes a cada cultivar.

Previo a la plantación de caña de azúcar, resulta fundamental evaluar el estado sanitario del lote destinado a semilleros. Con este propósito, la Sección Fitopatología de la EEAOC brinda un servicio de diagnóstico a productores e ingenios, orientado a determinar los niveles de incidencia de RSD. Entre 2020 y 2024 se procesaron 3261 muestras, cada una compuesta por la porción basal de 20 tallos por cada 5 hectáreas. Para cada muestra se calculó el porcentaje de incidencia (número de tallos infectados/número total de tallos × 100). Posteriormente, las muestras se clasificaron en rangos de incidencia de RSD: 0%, >0% ≤5%, >5% ≤10% y >10%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico molecular reveló que el virus del amarillamiento de la hoja (YL) presentó la mayor incidencia y estuvo presente en todos los tipos de muestras analizadas (Figura 1). En EPM, YL alcanzó su máxima incidencia en 2021 y disminuyó significativamente en 2022 y 2023 (Figura 1). En PM, la incidencia se mantuvo baja a lo largo de los años, registrándose el valor más alto en 2024 con un 8,20% (Figura 1). En LIC, YL alcanzó su mayor incidencia en 2022, mientras que en 2023 y 2024 no se detectaron plantas infectadas; un comportamiento similar se observó en LI, con la mayor incidencia en 2022 y un descenso posterior en 2023 (Figura 1). Estudios previos de nuestro grupo demostraron que el virus se encuentra ampliamente distribuido en los cultivares comerciales de Tucumán, y que afecta tanto a plantas sintomáticas como asintomáticas, con un incremento marcado durante la campaña 2020/2021 (Bertani *et al.*, 2023). Estos resultados destacan la importancia de contar con técnicas diagnósticas precisas y de utilizar caña semilla sana como base para implementar estrategias de manejo de enfermedades efectivas en la región.

A pesar de su menor incidencia, también se detectaron SrMV, RS y RSD (Figura 1). Los niveles de incidencia de SrMV fueron bajos en comparación con YL, aunque se registró un incremento significativo en 2022 en EMP. RSD se detectó únicamente en EMP en 2020. En cuanto a estría roja, tanto LI como LIC presentaron una incidencia notable en 2022 (Figura 1).

Todas las muestras positivas para cualquiera de las enfermedades evaluadas son descartadas del esquema de producción del Proyecto Vitroplantas, lo que garantiza la calidad fitosanitaria del material propagado.

El diagnóstico serológico de los semilleros Registrados mostró que la incidencia de RSD se mantuvo

