

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA- LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**

**DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGIA**



**Evaluación de la agresividad de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 causante de la enfermedad Mal de Panamá en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero**

**Presentado por:**

**Br: Andrea Mercedes Darce Rodriguez.**

**“Trabajo presentado como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero en Agroecología Tropical”**

**Tutor: M.Sc.: Álvaro Caballero.**

**Asesor: M.Sc.: Juan Castellón.**

Mayo del 2013.

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme la sabiduría y fortaleza necesaria para salir adelante.

A Mario Darce, hombre honesto, sabio, único en su género y ejemplo de tenacidad, gracias papá.

A mi madre Zorayda, por su apoyo, sus oraciones y buenos deseos.

A mi hermano Mario Snayder el mejor de los amigos, ser especial que llevo a llenar mi existencia de alegría.

A Orlando Santeliz por su compañía, amor, apoyo, comprensión y por ser un hombre especial que ha llegado a mi vida a llenarla de alegría y constante inspiración.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al proyecto Musáceas de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN- León), que ejecuta proyectos en coordinación con Bioversity Internacional por haber financiado este estudio.

Al M.Sc.: Álvaro Caballero, por ser mi apoyo y orientación así como por compartir sus valiosos conocimientos.

Al M.Sc.: Juan Castellón, por su excelente orientación y contribución durante el desarrollo de la investigación.

Al M.Sc.: Wilberth Salazar responsable del laboratorio de fitopatología, por su ayuda, muchas gracias.

A la profesora de estadística Noelia Cea por su ayuda y apoyo en todo el estudio.

A mi amigo William Blanco por su amistad y ayudarme en todo lo que necesitaba en la investigación.

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
CONTENIDO.....	IV
RESUMEN.....	VIII
INDICE DE TABLAS.....	IX
INDICE DE CUADROS.....	X
INDICE DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS Y SIGLAS.....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
2.1 Objetivo General.....	2
2.2 Objetivos Específicos.....	2
III. HIPÓTESIS.....	3
IV. MARCO TEORICO.....	4
4.1 Historia, Importancia y Distribución del banano en Latinoamérica y el Caribe.....	4
4.2 Descripción Botánica.....	6
4.2.1 Sistema radical.....	6
4.2.2 El ápice radical.....	6
4.2.3 Posición taxonómica y clasificación de clones de bananos comestibles.....	6
4.3 Condiciones Ecológicas del Banano.....	7
4.3.1 Humedad.....	7
4.3.2 Latitud.....	7
4.3.3 viento.....	7

4.3.4 Suelo.....	7
4.3.5 pH.....	7
4.3.6 Macro y Micronutrientes.....	7
4.3.7 Cantidad de materia orgánica.....	8
4.4 Principales enfermedades del cultivo de banano.....	8
4.4.1 Sigatoka negra.....	8
4.4.2 Sigatoka amarilla.....	8
4.4.3 Mal de panamá.....	9
4.4.4 Volcamiento de nematodos fitopatogenos.....	9
4.5 Historia, Importancia y distribución de la enfermedad mal de panamá agente causal <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	9
4.6 Caracterización de las razas de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Cubense</i> .....	9
4.7 Epidemiología de la enfermedad Mal de panamá agente causal <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	10
4.7.1 Ciclo.....	10
4.7.2 Síntomas externos.....	10
4.7.3 Síntomas internos.....	11
4.8 Estrategia de manejo de la enfermedad Mal de panamá agente causal <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	11
4.8.1 Resistencia genética.....	11
4.8.2 Prácticas culturales.....	11
V. MATERIALES Y METODOS.....	12
5.1 Ubicación de la Investigación.....	12
5.2 Material experimental.....	12
5.2.1 Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> . f.sp. <i>cubense</i> raza 1.....	12

5.2.2 Material vegetal.....	13
5.3 Diseño experimental.....	13
5.4 Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> de plantas de bananos enfermas.....	13
5.5 Conservación de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en spenderfor.....	14
5.6 Cultivo y multiplicación de los aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Cubense</i> raza 1 .....	14
5.7 Esterilización de sustrato.....	15
5.8 Siembra en vasos plásticos.....	15
5.9 Preparación de la suspensión de esporas del <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	15
5.10 Bioensayo de Prueba de patogenicidad de la enfermedad Mal de Panamá.....	16
5.10.1 Inoculación de vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) con los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>cubense</i> .....	16
5.10.2 Evaluación de los síntomas externos e internos y parámetros de crecimientos de la enfermedad marchitez por fusarium en las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).....	16
5.11 Metodos estadísticos.....	18
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	20
6.1 Caracterización morfológica de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. cubense</i> .....	20
6.2 Bioensayo: Prueba de Patogenicidad de <i>Foc</i> en las vitroplántulas del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).....	21
6.2.1 Porcentaje de incidencia e índice de síntomas externos e internos de la Marchitez por <i>Fusarium</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	21

6.2.2 Parámetros de crecimientos en los cultivares de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).....	26
VII. CONCLUSIONES.....	27
7.1 Prueba de Patogenicidad.....	27
VIII. RECOMENDACIONES.....	28
IX. BIBLIOGRAFIA.....	29
X ANEXO.....	33

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue seleccionar aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) raza 1 causante de la enfermedad Mal de Panamá de mayor porcentaje de índice de síntomas externos e internos causados en las vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA) y FHIA 17(AAAA). Durante las catorce semanas de evaluación. Los aislamientos de *Foc* fueron recolectados de plantaciones de Gros Michel (AAA) infectadas por la enfermedad Mal de Panamá ubicada en la finca el Triunfo, Comunidad de Monterrey, Departamento de Jinotega, Nicaragua. Durante la doceava semana las vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA) inoculadas con FOC1 presentaron síntomas de infestación de la enfermedad, con un porcentaje de 100% de mortalidad de plántulas de la semana catorce. Sin embargo las vitroplantas de banano de FHIA 17 (AAAA) mostraron daños leves de severidad 40% de los síntomas externos e internos. El porcentaje de incidencia fue de 100% en las vitroplantas de Gros Michel (AAA) al inocularlas con los tratamientos FOC1 y FOC2, no mostrando diferencias significativas. Con respecto al amarillamiento los aislamientos causaron un 30.55% y en la marchitez los aislamientos causaron desde un 41.66% a 44.44% de la enfermedad en las vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA). Y con respecto a la decoloración del cormo fue de 25% en las vitroplantas de Gros Michel (AAA). Reduciendo significativamente los parámetros de crecimiento evaluados en este estudio, aun no habiendo diferencias significativas dentro de las variables de crecimiento evaluadas en las vitroplantas de Gros Michel (AAA). Sobresaliendo las vitroplantas de banano de FHIA 17(AAAA) por la capacidad de resistencia genética mostrada en los estudios de invernadero con respecto a los porcentajes de índice de síntomas externos e internos y los parámetros de crecimientos realizados en esta investigación de la enfermedad Mal de Panamá causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 durante el periodo de las catorce semanas de evaluación. Por lo tanto el establecimiento de plántulas de banano de FHIA 17 (AAAA) en suelos infectados por *Foc* raza 1 en la Comunidades de Monterrey es una alternativa sostenible en los agroecosistemas bananeros donde plantaciones de Gros Michel (AAA) son susceptibles a la enfermedad que están siendo destruidas por completo.



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Virulencia de los aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> raza 1 sobre el porcentaje de índice de síntomas externos (SE) en las variedades de Gros Michel (AAA) y las FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero durante la semana 14.....	22
<b>Tabla 2:</b> Virulencia de los aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> raza 1 sobre el porcentaje de índice de síntomas internos (SI) en las variedades de Gros Michel (AAA) y las FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero durante la semana 14.....	23
<b>Tabla 3:</b> Efecto de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> raza 1 en los parámetros de crecimientos en las cultivares de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAA) en 14 semanas.....	26

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> evaluados en la presente investigación.....	12
<b>Cuadro 2.</b> Escala de evaluación de síntomas provocados por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	13
<b>Cuadro 3.</b> Tratamientos evaluados en la presente investigación.....	17
<b>Cuadro 4.</b> Variables evaluados en el bioensayo de patogenicidad.....	19

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Planta de banano y sus partes (soto,2008).....	6
<b>Figura 2.</b> Protocolo para la preparación de suspensión de esporas de los aislamientos <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza1.....	15
<b>Figura 3.</b> Protocolo para la inoculación de vitroplantas de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17(AAAA) con aislamiento de <i>fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> .....	16
<b>Figura 4.</b> Aislamiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> en potato dextrosa agar al 100% dos semanas después de cultivados.....	20
<b>Figura 5.</b> Estructuras reproductivas de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> observadas al microscopio a) microconidios, b) macroconidios, c) clamidosporas.....	21
<b>Figura 6.</b> Progreso de la agresividad de la enfermedad Mal de Panamá causa por los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> raza 1 en plántulas de Gros Michel (AAA).....	24
<b>Figura 7.</b> Progreso de la agresividad de la enfermedad Mal de Panamá causa por los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> raza 1 en plántulas de FHIA 17 (AAAA).....	25

## **LISTA DE UNIDADES, ABREVIATURAS Y SIGLAS**

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

*PDA: Potato Dextrosa Agar*

*Foc: Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, Mal de Panamá.

