

# INFOMUSA

La Revista Internacional sobre Banano et Plátano



Vol. 11 N° 1

Junio 2002

## EN ESTE NUMERO

Manejo integrado de la producción platanera y control de la Sigatoka negra en la RDC

*Evolución de la Sigatoka negra en Venezuela: 1997-2000*

Frecuencia de *Paracercospora fijiensis* y *Pseudocercospora musae* en plátano Dominico hartón

*Efecto del fungicida natural F20 contra la enfermedad Sigatoka negra*

Fluctuaciones estacionales de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* en ciertos cultivares de banano

*Respuesta de la planta hospedante de los bananos Pisang jari buaya y Mysore, a Radopholus similis*

Efecto de tres hongos micorriza arbusculares sobre la infección de *Musa* con *Meloidogyne* spp.

*Hongos endofíticos y necrosis de las raíces de bananos en Cuba*

Efectos de la micorrización sobre el desarrollo de cultivares micropropagados

*Arachis pinto: ¿una planta de cobertura para los banales?*

Dinámica del boro en un suelo cultivado con plátano en Colombia

*Evaluación de características agronómicas en clones híbridos de plátanos*

Alternativas para la propagación *in vitro* de FHIA-20

*Tasa de multiplicación y potencial de regeneración de embriones somáticos de una suspensión celular de banano*

Introducción, multiplicación y distribución de bananos y plátanos mejorados en Nicaragua

*Utilización de la técnica RAPD para la identificación y clasificación de algunos cultivares de banano en Vietnam*

Patrones de consumo y gasto de los consumidores de bananos y plátanos en Nsukka Urban, Nigeria

*Tesis*

Noticias de *Musa*

*Noticias de INIBAP*

Libros etc.

*Anuncios*



Vol. 11, N° 1

**Foto en la portada:**

*En Tanzania, los cormos de banano se distribuyen frecuentemente a través de las escuelas (David Mowbray, Baobab Productions)*

**Publica:**

Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano (INIBAP)

**Jefe de redacción:**

Claudine Picq

**Comité editorial:**

Emile Frison, Jean-Vincent Escalant,  
Elinor Lipman, Charlotte Lusty,  
Suzanne Sharrock  
Impreso en Francia

**Redacción:**

INFOMUSA, INIBAP Parc Scientifique  
Agropolis II, 34397 Montpellier cedex 5,  
Francia.

Teléfono: +33-(0)4 67 61 13 02

Telefax: +33-(0)4 67 61 03 34

Correo electrónico: inibap@cgiar.org

La suscripción es gratuita para los países en vías de desarrollo. Se agradecen contribuciones en forma de artículos y cartas al editor. La redacción se reserva el derecho de editar los artículos. INFOMUSA no se responsabiliza por el material no solicitado. Sin embargo, trataremos de responder a cada una de las peticiones. Los artículos pueden ser citados o reproducidos sin cargos, con la mención de la fuente.

También se publican ediciones de INFOMUSA en francés y en inglés.

**Cambio de dirección:**

Para evitar la pérdida de sus ejemplares de INFOMUSA, notifique a INIBAP con seis semanas de antelación si cambia de dirección postal.

**Las opiniones expresadas en los artículos son responsabilidad de sus autores y no necesariamente reflejan los puntos de vista de INIBAP**

La misión de la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano es aumentar de manera sostenible la productividad del banano y el plátano cultivados por pequeños productores para el consumo doméstico y mercados locales y de exportación. El programa tiene cuatro objetivos principales:

- organizar y coordinar un esfuerzo global de investigación sobre banano y plátano para el desarrollo, la evaluación y la disseminación de cultivares mejorados y para la conservación y utilización de la diversidad de las Musaceas;
- promover y fortalecer colaboraciones en la investigación relacionada con banano y plátano a los niveles nacional, regional e internacional;
- fortalecer la capacidad de los SNIA para conducir actividades de investigación y desarrollo sobre banano y plátano;
- coordinar, facilitar y apoyar la producción, recopilación y el intercambio de información y de documentación sobre banano y plátano.

INIBAP está dirigida y administrada por el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), un centro 'Future Harvest'.