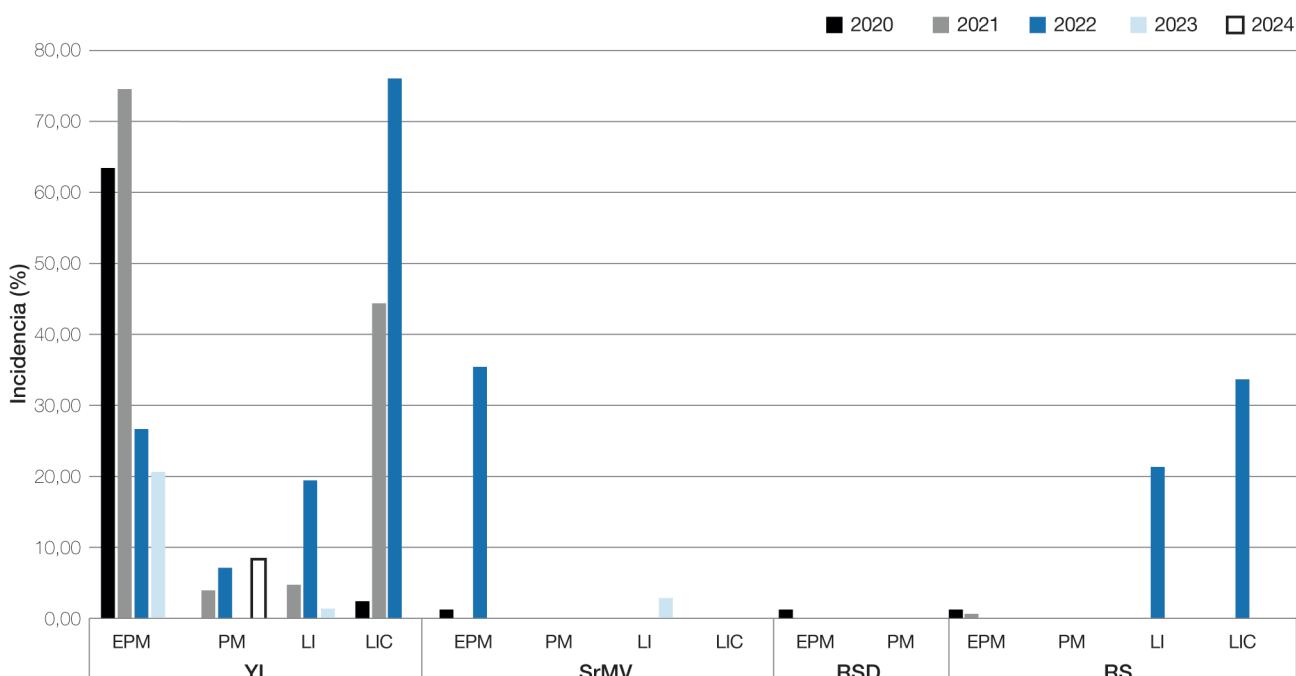


Figura 1. Incidencia promedio de las enfermedades detectadas durante 2020-2024. EPM: muestras para establecer la colección de plantas madre; PM: plantas madre; LI: líneas *in vitro*; LIC: líneas introducidas desde cañaverales. YL: amarillamiento de la hoja; SrMV: virus del mosaico del sorgo; RSD: raquitismo de la caña soca; RS: estría roja.

en niveles bajos, con valores inferiores al 1% en 2021 y menores al 0,5% en los demás años, mientras que la de LS fue inferior al 0,4% en todos los casos (Figura 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos previamente entre 2014 y 2018, período en el cual la incidencia máxima de RSD fue de 0,43% y la de LS alcanzó 0,33% (Joya *et al.*, 2019).

Al analizar la incidencia de las enfermedades por variedad, la mayor incidencia de RSD se registró en LCP 85-384 (0,39%), seguida de TUC 95-10 (0,25%) y TUC 00-65 (0,17%). Respecto a LS, la mayor incidencia se observó en TUC 97-8 (0,51%), seguida de TUC 00-65 (0,18%) y TUC 95-10 (0,16%).

Los semilleros Registrados presentaron muy buenas condiciones sanitarias, con incidencias de RSD y LS por debajo de los umbrales de tolerancia aceptados en Argentina, 1% para RSD y 2,5% para LS (Giardina *et*

al., 2013). Si bien las técnicas moleculares constituyen herramientas altamente específicas, no resultan factibles para analizar el gran volumen de muestras provenientes de semilleros. En este contexto, el diagnóstico serológico se presenta como la alternativa más eficiente, al permitir la obtención de resultados rápidos.

En lo que respecta a los cañaverales comerciales, la Sección Fitopatología de la EEAOC recomienda no utilizar como caña semilla aquellos lotes cuyas muestras presenten un nivel de infección de RSD superior al 5% (Bertani *et al.*, 2024). Al clasificar la incidencia de RSD por rangos, se observó que aproximadamente el 80% de las muestras analizadas resultaron aptas para ser utilizadas como caña semilla (incidencia < 5%). Entre 2020 y 2024 se registró un incremento en la proporción de muestras por debajo de este umbral (Figura 3), lo que respalda la eficiencia del esquema de producción de caña semilla de