FOC1: *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, 1

FOC2: *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*, 2

## I. INTRODUCCION

El banano es planta anual herbácea nativa del sureste de Asia, constituyendo uno de los principales cultivos dentro del sistema de producción agrícola en más de 120 países, principalmente para América Latina y el Caribe donde es un alimento importante en la dieta básica de 400 millones de personas; con una producción de 104 millones de toneladas al año, en aproximadamente 10 millones de ha (FAO 2001; FAO 2004). Pero su rendimiento es devastado por las plagas y enfermedades, siendo una de las más destructivas la marchitez por *Fusarium* causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*)

La marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) es una de las enfermedades más ampliamente distribuidas e históricamente importante en las plantaciones de bananos a nivel mundial (Pérez et ál. 2009). Se calcula en más de 80 000 ha de cultivo del clon de Gros Michel (AAA) fueron destruidas por la raza 1 entre 1890 y mediados de la década los 50 del pasado siglo en América Latina y el Caribe, lo que determino su cambio por clones de subgrupo Cavendish (AAA), base de las exportaciones de banano (Pérez et at 2010).

Actualmente la enfermedad Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) raza 1, se encuentra infestando suelos bananeros de plantaciones de Gros Michel (AAA) establecidos en la comunidad de Monterrey, departamento de Jinotega, Nicaragua. Disminuyendo drásticamente los rendimientos de producción y los beneficios económicos a los productores de Jinotega (Lichtemberg 2010). Por lo que se han tomando medidas químicas para el control de la enfermedad, no obteniendo resultados óptimos para su control, mucho menos reducción de muertes en las plantaciones de Gros Michel(AAA) infestadas por *Foc* (Pocasangre 2009; Lichtemberg 2010). El patógeno *Foc* puede persistir durante 30 años en suelos infectados por las clamidosporas, estructuras de sobrevivencia del fitopatogenos, siendo difícil su manejo (Pocasangre y Pérez 2010).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente la presente investigación tiene la finalidad de evaluar la agresividad de los aislamientos de *Foc* en la variedad híbrida de banano FHIA 17 (AAAA) resistente a la enfermedad en condiciones de invernadero, teniendo en comparación al cultivar de banano Gros Michel (AAA) siendo susceptible a *Foc* raza 1

## II. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la severidad de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 sobre las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el porcentaje de incidencia de la enfermedad Mal de Panamá que presentaron las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.
- Determinar el porcentaje de índice de síntomas externos e internos más agresivo de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* raza 1 en vitroplantas de banano de Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.
- Comparar los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, que redujeron los parámetros de crecimientos en las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.

### III. HIPÓTESIS

- Ha: Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense raza 1 tienen la capacidad de causar síntomas externos e internos severos y muerte por la enfermedad Mal de Panamá en vitroplantas de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.
- Ho: Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense raza 1 no tienen la capacidad de causar síntomas externos e internos y muerte por la enfermedad Mal de Panamá en vitroplantas de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.

## IV. MARCO TEORICO

### 4.1 Historia, importancia y distribución del banano en Latinoamérica y el Caribe.

El banano *Musa* spp., es una planta Monocotiledónea, perteneciente a la familia Musáceas y de orden Escitamiéneas o Zingiberales (Ortiz *et al.* 2001). Banano se aplica a cultivares cuya fruta es de pulpa suave y se come fresca, como el cultivar Gros Michel (AAA) y Cavendish (AAAA) siendo triploides de *Musa Acuminata* pura (AAA) (Soto 2008; León 2000).

Las Musáceas cultivadas pertenecen a la sección de Eumusa siendo un grupo complejo tanto de bananos (*Musa acuminata*, A) como de plátanos (*Musa balbisiana*, B) incluyendo clones (Simmonds 1987; Soto 1990; León 2000; Ortiz *et al.* 2001). El principal factor de variación en plantas *Musa* es la poliploidia, porque son más vigorosas, resistentes, de mayor productividad y de la más amplia adaptación, presentando los siguientes niveles: a) triploides de *Musa acuminata* pura (AAA), son los clones comerciales más difundidos como Gros Michel y grupo Cavendish; b) triploides híbridos AAB o ABB son plátanos de importancia especial en la alimentación de América tropical; c) tetraploides pueden ser AAAA, ABBB, AAAB y AABB siendo clones artificiales y frutos de calidad inferior (Simmonds 1987; Soto 2008; León 2000; Ortiz *et al.* 2001).

El cultivar Gros Michel o Roatán (AAA) es un clon originario de Malasia, cuyo cultivo se extendió por los Trópicos Americanos, y hasta hace pocos años era el banano de mayor Producción: los frutos son grandes y mamelonados en el ápice (León 2000). Por el tamaño del racimo, de los frutos, sus características de sabor y textura superior; se le ha reconocido como el tipo por excelencia para comer como fruta. Pero su cultivo disminuye rápidamente, debido a su alta susceptibilidad a la enfermedad del Mal del Panamá (Ortiz *et al.* 2001). Los bananos del Subgrupo Cavendish Enano y Valery (AAA) son los bananos comerciales que están reemplazando a los cultivares de Gros Michel por su tolerancia a la enfermedad del Mal de Panamá. Sus frutos son grandes, de ápice más redondo que el anterior y de calidad comparable (Soto 2008; León 2000; Ortiz *et al.* 2001).

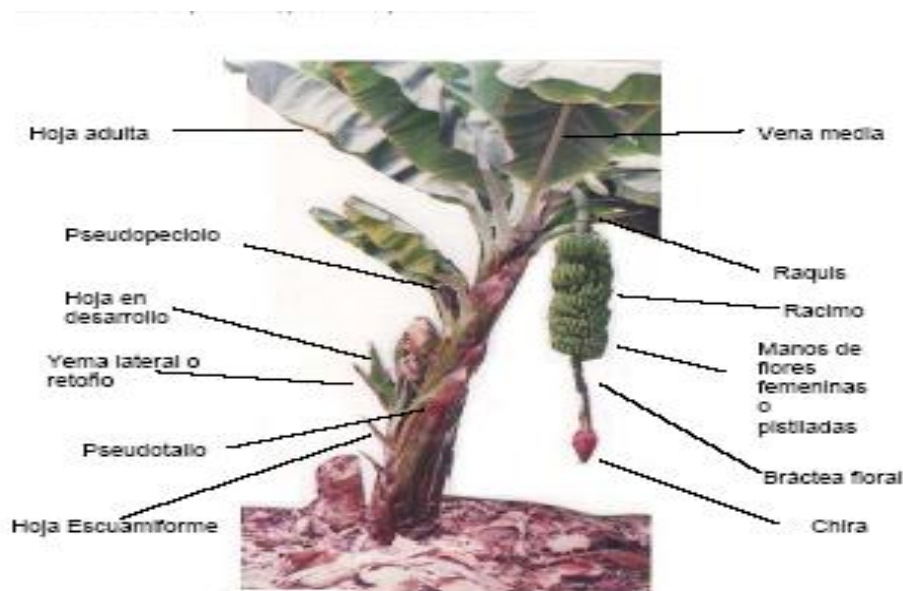


Las condiciones óptimas para el cultivo de banano se dan en las regiones tropicales húmedas y cálidas, donde las plantas presentan un crecimiento continuo, cuya inflorescencia aparece cuando se detiene la producción de hojas y raíces (León 2000; Ortiz *et al.*, 2001). El cultivo de banano se expandió a los trópicos de América, donde la producción aumento de forma creciente donde ha aumentado su conocimiento de la genética, fisiología y producción comercial; siendo los países de exportación Estados Unidos y Europa (León 2000; Ortiz *et al.* 2001; Figura 1). El cultivo de banano se ha establecido en más de 120 países, es el cuarto cultivo alimentario más importante del mundo, después del arroz, el maíz y el trigo; siendo ésta la fruta más exportada del mundo (FAO 2004; FAO 2009).

La industria de banano para exportación en América Latina y el Caribe se basa principalmente en cultivares del Subgrupo Cavendish (AAA). De esta manera el Cavendish suplantó al Gros Michel (AAA) por su resistencia a la Marchites por Fusarium (*Foc*) raza 1 (Soto 2008; FAO 2004). América Latina es la mayor zona exportadora del mundo. Los tres países más destacados son Ecuador, Costa Rica y Colombia (FAO 2004). Los bananos, contribuyen a la seguridad alimentaria de millones de personas en gran parte del mundo en desarrollo (FAO 2004). En Uganda, el consumo anual en 1996 fue de 243 Kg y en Rwanda, Gabón y Camerún osciló entre 100 y 200 Kg (FAO 2004). Asimismo Brasil y la India dedican gran parte de su producción al autoconsumo; sin obviar que pequeños productores de América Latina y el Caribe cultivan actualmente variedades susceptibles a la Marchitez por Fusarium (*Foc*), estas variedades son Gros Michel (AAA), Manzano (AAB), Prata (AAB) y los bananos de cocción tipo Bluggoe (ABB) (Pocasangre 2009). Los cultivares de banano mencionados con anterioridad son los mayor establecimiento en asocio con café y cacao representando los mayores beneficios económico de las familias rurales en América Latina y el Caribe (Pocasangre 2009).