## INFOMUSA

Vol. 11, N° 1

### CONTENIDO

Estrategias para el manejo integrado de la producción platanera y control de la Sigatoka negra en la República Democrática de Congo .....	3
Evolución de la Sigatoka negra en Venezuela: 1997-2000 .....	6
Frecuencia de <i>Paracercospora fijiensis</i> y <i>Pseudocercospora musae</i> en plátano Dominicó hartón .....	9
Efecto del fungicida natural F20 contra la enfermedad Sigatoka negra ( <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet) en plátano (AAB) y banano (AAA) .....	14
Fluctuaciones estacionales de <i>Radopholus similis</i> y <i>Pratylenchus coffeae</i> en ciertos cultivares de banano .....	16
Respuesta de la planta hospedante de los bananos Pisang jari buaya y Mysore, a <i>Radopholus similis</i> .....	19
Efecto de tres hongos micorriza arbusculares sobre la infección de <i>Musa</i> con el nematodo nodulador de las raíces ( <i>Meloidogyne</i> spp.) .....	21
Estudio de las especies de hongos endofíticos asociados a la necrosis de las raíces de bananos en plantaciones de bananos y plátanos de Cuba .....	23
Efectos de la micorrización sobre el desarrollo de dos cultivares de platanera micropropagada .....	25
<i>Arachis pintoi</i> : ¿una planta de cobertura para los bananales? Ventajas e inconvenientes desde un punto de vista nematológico .....	28
Dinámica del boro en un suelo cultivado con plátano ( <i>Musa</i> AAB cv. Dominicó hartón) en el Quindío, Colombia .....	30
Evaluación de características agronómicas en clones híbridos de plátanos ( <i>Musa</i> spp.) .....	34
Alternativas para la propagación <i>in vitro</i> del cultivar híbrido FHIA-20 .....	35
Tasa de multiplicación y potencial de regeneración de embriones somáticos de una suspensión celular de banano ( <i>Musa</i> AAA cv. 'Gran enano') .....	38
Introducción y multiplicación de bananos y plátanos mejorados en Nicaragua y su distribución a los agricultores .....	44
Utilización de la técnica RAPD para la identificación y clasificación de algunos cultivares de banano en Vietnam .....	48
Patrones de consumo y gasto de los consumidores de bananos y plátanos en Nsukka Urban, Nigeria .....	50
Tesis .....	54
Noticias de <i>Musa</i> .....	56
Noticias de INIBAP .....	60
Libros etc. ....	65
Anuncios .....	66

# Estrategias para el manejo integrado de la producción platanera y control de la Sigatoka negra en la República Democrática de Congo

P. Mobambo Kitume Ngongo

El plátano (*Musa* spp., grupo AAB) es un alimento básico importante en muchos países del trópico húmedo. Se encuentra entre las principales fuentes de carbohidratos en la dieta de las personas en estas regiones. Su cultivo que requiere de pocas labores, y su alto rendimiento calórico lo convierten en un alimento básico adecuado para las áreas donde la escasez de la fuerza laboral usualmente representa la principal limitación para la producción. El plátano se cultiva principalmente por pequeños agricultores y constituye un componente integral de la mayoría de los sistemas de cultivo en África occidental y central, donde se produce alrededor del 50% del plátano del mundo entero (Wilson 1987, FAO 1990).

A pesar de su importancia para la gente local, el plátano ha sido ignorado por largo tiempo por los investigadores agrícolas en la región, ya que no tenía mayores problemas de enfermedades hasta la década de los 70 y, por lo tanto, se le referiría como a un cultivo libre de enfermedades en África (Wilson 1987). Sin embargo, hace 25 años, el cultivo fue atacado por la Sigatoka negra, una enfermedad foliar causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet que se disemina por el aire. La enfermedad se propagó rápidamente a todas las regiones productoras de plátano de África. La Sigatoka negra es la enfermedad foliar más destructiva del plátano, ya que se propaga inexorablemente a todas las principales regiones de las tierras bajas donde se cultiva el plátano, como enfermedad foliar dominante (Meredith y Lawrence 1970). Se ha reportado la pérdida de rendimiento del plátano en un 76% debido a la Sigatoka negra durante el segundo ciclo de cultivo, mientras que el complejo entero de enfermedades, plagas y fertilidad del suelo disminuye los rendimientos ya reducidos hasta un 93% (Mobambo *et al.* 1996a). Como un cultivo amiláceo perenne, el plátano requiere de un tiempo considerable para madurar, lo que lo expone por un período más prolongado a las enfermedades, plagas y al agotamiento de los nutrientes del suelo.

El complejo suelo-enfermedades-plagas puede ser controlado por la combinación de fertilizantes inorgánicos, fungicidas e insecti-

cidas/nematicidas. Sin embargo, en África, las estrategias de control químico no son viables desde el punto de vista ambiental y socioeconómico, tomando en cuenta a los productores plataneros con recursos muy escasos. Los agroquímicos son muy costosos y sus aplicaciones pueden ser peligrosas para la salud de las familias en los pueblos donde se cultiva el principal volumen de plátano. Por lo tanto, el adecuado manejo del suelo, utilizando varias coberturas vegetales residuales para mejorar la materia orgánica y contenido de nutrientes del suelo, podría reducir los efectos del complejo suelo-enfermedad-plaga sobre el plátano con bajos insumos.