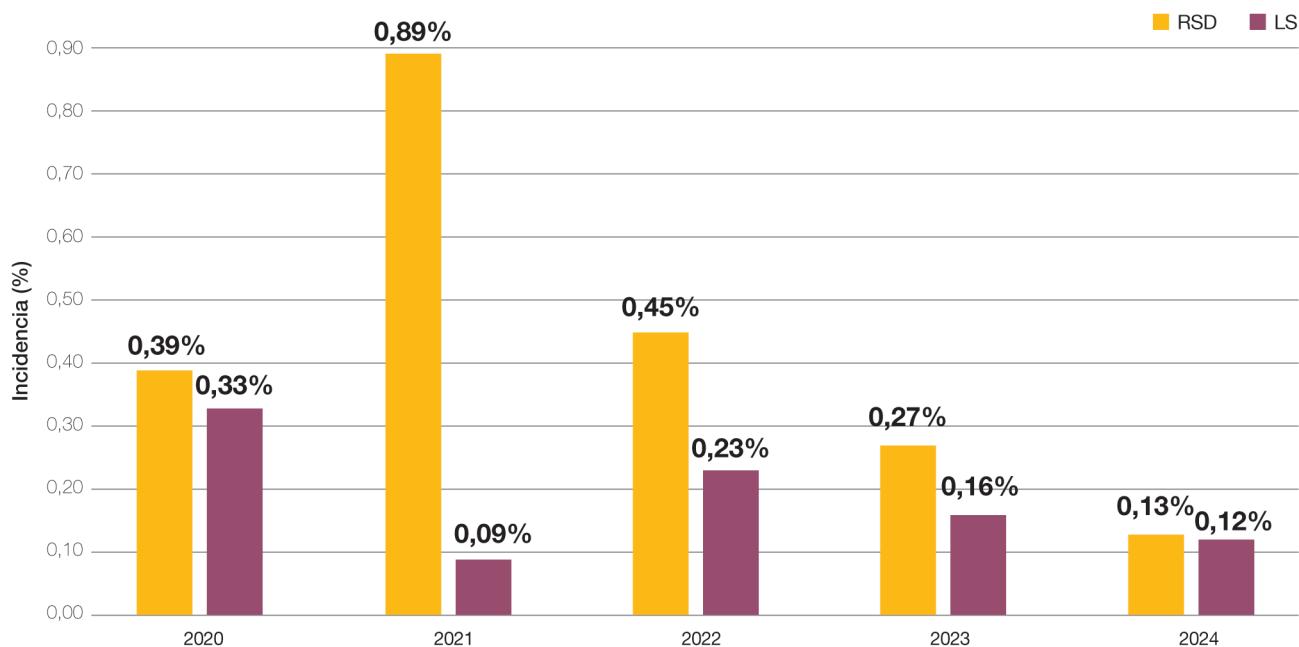


Figura 2. Incidencia promedio de RSD y LS en semilleros Registrados en Tucumán.