## 4.2 Descripción Botánica

El banano *Musa* spp., es una planta monocotiledónea, perteneciente a la familia Musáceas y de orden Escitamiáceas o Zingiberales. Los bananos y plátanos son plantas herbáceas con pseudotallo aéreos que se originan de cormos carnosos, en los cuales se desarrollan numerosas yemas laterales o hijos. Las hojas tienen una distribución helicoidal y las foliares circundan el tallo dando origen al pseudotallo. La inflorescencia es terminal y crece a través del centro del pseudotallo hasta alcanzar la superficie (Soto 2008 y Simmonds 1962; Figura1)



**Figura 1:** Descripción botánica de la planta de banano. (Soto, 2008 y Simmonds 1962).

**4.2.1 Sistema radical:** El origen y desarrollo de las raíces adventicias es similar al de las raíces laterales, estas inician cerca de los tejidos vasculares y atraviesan todos los tejidos localizados fuera de su punto de origen. Este tipo de raíces pueden generarse de los nudos asociados con yemas axilares o en forma independiente; también pueden desarrollarse entre los entrenudos (Soto 2008 y Simmonds 1962).

**4.2.2 El ápice radical:** Es radical y está protegido por una cofia gelatinosa (Soto 2008) las raíces jóvenes son blancas y suaves; más tarde adquieren un color amarillento y se endurecen ligeramente, aunque permanecen flexibles, y al madurar se tornan oscuras y suberosa (Soto 2008 y Simmonds 19962 ).

### **4.3 Condiciones Ecológicas del Banano**

**4.3.1 Humedad:** Las condiciones óptimas para el cultivo de banano se dan en las regiones tropicales húmedas y cálidas, donde las plantas presentan un crecimiento continuo, cuya inflorescencia aparece cuando se detiene la producción de hojas y raíces (Simmonds 1962). La planta de banano, por su estructura botánica, requiere de una gran disponibilidad de humedad permanente en los suelos. Para la obtención de cosechas económicamente rentables, se considera suficiente suministrar de 100 a 180 mm de agua por mes, para cumplir con los requerimientos necesarios de la planta (Soto 2008 y Stover 1959).

**4.3.2 Latitud:** La planta de banano se sitúa entre los 30° latitud norte y los 30° latitud sur y las mejores condiciones se dan entre los 0° y 15° de latitud norte o sur y su altitud límite es de 300 msnm, indispensable para su desarrollo y cosecha (Soto 2008 y Simmonds 1962)

**4.3.3 Viento:** El viento produce distorsiones en el sistema foliar con reducción en la producción de frutas, cuando las velocidades son altas, las plantas se vuelcan por desraizamiento o ruptura del pseudotallo (Soto 2008). En aéreas sometidas a vientos, se recomiendan el uso de tapa vientos, tales como: cortinas de bambú, musa textiles entre otras que al cortar los vientos, minimizan las pérdidas (Soto 2008 y Stover 1959).

**4.3.4 Suelo:** El cultivo de banano se asienta en los más variados suelos del mundo, dependiendo del tipo de explotación de los cultivos, los suelos pueden ser arenosos o compactos (Soto 2008 y Simmonds 1959).

**4.3.5 PH:** Este se acepta en una reacción ligeramente ácida de 7 en la escala de Sorensen (Soto 2008). Si se encuentra mayor grado de acidez a utilizar en el cultivo de banano debemos cuidar que el pH no sea más bajo del que hemos señalado, ya que la acidez solubiliza los macro elementos y mucho de los elementos menores (Soto 2008 y Simmonds 1959).

**4.3.6 Macro y Micronutrientes:** entre los macro nutrientes o macro elementos (nitrógeno, fósforo y potasio) y los micronutrientes o micro elementos (oxígeno, hidrógeno y carbón) estos tienen lugar al crecimiento y mantenimientos de las plantas, así como el desarrollo de sus frutos (Soto 2008 y Stover 1959). La ausencia de estos elementos en el suelo da lugar a enfermedades llamadas de carencias que pueden ser de nitrógeno, de fósforo, potasio,

hierro, cobre, magnesio y azufre (Soto 2008 y Stover 1959). Al contrario el exceso de la solubilidad de un corto numero de micro elementos produce intoxicación (Soto 2008).

**4.3.7 Cantidad de materia orgánica:** Es uno de los componentes imprescindible de los suelos agrarios, el humus ha sido reducido a partículas o fracciones coloidales capaces de entrar en soluciones en medios alcalinos (Soto 2008 y Simmonds 1962).

#### **4.4 Principales enfermedades del cultivo de banano**

Entre las principales enfermedades del cultivo del banano se destacan:

**Sigatoka negra** (*Miscopharella fijiensis* M)

**Sigatoka amarilla** (*Miscopharella musicola*)

**Mal de Panamá** (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*)

**Volcamiento por Nematodos fitopatógenos** (*Radhophulus similis* Cobb)

**4.4.1 Sigatoka negra** (*Miscopharella fijiensis* M): El agente causal es el hongo Ascomycete llamado *Mycosphaerella fijiensis*, el cual se produce en forma sexual y asexual durante su ciclo de vida (Davis 2005). La fase asexual se presenta en el desarrollo de las primeras lesiones de la enfermedad, pizca, mancha, en donde se observó la presencia de un número relativamente bajo de conidióspora (estructura donde se producen las esporas asexuales llamadas conidios) que salen de los estomas, principalmente en la superficie inferior de la hoja (Soto 2008 y Stover 1959).

**4.4.2 Sigatoka amarilla** (*Miscopharella musicola*): La Sigatoka amarilla o Sigatoka común, es una enfermedad causada por el hongo *Mycosphaerella musicola*. Los principales cultivares comerciales de bananos en el país son afectados por este patógeno, los del subgrupo Cavendish, subgrupo Morado y los clones "titiaro" ' y 'cambur manzano' son susceptibles'; mientras que los plátanos son resistentes. Esta enfermedad de las hojas de los bananos se presenta en todas las regiones del mundo donde crece este cultivo y es conocida con muchos nombres comunes, tales como "candelilla" de la hoja, "quemazón" del follaje, "mancha cercóspora", "mancha por pseudocercóspora.

**4.4.3 Mal de Panamá** (*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*): La marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (FOC) es una de las enfermedades más destructivas en las musáceas y causantes de grandes pérdidas económicas en la mayoría de los países donde se cultivan Musáceas (Simmonds 1987., Ploetz 1989; Pocasangre 2009).

#### **4.4.4 Volcamiento por Nematodos fitopatogenos** (*Radhophulus similis* Cobb)

El daño que causa esta enfermedad consiste en la destrucción de las raíces secundarias siguiendo el ataque de las raíces principales y en algunos casos hasta la penetración en el rizoma, causando la necrosis de la zona afectada.

#### **4.5 Historia, Importancia y Distribución de la enfermedad Mal de Panamá agente causal *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* raza 1**

El Mal de Panamá fue descrito por primera vez en Australia en 1874 (Bancroft 1876) y posteriormente fue reportado en Costa Rica y Panamá (1890), Suriname (1906), Cuba, Puerto Rico, Jamaica y América Central (1910), La India (1911) y Colombia (1954). En la actualidad esta enfermedad se encuentra en las áreas donde se cultiva banano a excepción de las Islas del Pacífico Sur incluyendo Papúa Nueva Guinea y las Islas de Borneo, Somalia y países bordeados por el Mediterráneo (Simmonds 1987).

Es importante destacar que en Costa Rica, el Mal de Panamá es la principal enfermedad presente en los sistemas de producción orgánica, donde se cultiva la variedad Gros Michel en asocio con café y cacao.

#### **4.6 Caracterización de las razas de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense***

*Fusarium oxysporum f. sp. cubense* afecta las especies de *Musa* y *Heliconia*; sus cepas se han clasificado en cuatro razas fisiológicas basándose en su poder patógeno sobre los cultivares hospedantes:

La raza 1 ataca a Gros Michel (AAA), Silk, Pome y Lady Finger (AAB), Pisang Awak (ABB) y Maqueño (AAB).

La raza 2 ataca a los bananos de cocción tipo Bluggoe y clones (ABB) estrechamente relacionados (Waite 1977).

La raza 3 afecta principalmente a *Heliconia* spp. (Waite 1977).

La raza 4 ataca al subgrupo Cavendish (AAA) y a todos los cultivares susceptibles a la raza 1 y raza 2 del patógeno (Ploetz 1990, Ploetz 1994b)

#### **4.7 Epidemiología de la enfermedad Mal de panamá agente causal *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

##### **4.7.1 Ciclo**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* puede permanecer en residuos de banano infectados en forma de clamidiosporas, las cuales germinan estimuladas por secreciones radicales de las raíces de plantas hospederas y no hospederas o por el contacto con tejido sano de un cultivar susceptible. Micelio y conidios son producidos luego de 6 a 8 horas y nuevas clamidiosporas después de 2 a 3 días (Stover 1968). El hongo penetra a la planta a través de las raíces terciarias pero no por las raíces principales, a menos que haya exposición del cilindro central. A continuación, pasa al sistema vascular del rizoma y pseudotallo e invade los vasos del xilema; el hongo produce conidios los cuales son llevados a lo largo de los haces vasculares donde inician nuevas zonas de infección, ocasionando su obstrucción y como consecuencia el movimiento del agua y nutrientes se reduce.

##### **4.7.2 Síntomas externos:**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causa marchitez en la planta, necrosis y pudrición de las raíces, rizomas y vasos del pseudotallo (Pérez 2004). Los primeros síntomas son la aparición de estrías verdes pálidas en la base del pecíolo y la decoloración rojiza de los vasos debajo de la epidermis del pecíolo dos semanas antes de iniciar los síntomas típicos.