Los objetivos de la investigación presentada aquí, fueron de comparar el desempeño en el campo y el rendimiento del plátano bajo diferentes prácticas de manejo de la fertilidad del suelo y del control de las enfermedades.

## Materiales y métodos

### Localización del experimento

Las investigaciones se llevaron a cabo en Kinshasa (4°22'S, 15°21'E, Congo occidental), que se encuentra a 390 m sobre el nivel del mar (Anónimo 1985). El suelo del sitio experimental es un latosol derivado de arenas depositadas, con un buen drenaje, pero pobre en nutrientes y altamente ácido. La precipitación anual promedio es de 1800 mm y la temperatura promedio es de 24.5°C.

### Material vegetal y tratamientos

En este experimento se utilizó *Musa* AAB cv. 'Yumba', muy extendido localmente. El material de plantación aún representa una limitación para la producción de plátano en áreas rurales. Ya que es imposible conseguir muchos retoños uniformes de una vez, la investigación empezó por la multiplicación vegetativa del material de plantación (técnica descrita por Auboiron 1997) con el fin de obtener 625 plantas para el experimento: 5 tratamientos x 5 réplicas x 25 plantas por tratamiento.

Las cepas del cormo del plátano fueron divididas en series de 50 g cada una y tratadas con cenizas de madera. Luego, las partes del cormo fueron secadas al aire durante 24 horas antes de sembrarlas en bolsas plásticas de 15 cm de diámetro casi llenas hasta el tope con tierra vegetal. Los nuevos brotes emergieron 4 semanas después de la fecha de siembra y se obtuvo hasta 20 plantas nue-

vas de un cormo. Las plantas fueron cultivadas en condiciones de sombra parcial y regadas regularmente. Las plantas fueron trasplantadas en el campo 3 meses después, cuando ya tenían 3-4 hojas verdaderas.

Se compararon cuatro diferentes tratamientos para prevenir la infección por los microorganismos, basados en las prácticas culturales: cobertura con residuos vegetales (aserrín de madera o cáscara de arroz), cultivo de cobertura (*Vigna unguiculata*) y fertilizantes (NPK). Las plantas sin aplicación de los tratamientos fueron utilizadas como testigo.

### Diseño del campo y prácticas culturales

El diseño experimental fue un bloque completo al azar con cinco tratamientos por parcela y cinco réplicas. El tamaño de la parcela fue de 15 m x 10 m con 25 plantas espaciadas de 3 x 2 m, resultando en una densidad de 1667 plantas por ha. Solo se registraron los datos sobre las nueve plantas centrales competitivas.

Cada tres meses se aplicó la cobertura con residuos vegetales al suelo alrededor de los tallos en las parcelas con cobertura vegetal, utilizando una bandeja (10 Kg.). En las parcelas fertilizadas, las aplicaciones de 300 Kg. de N, 60 Kg. de P<sub>2</sub>O y 550 Kg. de K<sub>2</sub>O por ha por año fueron divididas en seis y se hicieron durante la estación lluviosa: urea a una tasa de 65 g por planta por aplicación, fósforo a una tasa de 20 g por planta por aplicación y muriato de potasio a una tasa de 89 g por planta por aplicación.

Para cada tratamiento, aproximadamente a la mitad de la etapa de floración, se tomaron muestras de suelo con una barrena manual a 20 cm de profundidad, donde se encuentra la mayoría de las raíces del plátano (Swennen 1984, Purseglove 1988). Estas muestras fueron secadas al aire en el laboratorio, desmenuzadas, pasadas a través de los tamices de 0.5 y 2 mm y analizadas.

### Evaluación de la respuesta del hospedante a la Sigatoka negra, parámetros de crecimiento y rendimiento

El desarrollo de la enfermedad fue evaluado cada semana utilizando el 'período de evolución de los síntomas', que es el número de días entre la aparición de los síntomas en la



etapa 1 del desarrollo de la enfermedad (Fouré 1982) asimilados hasta la etapa b de la salida de la hoja cigarro (Brun 1963) y la aparición de las manchas con centros secos (etapa 6 de la enfermedad, Fouré 1982, 1987). También se registraron la 'hoja más joven manchada' que es la hoja con 10 o más lesiones necróticas discretas con centros secos (Meredith y Lawrence 1970, Fouré 1982, 1987) y el 'tiempo de vida de la hoja', que es la cantidad de días entre la etapa del cigarro b de la hoja y la muerte de la hoja (100% del área foliar necrosada) debida a la senescencia o a la Sigatoka negra (Mobambo *et al.* 1994).