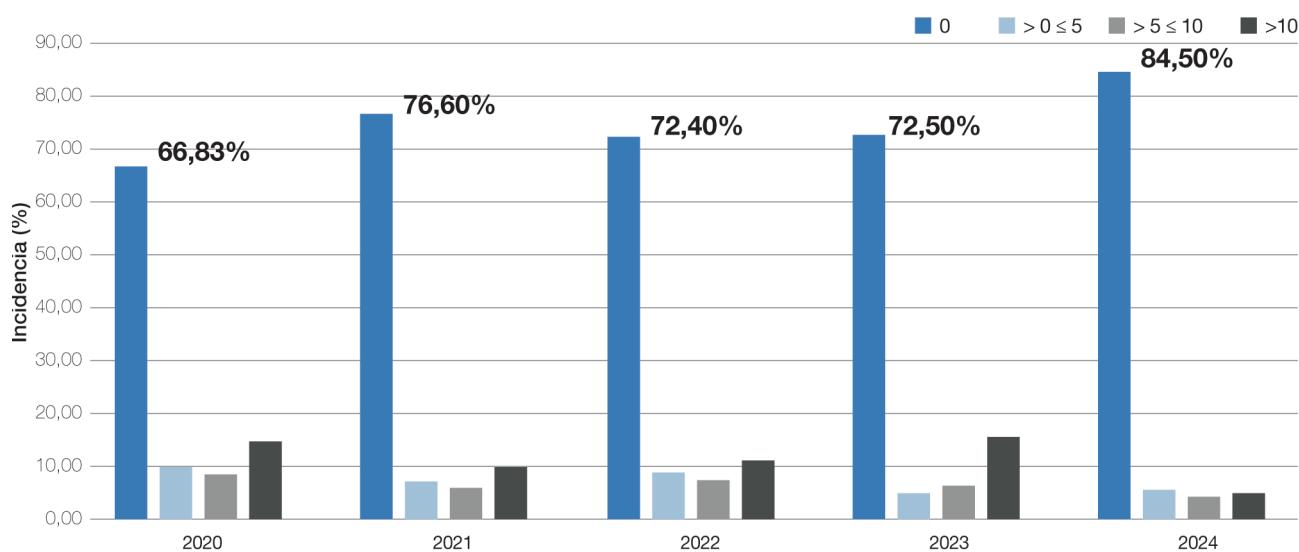


Figura 3. Incidencia promedio de RSD en lotes comerciales en Tucumán.

alta calidad implementado a través del Proyecto Vitroplantas de la EEAOC.

Con estos resultados, los productores pueden identificar y seleccionar de manera confiable cañaverales sanos para destinarlos a nuevos semilleros o para plantación comercial.

Aunque se observa una leve tendencia a la disminución de muestras positivas (Figura 3), es importante enfatizar que el monitoreo rutinario y sistemático resulta esencial. La ausencia de síntomas visibles favorece la utilización de caña semilla infectada, lo que puede conducir a la introducción del patógeno en nuevas áreas de cultivo. En este sentido, la detección correcta y rápida del patógeno en el material de plantación es clave para un manejo efectivo de la enfermedad.

Con un esquema de manejo basado en caña semilla sana, la incidencia de RSD y LS en cañaverales comerciales de Ecuador se redujo del 42% (2001) al 0,02% (2021) (Castillo *et al.*, 2023). De manera similar, en Guatemala, durante 2020-2021, el 94,6% de los semilleros estaban libres de RSD, con un nivel promedio de infección del 0,12% entre los semilleros afectados. Asimismo, el 88% de los semilleros estuvieron libres de LS, con un nivel promedio de infección del 0,30% (García *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

Actualmente, el 74,5% del área de producción de caña de azúcar en Tucumán se encuentra implantada con caña semilla de alta calidad proveniente del Proyecto Vitroplantas de la EEAOC (Henriquez *et al.*, 2023). Nuestros resultados evidencian la adopción progresiva de este esquema por parte de los productores, dado que constituye una herramienta clave de manejo y, al mismo tiempo, facilita la rápida difusión de las nuevas variedades liberadas en los últimos años por la EEAOC.