A medida que avanza la enfermedad se presenta un amarillamiento de las hojas más viejas a lo largo del margen foliar y continúa hacia la nervadura central hasta quedar completamente seca y de color café (Stover 1959). Todas las hojas se agobian y se marchitan en la unión del pecíolo con el pseudotallo quedando colgadas, el pseudotallo pueden permanecer de pie por 1 o 2 meses (Brandes 1919; Stover 1962). En las plantas con activo crecimiento puede observarse una rajadura del pseudotallo a nivel del suelo (Brandes 1919; Stover 1962; Thurston 1989; Pérez 2004; Figura 4).

### **4.7.3 Síntomas Internos:**

Los primeros síntomas internos de la enfermedad se producen en las raíces, moviéndose al rizoma en los límites de la corteza y el cilindro central donde hay mayor área vascular, observándose estrías necróticas, oscuras o azuladas sobre un fondo blanco (Wardlaw 1961; Stover 1962; Stover y Simmonds 1987; Figura 4).

## **4.8 Estrategias de manejo de la enfermedad Mal de Panamá agente causal *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* raza 1**

El Mal de Panamá se encuentra entre las enfermedades de más difícil manejo (Ploetz 2004); no existen medidas de control químico efectivas (Getha y Vikineswary 2002, Pérez 2004, Ploetz 2006). Sin embargo, existen algunas prácticas culturales que a través de la creación de ambientes desfavorables para el patógeno, pueden evitar el desarrollo y la propagación de la enfermedad. Asimismo, el uso de antagonistas en la supresión de *Foc* ha sido reconocido como una alternativa al manejo de esta enfermedad (Getha y Vikineswary 2002, Pérez *et al.* 2003).

### **4.8.1 Resistencia Genética**

La utilización de genotipos resistentes y tolerantes al patógeno constituye la manera más efectiva, económica y práctica de combatir la enfermedad (Seshu *et al.* 1998). Varios estudios han centrado sus esfuerzos en la búsqueda de fuentes naturales de resistencia al patógeno en especies y cultivares silvestres; a través de la utilización de herramientas biotecnológicas se han seleccionado plantas de banano *in vitro* tolerantes al Mal de Panamá (Morpurgo *et al.* 1994, Matsumoto *et al.* 1999, Cárdenas 2001

### **4.8.2 Prácticas culturales**

. La utilización de plantas libres del patógeno provenientes de cultivo de tejidos constituye una buena estrategia para evitar la diseminación del patógeno, sin embargo, en suelos contaminados por *Fusarium*, las vitroplantas son más susceptibles que las plantas provenientes de cormos (Smith 1998). Medidas cuarentenarias y la eliminación de plantas enfermas también son prácticas efectivas que impiden el movimiento de material infectado hacia áreas limpias (Seshu *et al.* 1998).

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Ubicación geográfica de la investigación

Esta investigación se realizó tomando muestras en Monterrey, departamento de Jinotega en la finca el Triunfo propiedad del señor Ronnier Rolando González. La siembra y cultivo de *Foc* se realizó en el laboratorio de fitopatología de la UNAN-LEÓN. Ubicado en la parte este de la ciudad de León a 1.5 Km carretera a la Ceiba y posteriormente el bioensayo de Patogenicidad fue en el Jardín Botánico de la UNAN-León ubicado a 1.5 Km del Politécnico La Sallé. Esta zona se caracteriza por presentar una temperatura mínima de 25° C y una temperatura máxima de 39° C, con altitud de 90 msnm y precipitaciones anuales de 1200 mm.

### 5.2 Material experimental

#### 5.2.1 Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*

Se utilizaron dos aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) correspondientes a la raza 1 extraídos, purificados y rotulados de plantas enfermas del cultivar susceptible Gros Michel (AAA). Los aislamientos FOC1 y FOC2, fueron recolectados en el Departamento de Jinotega, Nicaragua en diciembre 2001. (Cuadro 1.)

**Cuadro 1.** Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* evaluados en la presente investigación

Aislamiento	Código	Procedencia
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	<i>Foc</i> 1	Finca el Triunfo, Jinotega
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	<i>Foc</i> 2	Finca el Triunfo, Jinotega



### 5.2.2 Material vegetal

Se utilizaron vitroplántulas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) provenientes de cultivos de tejidos con ocho a doce semanas de aclimatación en invernadero. Estas plantas fueron obtenidas del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua (UNA).

### 5.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloque completamente al azar, el estudio consistió con 3 tratamientos y tres repeticiones para un total de 36 unidades experimentales, con dos Niveles, Nivel A variedad Gros Michel y Nivel B variedad FHIA 17. (Cuadro 2.)

**Cuadro 2:** Tratamientos evaluados en la presente investigación

Tratamientos			
Gros Michel		FHIA 17	
Nombre del tratamiento	Abreviatura	Nombre del tratamiento	Abreviatura
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> 1	FOC1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> 1	FOC1
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> 2	FOC2	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i> cubense</i> 2	FOC2
Testigo	Testigo	Testigo	Testigo

### 5.4 Aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* de plantas de banano enfermas del cultivar de Gros Michel (AAA)

En sectores ubicados alrededor de la finca del Triunfo, Jinotega, Nicaragua, se colectaron muestras de tejido vegetal del pseudotallo con distancias de 50 cm, 100 cm y 150 cm del tallo en forma de espiral de plantas enfermas de banano del cultivar Gros Michel (AAA). Las muestras fueron obtenidas de plantas enfermas de Gros Michel (AAA) y fueron colocadas por separado en bolsas plásticas con su correspondiente identificación. Posteriormente fueron transportadas al Laboratorio de Fitopatología de la (UNAN-León) donde se aplicaron los protocolos de aislamiento, purificación y multiplicación de *Fusarium oxysporum* f. sp.  *cubense* raza 1.

Las muestras de tejido vegetal infestadas fueron cortadas en segmentos e inmediatamente fueron lavadas con agua durante tres minutos con agitación constante para remover impurezas adheridas. Posteriormente, bajo condiciones asépticas en la campana de flujo vertical, se esterilizó la superficie de cada segmento, para lo cual se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% durante tres minutos con agitación constante y seguidamente se hicieron tres lavados con agua destilada esterilizada por tres minutos en cada ocasión. Los segmentos fueron colocados en papel toalla para eliminar el exceso de agua. Cinco segmentos fueron colocados por cada plato Petri de 9 cm de diámetro que contenía *Potato Dextrosa Agar* (PDA) al 10% suplementado con ácido láctico al 85% para prevenir el crecimiento de bacterias. Los platos fueron sellados con *parafilm* y almacenados a 24 °C por tres días.

El micelio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* desarrollado en los segmentos de tejido vegetal fue subcultivado en platos Petri con PDA al 100% y posteriormente estos fueron sellados y almacenados por 7 días a 24 °C. Los aislamientos recolectados fueron identificados con los códigos FOC1 y FOC2.

### **5.5 Conservación de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en Spenderfor.**

Los aislamientos de *Foc* recolectados fueron almacenados en tubos de conservación en Spenderfor, para lo cual se inocularon asépticamente los tubos de conservación con colonias de cultivos puros de los aislamientos de *Foc*. Los tubos inoculados fueron almacenados en una refrigeradora marca mabe a - 20 °C.

### **5.6 Cultivo y multiplicación de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

Los aislamientos de *Foc* fueron cultivados en PDA al 100%, para lo cual se extrajeron papel filtro impregnadas con colonias de cultivo puro del hongo. Los papeles filtros fueron inoculados en platos Petri que contenían el PDA y a continuación cada plato fue sellado con *parafilm* y almacenado a 24 °C por dos semanas. Posteriormente se realizó la multiplicación de los aislamientos de *Foc*, para lo cual se tomó una porción de micelio y se pasó a platos Petri que contenían PDA. Los platos se almacenaron a 24 °C en una incubadora por dos semanas.

### 5.7 Esterilización del sustrato

Se esterilizo un saco de arena y un saco de tierra, en una autoclave a 120 °C durante 45 minutos esterilizando primero los sacos plásticos, para que la tierra o arena no fueran contaminadas, luego se tomaron bolsas plásticas para llenarlas de tierra y arena e introducir las a la autoclave para su esterilización y una vez esterilizado el sustrato se deposito en los sacos plásticos ya esterilizados.

### 5.8 Siembra en vasos plásticos

Una vez que la tierra y la arena estaban esterilizadas se procedió a mezclarla en proporciones de 1:1 para colocarlas en vasos plásticos nuevos de 250 ml y sembrar las plantas. Los vasos plásticos se llenaron con la mezcla y posteriormente se rotularon y se ubicaron en el correspondiente lugar ya determinado en el estudio.

### 5.9 Preparación de la suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

La suspensión de esporas se realizó con cultivos de *Foc* de dos semanas de crecimiento en PDA al 100%. A cada plato Petri se agregaron 20 ml de agua y con la ayuda de una espátula plástica se removieron las esporas y el micelio, la solución obtenida se filtró en un *beaker* por medio de una gasa para separar el micelio de las esporas y se llevó a un volumen de 100 ml. Se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonias (ufc) utilizando un hematocímetro de Neubauer en un microscopio Olympus BH2 con aumento 40x y finalmente la solución se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml (Figura 2)



**Figura 2.** Protocolo para la preparación de suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

## 5.10 Bioensayo de Prueba de patogenicidad de la enfermedad Mal de panamá

El efecto de dos aislamientos de *Foc* sobre vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) fue evaluado a través de una prueba de patogenicidad en condiciones de invernadero.