La severidad de la enfermedad fue evaluada cada dos semanas, a partir del 2º mes después de la siembra hasta la floración. El porcentaje de área foliar con síntomas fue registrado utilizando la escala modificada de Stover y Dickson (1970), tal como lo describe el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (Mobambo *et al.* 1993a).

Los parámetros de crecimiento evaluados incluyeron la altura del pseudotallo, la circunferencia del pseudotallo, la cantidad de hojas emergidas y la altura del retoño más alto. Estos datos fueron registrados para cada planta a partir del 2º mes después de la siembra hasta la floración, tal como lo describen Swennen y De Langhe (1985).

Los parámetros de rendimiento evaluados fueron el número de manos por racimo, el número de frutos por racimo y el peso del racimo.

Los datos recolectados fueron analizados utilizando los procedimientos ANOVA del Sistema de Análisis Estadístico (SAS 1988) para el diseño completo al azar. Para comparar los promedios de los tratamientos para cada parámetro se utilizó la Prueba del Rango Múltiple de Duncan (DMR) a un nivel de significación de 0.05.

## Resultados y discusión

### Condiciones del suelo

Los resultados del análisis del suelo presentados en la Tabla 1, mostraron diferencias significativas en las cantidades de nutrientes entre los residuos vegetales aplicados (aserrín de madera y cáscara de arroz) y otras prácticas de manejo, como el cultivo de cobertura (*Vigna unguiculata*) y fertilización mineral (NPK). Mientras tanto, se descubrieron diferencias estadísticas entre la cáscara de arroz y aserrín de madera, donde la cáscara de arroz mejoró el nivel de fertilidad del suelo en un mayor grado. De acuerdo a las escalas de Black (1965) y Brady (1984), en las parcelas cubiertas con residuos vegetales, el suelo en general fue moderadamente ácido con un alto contenido de carbono orgánico, un alto contenido de nitrógeno total, un moderado contenido de

**Tabla 1.** Propiedades químicas seleccionadas del suelo bajo diferentes prácticas de manejo del plátano en Kinshasa, Congo occidental, 1998.

Tratamiento	pH	Carbono orgánico (%)	Nitrógeno total (%)	Cationes intercambiables (meq/100 g)		
				Ca	Mg	K
Testigo	4.2 a	1.15 a	0.11 a	1.22 a	0.21 a	0.15 a
Aserrín de madera	6.2 c	3.51 c	0.25 b	6.51 c	1.87 c	0.87 c
Cáscara de arroz	6.8 d	3.79 d	0.28 b	7.52 d	2.10 c	0.98 d
<i>Vigna unguiculata</i>	5.2 b	2.15 b	0.22 b	4.07 b	0.78 b	0.46 b
N-P-K	5.6 b	2.23 b	0.26 b	5.63 c	1.06 b	0.96 c

Dentro de las columnas, los promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente en un nivel de probabilidad de 0.05, de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan.

calcio, un moderado contenido de magnesio y un alto contenido de potasio. Sin embargo, en las parcelas sin la aplicación de la cobertura vegetal, el suelo fue extremadamente ácido con un bajo contenido de carbono orgánico, un contenido moderadamente bajo de nitrógeno total, un bajo contenido de calcio, muy bajo contenido de magnesio y muy bajo contenido de potasio.

Estos resultados indican que las cantidades de nutrientes en el suelo son más altas en las parcelas con cobertura vegetal que en las parcelas sin ella. La cobertura con los residuos vegetales constituye una mejor fuente de nutrientes y, por lo tanto, actúa como un fertilizante. Como lo destacan Lal y Kang (1982), la materia orgánica constituye un componente clave de la fertilidad del suelo, actúa como un reservorio de nutrientes, como la principal fuente de la capacidad de intercambio de cationes y como el principal promotor de estabilidad estructural agregada.

### Respuesta del hospedante

#### a la Sigatoka negra

Se descubrieron diferencias significativas entre el plátano con cobertura vegetal residual (aserrín de madera y cáscara de arroz) y el plátano sin la aplicación de la cobertura vegetal residual (testigo, cultivo de cobertura y fertilizante) con respecto al tiempo de evolución de los síntomas, la hoja más joven manchada, porcentaje del área foliar con síntomas y tiempo de vida de la hoja (Tabla 2). La severidad de la Sigatoka negra fue mucho más baja en el plátano con cobertura vegetal que en el plátano sin ella. Sin embargo, entre los residuos vegetales, la cáscara de arroz fue estadísticamente la mejor cobertura vegetal para retardar el desarrollo de la enfermedad.