Asimismo, conocer el estado fitosanitario y realizar una correcta identificación de los fitopatógenos son aspectos esenciales para reducir las pérdidas en el cultivo y asegurar la calidad sanitaria del material de plantación.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Ing. Agr. Victoria González, jefa de la Sección Fitopatología de la EEAOC, por su valioso apoyo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aljanabi, S. M.; L. Forget and A. Dookun. 1999.** An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide and polyphenol free sugarcane DNA. *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 1-8.
- Bertani, R. P.; C. Funes; J. A. Lobo; C. M. Joya and S. Chaves. 2023.** Status of the Sugarcane yellow leaf virus in Tucumán, the main sugarcane-producing area in Argentina. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists* 31: 855-860.
- Bertani, R. P.; J. A. Lobo; L. G. Huiverné; M. A. Monachesi; C. M. Joya y V. González. 2024.** Los desafíos sanitarios de la caña de azúcar en Tucumán durante la campaña 2023/2024. *Reporte Agroindustrial* 314. Sanidad del cultivo de caña de azúcar.
- Castillo, R. O.; E. Silva; J. Mendoza; B. Aucatoma; M. Salazar; F. Garcés; M. Valdez; C. Buenaventura; F. Gualpa; J. Saltos and C. Avellaneda. 2023.** Long-term sustainability in sugarcane production in Ecuador driven by research results. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists* 31: 1109-1115.
- Davis, M. J.; J. L. Dean; J. D. Miller and Jr. J. M. Shine. 1994.** A method to screen for resistance to raton stunting disease of sugarcane. *Sugar Cane* 6: 9-16.
- Digonzelli, P. A.; J. A. Giardina; J. Fernández de Ullívarri; S. D. Casen; J. Tonatto; M. F. Leggio; E. R. Romero y L. G. P. Alonso. 2009.** Caña semilla de alta calidad: obtención y manejo. En: Romero, E. R.; P.A. Digonzelli y J. Scandaliaris (eds.), *Manual del Cañero*. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Las Talitas, pp. 45-56.
- García, S.; M. Catalán y D. Juda. 2021.** Incidencia de patógenos en semilleros de caña de azúcar en la Zafra 2020-2021. CENGICAÑA: Mem. Presentac. Result. Invest. Zafra 2020-2021: 178-185.
- Giardina, J. A.; P. A. Digonzelli; D. Duarte; F. Pérez Alabarce; C. Funes; R. P. Bertani; A. Sánchez Ducca and J. Scandaliaris. 2013.** Planting, distribution of new varieties, and sanitary conditions of registered nurseries in the 2011 season, Tucumán-Argentina. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists* 28: 424-434.
- Girard, J. C.; E. Fernandez; J. H. Daugrois; D. Roques; P. Roumagnac and P. Rott. 2012.** Genetic diversity of Sugarcane yellow leaf virus in a sugarcane selection plot in Guadeloupe (FWI). *Int. Sugar J.* 114 (1358): 96-100.
- Henriquez, D. D.; P. Medina; M. Aybar Guchea; M. F. Figueira; D. D. Costilla; J. V. Díaz; C. Díaz Romero y S. Ostengo. 2023.** Relevamiento de la distribución varietal y del uso de otras tecnologías en el cultivo de la caña de azúcar en la provincia de Tucumán: campaña 2022/2023. *Reporte Agroindustrial* 282. Adopción de tecnología en el cañaveral.
- Joya, C. M.; R. P. Bertani; C. Funes; S. Chaves; D. D. Henriquez; M. F. Perera; A. S. Noguera; V. González; A. P. Castagnaro and P. A. Digonzelli. 2019.** Diagnosis and sanitary status of sugarcane propagation material in different stages of the Vitroplantas Project during 2014/2018. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists*. 30: 470-475.
- Li, X.Y.; H. D. Sun; P. C. Rott; J. D. Wang; M. T. Huang; Q. Q. Zhang and S. J. Gao. 2017.** Molecular identification and prevalence of Acidovorax avenae subsp. avenae causing red stripe of sugarcane in China. *Plant Pathology*. 67: 929-937.
- Pan, Y. B.; M. P. Grisham; D. M. Burner; B. L. Legendre and Q. Wei. 1997.** A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Disease*. 81: 189-194.
- Pan, Y. B.; M. P. Grisham; D. M. Burner; B. L. Legendre and Q. Wei. 1999.** Development of polymerase

- chain reaction primer highly specific for *Xanthomonas albilineans*, the causal bacterium of sugarcane leaf scald disease. *Plant Disease*. 83: 218–222.
- Sambrook, J.; E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989.** Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Sun, S. R.; J. L. Chen; Y. Y. Duan; N. Chu; M. T. Huang; H. Y. Fu and S. J. Gao. 2019.** Improved primers for the specific detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* in sugarcane using a conventional PCR assay. *Plant Disease*. 103: 3251–3258.
- Yang, Z. N. and T. E. Mirkov. 1997.** Sequence and relationships of sugarcane mosaic and sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR-based RFLPs for strain discrimination. *Phytopathology* 87: 932–939. 