### 5.10.1 Inoculación de vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) con los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* raza 1.

Vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17(AAAA) de ocho a doce semanas de aclimatación en invernadero fueron inoculadas con suspensiones de esporas de los aislamientos de *Foc*. La inoculación se realizó sumergiendo el sistema radical de las vitroplantas en una suspensión de *Foc* a una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml durante 30 minutos y posteriormente se trasplantaron en contenedores plásticos de 250 ml con una mezcla esterilizada de tierra y arena en una proporción de 1:1. Se estableció un testigo absoluto que consistió en vitroplantas sin inoculación de *Foc*, Se realizaron seis repeticiones por cada tratamiento, las cuales se distribuyeron al azar en el invernadero, donde permanecieron catorce semanas a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C (Figura 3).

**Figura 3.** Protocolo para la inoculación de vitroplantas de banano con aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*



### 5.10.2 Evaluación de los síntomas externos e internos y parámetros de crecimientos de la enfermedad marchitez por fusarium en las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).

El período de incubación se determinó cuando se presentó la primera planta con síntomas externos característicos de la enfermedad. La incidencia de la enfermedad se calculó por el número de plantas que presentaron síntomas de la enfermedad y se expresó en porcentaje

de plantas enfermas. Las evaluaciones se realizaron una vez por semana hasta el término del ensayo.

La severidad de la enfermedad se evaluó por el grado de daño expresado tanto en síntomas externos como internos, los cuales fueron estimados visualmente según la escala propuesta por Orjeda (1998) (Cuadro 2). Los síntomas externos se evaluaron cada semana mientras que los internos se tomaron al finalizar el ensayo, para lo cual las plantas fueron sacrificadas y se realizaron cortes longitudinales a nivel del cormo.

Adicionalmente se midieron variables de crecimiento de las plantas; número de hojas por planta, altura de planta, diámetro del pseudotallo, largo y ancho de la tercera hoja e índice foliar (Cuadro 2). Estas, se evaluaron cada semana hasta el término del ensayo. Finalmente se tomó el peso radical, foliar y total de la planta (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Escala de evaluación de síntomas provocados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

<b>Síntomas externos</b>			
<b>Valor</b>	<b>Amarillamiento</b>	<b>Marchitez</b>	<b>Síntomas internos</b>
1	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas
2	Amarillamiento en hojas viejas	Marchitez en hojas viejas	Puntos aislados de decoloración en el tejido vascular
3	Amarillamiento en hojas bajas	Marchitez en hojas bajas	Decoloración de hasta 1/3 del tejido vascular
4	Amarillamiento en hojas jóvenes	Marchitez en hojas jóvenes	Decoloración de entre 1/3 y 2/3 del tejido vascular
5	Severo amarillamiento	Severa marchitez	Decoloración mayor a los 2/3 del tejido vascular
6	Muerte de la planta	Muerte de la planta	Decoloración total del tejido vascular

Fuente: Orjeda (1998)

### 5.11 Métodos estadísticos

Se procedió a realizar un análisis de varianza ANDEVA de las variables de los parámetros de crecimiento (Cuadro 3); posteriormente la media de cada uno de los tratamientos fueron comparada con una prueba de rango de DUNCAN, presentándose estos datos en tablas de porcentaje, esto se realizo por medio del programa estadístico SSPS 19.

Catorce semanas después del inicio del experimento, se evaluaron los síntomas internos de la enfermedad Mal de Panamá (Cuadro 3), utilizando la escala de Orjeda 1998. Y posteriormente se calcularon los porcentajes de índices de síntomas externos (amarillamiento y marchitez) e internos (decoloración del cormo). Estos porcentajes realizados en el programa Excel.

El porcentaje de índice de síntomas externos e internos fue calculado usando la formula descrita por Saravanan *et al.* (2003).

$$\% \text{ I Síntomas} = \frac{\text{Suma total de coeficientes numéricos} \times 100}{\text{Número de plantas observadas} \times \text{valor máximo de categoría en la escala}}$$

Con respecto al porcentaje de incidencia fue calculado usando la formula descrita por Subramaniam *et al.* (2006)

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de plantas enfermas por } Foc \times 100}{\text{Número total de plantas evaluadas}}$$

**Cuadro 4.** Variables evaluadas en el bioensayo de patogenicidad en las vitroplantulas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17(AAAA).

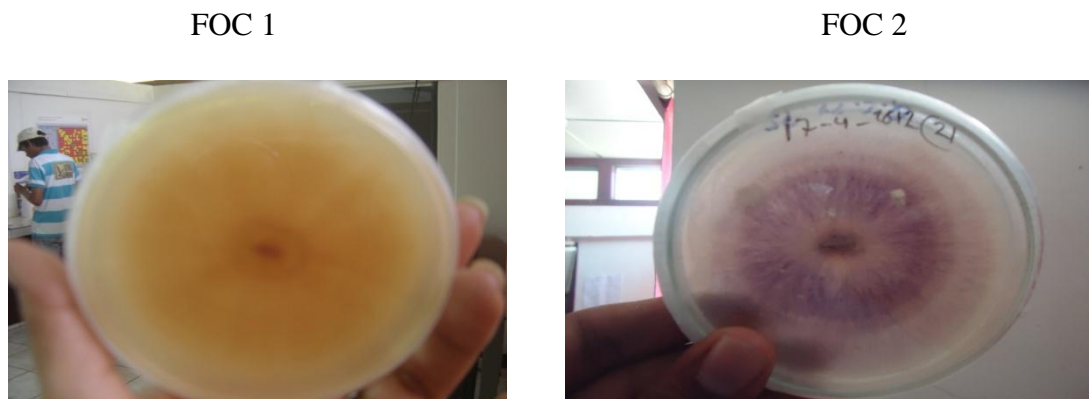
Bioensayo	Variables
Prueba de patogenicidad	<p><b>Incidencia</b></p> <p><b>Severidad</b></p> <p>Amarillamiento</p> <p>Marchitez</p> <p>Decoloración del cormo</p> <p><b>Crecimiento de la planta</b></p> <p>Numero de hojas</p> <p>Altura de la planta</p> <p>Diámetro del pseudotallo</p> <p>Largo de la tercera hoja</p> <p>Ancho de la tercera hoja</p> <p>Índice foliar</p> <p>Peso radical de la planta</p> <p>Peso foliar de la planta</p> <p>Peso total de la planta</p>

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 Caracterización morfológica de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1

Todos los aislamientos de *Foc* presentaron abundante micelio con apariencia algodonosa; sin embargo, la coloración de las colonias varía entre ellos. Los aislamientos FOC1 presento pigmentación rosada blanquizca mientras FOC2 exhibió tono violeta intenso (Figura 4). Estos 2 aislamientos produjeron olores aromáticos y por tanto fueron clasificados en el grupo Odoratum según Waite 1977; Ploetz 2005. Estos resultados concuerdan con la investigación realizada por Lara 2009 el cual clasifico los aislamientos *Foc* raza 1 extraídos de plantas enfermas de Gros Michel en el grupo de Odoratum siendo 9 aislamientos clasificados en este grupo.

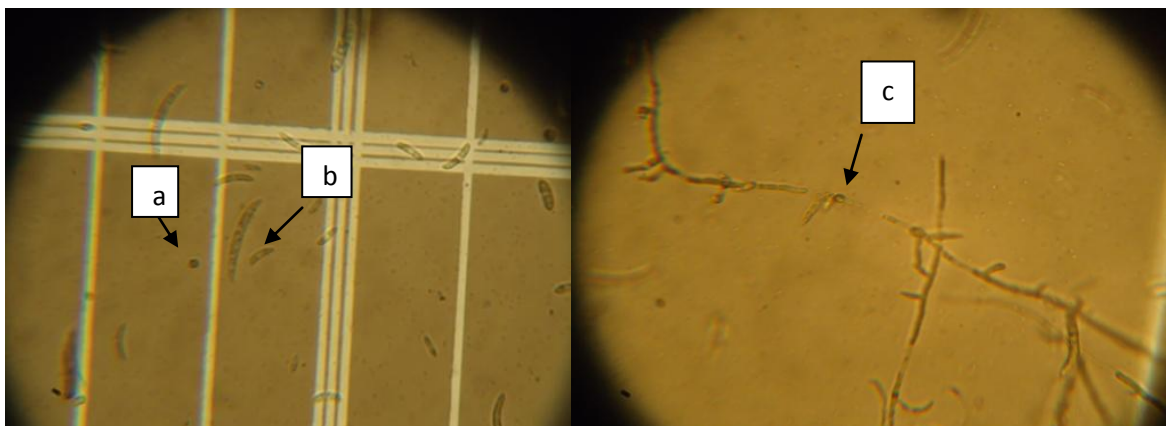
**Figura 4.** Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en *Potato Dextrosa Agar* al 100% dos semanas después de cultivados.



La forma y tamaño de las esporas fueron similares entre los dos aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1. Los macroconidios presentaron formas curvadas y tres septas bien definidas; los microconidios presentaron formas ovaladas y carecen de septas. Con respecto a sus dimensiones apicales fueron curvadas y las dimensiones basales fueron puntiagudas; las clamidiosporas presentaron formas redondeadas con doble pared celular (Figura 5). Esto concuerda con Waite 1977; Ploetz 2005 y Lara 2009.



**Figura 5.** Estructuras reproductivas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* observadas al microscopio a) microconidio, b) macroconidio, c) clamidiospora



## **6.2 Bioensayo: Prueba de Patogenicidad de *Foc* en las vitroplántulas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA)**

### **6.2.1 Porcentajes de Incidencia e Índice de Síntomas externos e internos de la Marchitez por *Fusarium* f. sp. *cupense* raza 1.**

Se presenta el 100% de incidencia de la enfermedad Mal de Panamá (*Foc*) al cabo de la semana 14 en las plántulas de banano de Gros Michel (AAA), con respecto a los dos aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* raza 1 (Figura 6 y 7). Esto concuerda con Lara (2009) al alcanzar a la doceava semana total infestación de FOC, ella evaluó 1 variedad Gros Michel (AAAA) mientras en esta investigación se evaluaron 2 variedades Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).y los valores más altos en los porcentajes de índices de síntomas externos sobresaliendo con 44.44 % de amarillamiento y 30.55% de marchitez del aislamiento FOC2 en las vitroplantulas de banano de Gros Michel (AAA), presentando su mayor agresividad en esta variedad (Tabla 1). Estos datos concuerda con T. Saravanan *et al.* (2007), donde presenta datos que alcanza entre 26 % y 60 %.

Así mismo, presenta su mayor agresividad en el porcentaje de índice de síntomas internos con 25% de la decoloración del corno y reducción del peso fresco total de la variedad de Gros Michel (AAA) (Tabla 1).

Con respecto a las plántulas de FHIA 17 (AAAA) sus porcentajes de índice de síntomas externos son iguales a los testigos absolutos, no mostrando diferencias en el amarillamiento y marchitamiento (Tabla 1). Sin embargo, en el porcentaje de índice de síntomas internos la decoloración del corno es de 19.40% de afectación con el tratamiento FOC1, (Tabla 1) siendo leve esta afectación, ya que los valores de peso fresco total en las vitroplantulas de banano de FHIA 17 (AAA) son de 73 gramos en el tratamiento FOC2 y de 76 gramos de peso fresco total en el tratamiento de FOC1. A diferencia de Gros Michel (AAA) con un peso entre 41 y 61 gramos de peso fresco en los tratamientos de FOC1 y FOC2.

Además, las vitroplantulas de banano de FHIA 17 (AAAA) presenta un porcentaje de incidencia de 40% en la semana 14 de evaluación con los tratamientos FOC1 y FOC2, con presencia de las hojas bajas en la estructura foliar de las vitroplantulas. Pero no fue significativo al cabo de ver su efecto en los porcentajes de índice de síntomas externos e internos de la enfermedad.

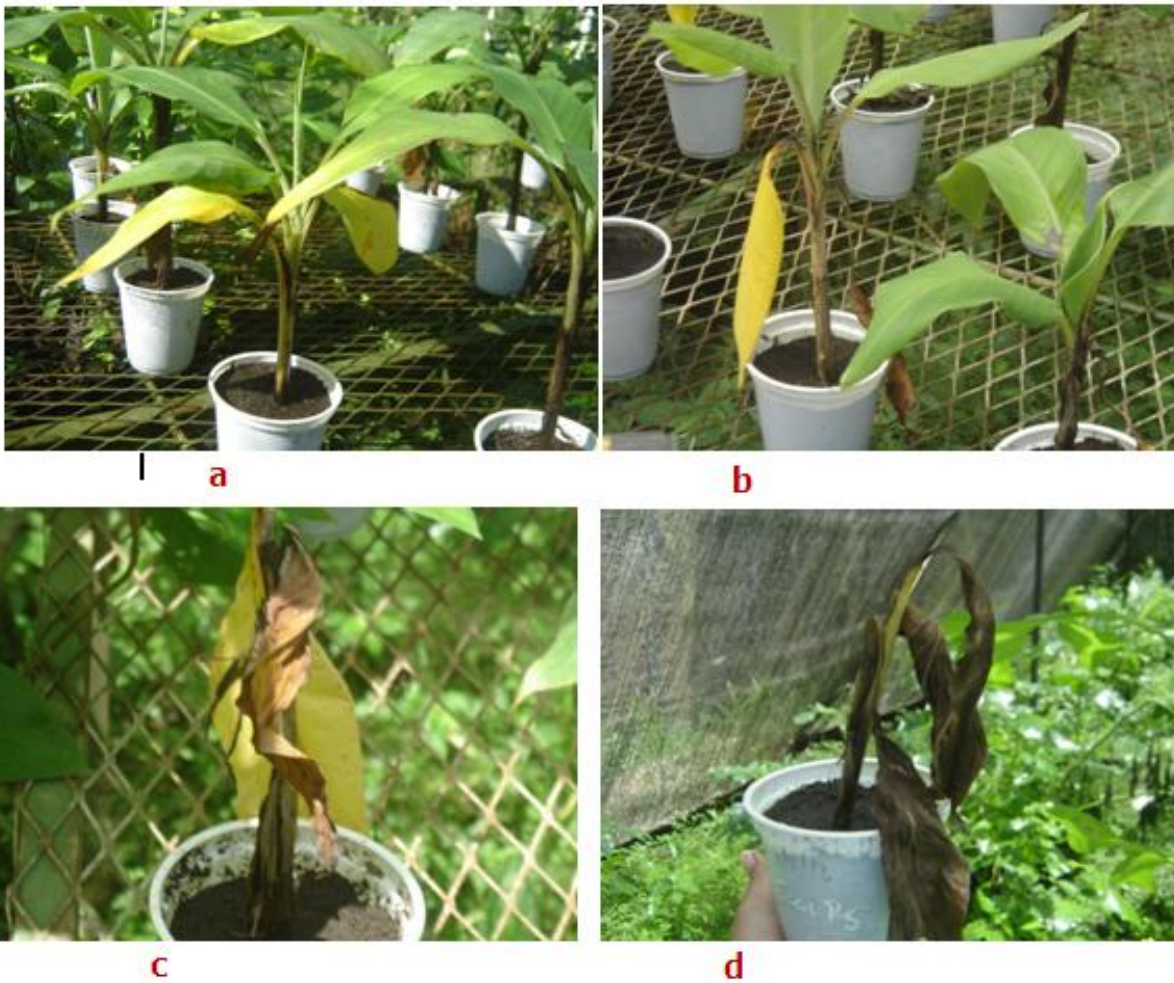
**Tabla 1.** Virulencia de los aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 sobre el porcentaje de índice de síntomas externos (SE) en las variedades de Gros Michel (AAA) y las FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.

Variedad	Tratamientos	Marchitez				Amarillamiento			
		Sem.1 a Sem.11	Sem.12	Sem.13	Sem.14	Sem.1 a Sem.11	Sem.12	Sem.13	Sem.14
Gros Michel	FOC1	16.66	27.77	30.55	30.55	16.66	30.55	41.66	41.66
	FOC2	16.66	27.77	30.55	30.55	16.66	38.88	41.66	44.44
	Testigo	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
FHIA 17	FOC1	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
	FOC2	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66
	Testigo	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66	16.66

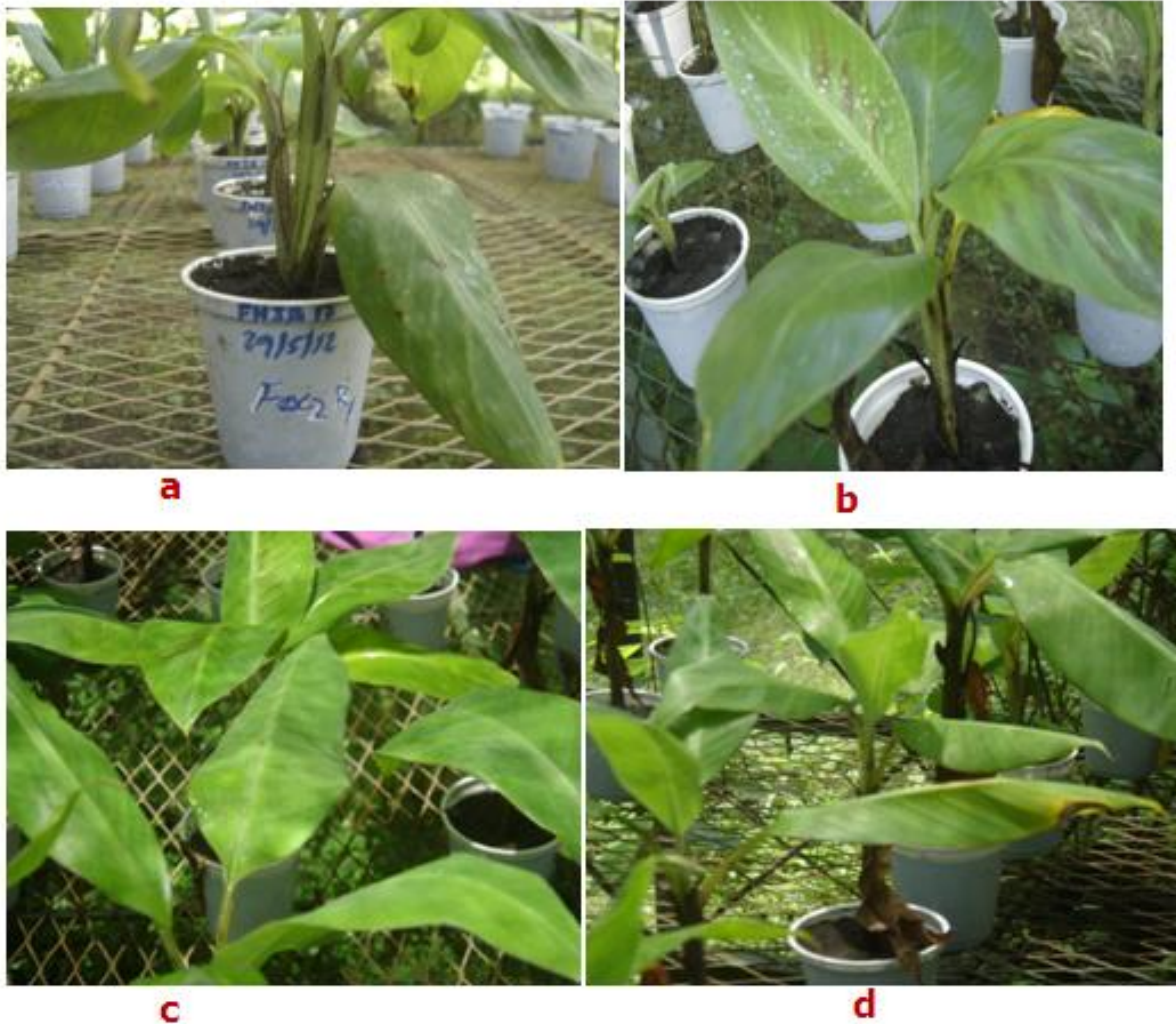
**Tabla: 2** Virulencia de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 sobre el porcentaje de incidencia e índice de síntomas internos (SI) en las variedades de Gros Michel (AAA) y las FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero.

Variedad	Tratamientos	Incidencia				Decoloración del cormo
		Sem1.a Sem11.	Sem. 12	Sem. 13	Sem.14	
<b>Gros Michel</b>	<b>FOC1</b>	40%	70%	85%	100%	25%
	<b>FOC2</b>	40%	55%	70%	90%	22.22%
	<b>TESTIGO</b>	30%	30%	30%	30%	25%
<b>FHIA 17</b>	<b>FOC1</b>	20%	20%	30%	40%	19.40%
	<b>FOC2</b>	20%	20%	30%	40%	16.66%
	<b>TESTIGO</b>	20%	20%	30%	40%	16.66%

**Figura 6:** Progreso de la agresividad de la enfermedad Mal de Panamá causa por los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 1; presentando los síntomas externos de plántulas de Gros Michel (AAA) durante las 14 semanas de evaluación en condiciones de invernadero. a: Inicio del amarillamiento en hojas bajas de plántulas de Gros Michel durante la octava semana. b: Marchitamiento y amarillamiento de las hojas bajas desde la semana nueve hasta la doceava semana. c: Severo marchitamiento y amarillamiento en la semana trece. d. Muerte de la planta en la semana catorce.



**Figura 7:** Progreso de la agresividad de la enfermedad Mal de Panamá causa por los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 1 en plántulas de FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero. a: Plántula inoculada con los aislamientos FOC1 y FOC2 durante las primeras 8 semanas . b, c y d: Las plántulas no presentan síntomas externos hasta la semana 14



### 6.2.2 Parámetros de crecimientos en los cultivares de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA).

Respecto a las variables de crecimiento no mostraron diferencias significativas. Por lo tanto no hay un efecto directo de los aislamientos de FOC1 y FOC2 en las variedades de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA). Esto en comparación con Lara (2009) solamente las variables de altura, número de hojas y ancho de las hojas no tuvieron diferencias significativas siendo FOC 8 quien provoco menor índice de crecimiento.

FOC1 redujo el crecimiento de las vitroplantulas de Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA), en cambio FOC2 no demostró haber afectado tanto el desarrollo de las vitroplantulas.

Por otro lado en comparación con los testigos, en las vitroplantulas de banano de Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) no se presento ningún síntoma en su desarrollo ya que estos no fueron inoculados con los aislamientos de FOC.

**Tabla 3.** Efecto de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* raza 1 en los parámetros de crecimientos en las cultivares de banano Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAA) en 14 semanas.

variedad	Tratamientos	Altura	Diámetro	Nº de hojas	Largo 3ra hoja	Ancho 3ra hoja	Índice foliar
Gros michel	FOC1	11.07 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	3.92 <sup>a</sup>	13.21 <sup>a</sup>	5.27 <sup>a</sup>	2.53 <sup>a</sup>
	FOC2	12.35 <sup>a</sup>	0.65 <sup>b</sup>	3.50 <sup>ab</sup>	13.83 <sup>a</sup>	5.71 <sup>a</sup>	2.42 <sup>a</sup>
	TESTIGO	12.14 <sup>a</sup>	1.02 <sup>a</sup>	2.71 <sup>b</sup>	10.01 <sup>b</sup>	6.06 <sup>a</sup>	1.80 <sup>b</sup>
FHIA -17	FOC1	13.57 <sup>b</sup>	1.35 <sup>a</sup>	2.92 <sup>a</sup>	15.31 <sup>b</sup>	7.65 <sup>a</sup>	2.00 <sup>c</sup>
	FOC2	11.57 <sup>c</sup>	1.48 <sup>a</sup>	3.14 <sup>a</sup>	17.62 <sup>a</sup>	5.95 <sup>b</sup>	3.02 <sup>a</sup>
	TESTIGO	15.87 <sup>a</sup>	1.62 <sup>a</sup>	3.14 <sup>a</sup>	15.91 <sup>b</sup>	7.15 <sup>a</sup>	2.22 <sup>b</sup>

Las medidas con letras iguales no presentan diferencias significativas. Realización de la prueba de rangos múltiples de DUCAN ( $P \leq 0.05$ ). Valores calculados del incremento de la diferencia en las 14 mediciones en cada uno de los parámetros evaluados. Consiste en la medición de seis replicas de la variedad Gros Michel (AAA) y la Variedad FHIA 17 (AAAA).

## VII. CONCLUSIONES

### 7.1 Prueba de patogenicidad

- El aislamiento FOC1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 fue capaz de infectar las vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel y producir los síntomas característicos de la enfermedad Mal de Panamá.
- Los síntomas externos provocados por FOC1 aparecieron en la décima semana del período de incubación con el patógeno
- FOC1 alcanzó la incidencia total en las vitroplantulas del cultivar Gros Michel (AAA) en las 12 semanas de incubación con el patógeno.
- FOC2 demostró ser menos patogénico en comparación con FOC1 ya que este no demostró síntomas externos e internos en las vitroplantulas.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Seguir realizando investigaciones de este tipo considerando mejores condiciones de laboratorio para obtener resultados diferentes a los encontrados.
- Se les recomienda a los productores del departamento de Jinotega no sembrar Gros Michel debido a las pérdidas que causa *Foc* por lo tanto la nueva alternativa que demostró ser resistente fue el cultivar Gros Michel (AAA) y con confianza deben de establecerlo en el departamento.
- Se le recomienda al proyecto de Musáceas Bioversity International Promover la variedad FHIA 17 (AAAA) ya que queda confirmado que esta es resistente a *Foc*



## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Bancroft, J. 1876. Report of board appointed to enquire into the cause of disease affecting livestock and plants. Queensland, 1876. Votes and proceedings 1877: 1011-1138
- Beed, F; Markham, R. 2008. Strategy elements to transform the banana sector in Africa. An output of the international conference: banana 2008. Mombasa, Kenya, 5-9 october.
- Brandes, E.W. 1919. Banana wilt. *Phytopathology* 9:339-389.
- Cárdenas, JE.2001. Selección de vitroplantas provenientes de microsecciones de banano de la variedad Gros Michel (AAA) resistentes a la raza 1 de Mal de panamá (*Fusarium Oxysporum f. sp. cubense*). Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE.122p.
- Caballero, A. 2009. Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp; para el biocontrol del mal de panamá (*Fusarium oxysporum f.sp. cubense*) raza tropical, en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis Mag Sc. Turrialba, CR. CATIE. 80p.
- Davis, R. 2005. *Fusarium* wilt (Panama disease) of banana. Plant Protection Service Secretariat of the Pacific Community. Pest Advisory Leaflet no. 42. 4 p
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2001. Informe sobre producción y demanda de rubros agrícolas (en línea). Consultado 23 de abril. 2012. Disponible en [http:// www. FAO. Org/indez\\_es.htm](http://www.FAO.Org/indez_es.htm)
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, IT).2004. la economía mundial del banano 1985-2002. Arias, P; Dankers, C; luí, P; pilkauskas. Roma.104 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, IT). 2009. principales enfermedades del banano y plátanos: información actualizada sobre su propagación, efectos y estrategias de respuestas. CCP: BA/TF 09/7. 9-11 de diciembre. FAO: Roma.
- Gheta, K.; Vikineswary, S. 2002. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* race 4: Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 28(6):303-320.

- Lara, D. 2009. Uso de bacterias endofíticas para el control biológico del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) en el cultivar Gros Michel (AAA). Tesis Mag Sc. Turrialba, CR. CATIE. 85p.
- León, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. 3 ed. IICA. San José, CR. 522 p.
- Lichtemberg, P. 2010. Occurrence, incidence and grower perception of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in banana intercropped with coffee and trees Costa Rica and Nicaragua smallholders. Thesis Master of Science. INRE, DE. Bonn. 76 p.
- Matsumoto, K.; Barbosa, M.L.; Copati Souza, L.A.; Teixeira, J.B. 1999. *In vitro* selection for *Fusarium* wilt resistance in banana. II. Resistance to culture filtrate of race 1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Fruits* 54(3):151-157.
- Morpurgo, R.; Lopato, S.V.; Azfa, R.; Novak, F.J. 1994. Selection parameters for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 and race 4 on diploid banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica* 75: 121-129.
- Moore, NY; Bentley, S; Pegg, KG; Jones, DR. 1995. *Fusarium* wilt of banana. INIBAP. *Musa* Disease no.5:1-4.
- Orjeda, G. 1998. Evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Sigatoka diseases and *Fusarium* wilt. INIBAP (International Network for improvement of banana and Plantain). Montpellier, FR. 19-29 p.
- Ortiz, RA; Lopez, A; Ponchner, S; Segura, A. 2001. El cultivo del Banano. EUNED. San José, CR. 186 P.
- Orozco Santos, M.; García Mariscal, K.; Vázquez Jiménez, J.L. 2009. Estado actual del Mal de Panamá en Musáceas en México. *In* Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza tropical 4 de *Fusarium*, BBTV y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, América Latina y El Caribe (2009, San Salvador, El Salvador). 2009. Resúmenes. Bioversity.71 p.
- Peeg, K; Langdon.1987. Banana and breeding strategies. *American Soc. Of Agrof. Procceding* (54); 45-70.
- Pérez, L. 2004. *Fusarium* Wilt (Panama disease) of bananas: An Updating Review of the Current Knowledge in the disease and its Causal Agent. *In* XVI REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT (16, 2004, Oaxaca, México). 2004. Memorias. Eds. M. Orozco; J. Orozco; M. Robles; J. Velázquez; V. Medina; J.A. Hernández. 312 p.

- Pérez, L; Batlle, A. 2010. Biología de poblaciones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*: forma especiales, razas y grupo de compatibilidad vegetativa. In Pocasangre, LE; Pérez, L, Martínez, E; Tapia, A; Guzmán, M; Brown, D. eds. Taller de entrenamiento sobre el diagnóstico y caracterización de la marchitez por *Fusarium oxysporum* o Mal de Panamá. 22 al 26 de febrero, Turrialba, CR. 2p.
- Pocasangre, LE. 2009. Estado actual y manejo del manejo de Panamá en América Latina y el Caribe. In REUNIÓN DE GRUPO DE INTERÉS SOBRE LOS RIESGOS DE LA RAZA TROPICAL 4 DE *FUSARIUM*, BBTV Y OTRAS PLAGAS DE MUSACEAS PARA LA REGIÓN DEL OIRSA, AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE (Documentos de Programa y Resúmenes de la Reunión). 29 al 31 de julio. OIRSA, San Salvador, El Salvador. 18 p.
- Pocasangre, L; Pérez, L; Martínez, E; Tapia, A; Guzmán M; Brown, D. 2010. taller de entrenamiento sobre el diagnóstico y caracterización de la marchitez por *Fusarium oxysporum* o Mal de Panamá. 22 al 26 de febrero, Turrialba, CR, 173 p.
- Ploetz, R, 1989. Factors influencing the development of *Fusarium* wilt of banana (Panama disease). *Phytopathology* 79:1181.
- Ploetz, R, 1990 a. Population biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* In *Fusarium wilt of banana*. APS Press. Amer, phytopathology.Sc; JT. Paul. MN USA. 63-76p.
- Ploetz, R.C. 1994b. *Fusarium Wilt and IMTP Phase II*. In *The Improvement and Testing of Musa: a Global Partnership* (1994, Honduras). 1994. Proceedings of the First Global Conference of the International Musa Testing Program held at FHIA. Eds. D.R. Jones. Montpellier, France. INIBAP (International Network for Improvement of Banana and Plantain). 303 p.
- Ploetz, R.; Haynes & A. Vazquez. 1999. Responses of new banana accessions in South Florida to Panama disease. *Crop Protection* 18(7):445-449.
- Ploetz, R. 2004. Enfermedades y plagas: Un análisis de su importancia y manejo. *Infomusa* 3(2):11-16.
- Ploetz, R.C. 2005. Panama Disease: An old Nemesis Rears its Ugly Head. Part 1: The beginnings of the Banana Export Trades. *American Phytopathological Society*. 13 p.
- Ploetz, R.C. 2006. *Fusarium wilt of bananas is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense**. *Phytopathology* 96(6):653-656.
- Smith, M.K. 1998. A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. *Fruits* 43(4):219-223

- Saravanan, T; Muthusamy, M; Marimuthu, T. 2003. Development of integrated approach to manage the fusarial wilt of banana. *Crop Protection* 22:1117-1123.
- Seshu Reddy, K.V.; Ngode, L.; Ssenyonga, J.W.; Wabule, M.; Onyango, M.; Adede, T.O.; Ngoze, S. 1998. Management of pests and diseases of banana in Kenya: a status report *In Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa* (1998, Nelspruit, South Africa). 1999. Proceedings of a workshop on banana IPM held. Eds. E.A. Frison; E.B. Karamura; R.A. Sikora. Montpellier, France. INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain). 356 p.
- Simmonds, NW. 1959. *Bananas*. Longman, London, UK. 466p.
- Simmonds, NW. 1962. *The evolution of the bananas*. Longman, London, UK. 170p.
- Simmonds, NW. 1997. *The evolution of the bananas*. Longman, London, UK. 170 p.
- Soto, M. 2008. *Bananos. Cultivos y comercialización*. 2 ed. San José, CR. 627 pp.
- Stover, RH. 1959a. A rapid and simple pathogenicity Test for Detecting Virulent Clones *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using Seedlings of *Musa balbisiana*. *Nature* 184(14):1591-1592.
- Stover, R.H. 1962. *Fusarium* wilt (Panama disease) of bananas and other *Musa* species. Commonwealth Mycological Institute Phytopathological Paper no. 4. 117 p
- Subramaniam, S; Maziah, M; Sariah, M; Puad, M; Xavier R. 2006. Bioassay method for testing *Fusarium* wilt disease tolerance in transgenic banana. *Sci. Hort.* 108:378–389.
- Thurston, H.D. 1989. *Enfermedades de cultivos en el trópico*. Trad. J.J. Galindo. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. p. 113-123.
- Wardlaw, C.W. 1961. *Banana diseases, including plantains and abaca*. Longmans, Green and Co. London. 648 p.
- Waite, B.H. 1977. Inoculation studies and natural infection of bananas varieties with races 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *In Plant Disease Reporter* 61(1):15-19.

# **ANEXO**

# Gros Michel

altura del tallo cm<sup>b</sup>

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FOC1	14	11.0714	
TESTIGO	14	12.1429	
FOC2	14	12.3571	
Sig.		.066	

diámetro del tallo cm<sup>b</sup>

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FOC2	14	.657	
FOC1	14		1.007
TESTIGO	14		1.029
Sig.		1.000	.845

ancho de la tercera hoja

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FOC1	14	5.271	
TESTIGO	14	5.714	
FOC2	14	6.064	
Sig.		.082	

largo de la tercera hoja cm<sup>b</sup>

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	14	10.014	
FOC1	14		13.214
FOC2	14		13.836
Sig.		1.000	.129

numero de hojas

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	14	2.714	
FOC2	14	3.500	3.500
FOC1	14		3.929
Sig.		.050	.277

% porcentaje

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
TESTIGO	14	1.8043	
FOC2	14		2.4264
FOC1	14		2.5307
Sig.		1.000	.386

Tabla de contingencia Tratamientos \* Decoloracion\_cormo \* Variedad

Variedad				Decoloracion_cormo				
				16.66	19.40	22.22	25.00	
Gros Michel	Tratamientos	FOC1	Recuento			0	1	
			% dentro de Tratamientos			.0%	25.00%	
		FOC2	Recuento			1	0	
			% dentro de Tratamientos			22.22%	.0%	
		TESTIGO	Recuento			0	1	
			% dentro de Tratamientos			.0%	25.00%	
	Total			Recuento			1	2
				% dentro de Tratamientos			33.3%	66.7%
FHIA 17	Tratamientos	FOC1	Recuento	1	0			
			% dentro de Tratamientos	16.66%	.0%			
		FOC2	Recuento	1	0			
			% dentro de Tratamientos	16.66%	.0%			
		TESTIGO	Recuento	0	1			
			% dentro de Tratamientos	.0%	19.40.0%			
	Total			Recuento	2	1		
				% dentro de Tratamientos	66.7%	33.3%		

# FHIA 17

**altura del tallo cm<sup>b</sup>**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
FOC2	14	11.5714		
FOC1	14		13.5714	
TESTIGO	14			15.8571
Sig.		1.000	1.000	1.000

**diámetro del tallo cm<sup>b</sup>**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
FOC1	14	1.357
FOC2	14	1.486
TESTIGO	14	1.621
Sig.		.077

**numero de hojas**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
FOC2	14	2.929
FOC1	14	3.143
TESTIGO	14	3.143
Sig.		.563

**ancho de la tercera hoja**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FOC2	14	5.957	
TESTIGO	14		7.150
FOC1	14		7.650
Sig.		1.000	.250

**largo de la tercera hoja cm<sup>b</sup>**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
FOC1	14	15.314	
TESTIGO	14	15.914	
FOC2	14		17.621
Sig.		.351	1.000

**% porcentaje**

Duncan

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
FOC1	14	2.0057		
TESTIGO	14		2.2286	
FOC2	14			3.0264
Sig.		1.000	1.000	1.000