**Tabla 2.** Respuesta de la planta hospedante a la Sigatoka negra del plátano bajo diferentes prácticas de manejo en Kinshasa, Congo occidental, 1998.

Tratamiento	Tiempo de evolución de los síntomas (TES, días)	Hoja más joven manchada (HMJM)	% del área foliar con síntomas (% AFS)	Tiempo de vida de la hoja (TVH, días)
Testigo	23.0 a	5.5 a	19.6 d	62.5 a
Aserrín de madera	50.0 c	9.3 c	4.2 a	125.7 d
Cáscara de arroz	56.8 c	10.9 d	3.8 a	130.3 d
<i>Vigna unguiculata</i>	35.5 b	7.5 b	10.3 c	80.3 b
N-P-K	40.0 b	8.1 b	6.9 b	103.3 c

Dentro de las columnas, los promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente en un nivel de probabilidad de 0.05, de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan.

También se obtuvieron diferencias significativas entre las plantas con cobertura vegetal y sin ella con respecto al porcentaje de área foliar con síntomas (Tabla 2). Mientras que en las parcelas con cultivos de cobertura y fertilizadas, el plátano presentó 10.3% y 6.9% respectivamente, de área foliar infectada por la Sigatoka negra, en las parcelas con la cobertura vegetal residual el plátano perdió solo de 3.8% a 4.2% de su área foliar. La propagación más lenta de la enfermedad en las parcelas con cobertura vegetal residual es facilitada por un incremento del área foliar funcional en comparación con las parcelas sin la aplicación de la cobertura vegetal residual.

Con respecto al tiempo de vida de la hoja, también se descubrieron diferencias significativas entre las plantas con la aplicación de la cobertura vegetal residual y aquellas sin la aplicación de la misma (Tabla 2). El desarrollo más lento de la enfermedad en el plátano con cobertura vegetal residual prolongó el tiempo de vida de las hojas. En el plátano tratado con la cáscara de arroz y el aserrín de madera, la Sigatoka negra necesitó casi 9, 7 y 4 semanas más para destruir las hojas en comparación con el testigo, el plátano con cultivos de cobertura y el plátano fertilizado, respectivamente. El plátano testigo fue el más afectado por la enfermedad. Como ya se ha reportado anteriormente, todos los cultivares de plátano alrededor del mundo son susceptibles a la Sigatoka negra (Fouré 1987, Mobambo *et al.* 1996b).

La diferencia en la respuesta de la planta hospedante a la Sigatoka negra entre el plátano cubierto con residuos vegetales y el plátano sin ellos se atribuye principalmente a la diferencia en la fertilidad del suelo. Mientras más alto es el nivel de fertilidad, más baja es la severidad de la Sigatoka negra. En mejores suelos este hecho se expresa en un desarrollo más lento de los síntomas, solo las hojas más viejas presentan manchas secas, el área foliar con los síntomas de la Sigatoka negra es menor y el tiempo de vida de las hojas es más largo (Mobambo *et al.* 1994).

#### Desempeño del crecimiento y del rendimiento

Los resultados presentados en la Tabla 3 muestran diferencias significativas para todos los parámetros estudiados: altura de la planta (AP), circunferencia de la planta (CP), número de hojas emergidas (NHE), días hasta la floración (DF), días hasta el llenado de frutos (DLF), días hasta la cosecha (DC) y altura del retoño más alto (ARMA).

Para todos los tratamientos (cobertura con residuos de cultivos, fertilizante o cultivo de cobertura) las plantas tuvieron una altura similar y más baja que las plantas del

**Tabla 3.** Parámetros de crecimiento del plátano bajo diferentes prácticas de manejo en Kinshasa, Congo occidental, 1998.

Tratamiento	AP (cm)	CP (cm)	NHE	DF	DLF	DC	ARMA a la cosecha (cm)
Testigo	360.3 b	65.4 a	44 d	370 d	76 a	446 d	78.0 a
Aserrín de madera	345.5 a	74.4 b	35 a	255 b	103 c	358 b	105.0 b
Cáscara de arroz	340.0 a	76.6 b	34 a	232 a	110 d	342 a	145.0 c
<i>Vigna unguiculata</i>	349.5 a	68.8 a	41 c	295 c	86 b	381 c	80.5 a
N-P-K	342.2 a	66.8 a	38 b	268 b	102 c	370 bc	86.8 a

Dentro de las columnas, los promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente en un nivel de probabilidad de 0.05, de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan.

AP: Altura de la planta; CP: Circunferencia de la planta; NHE: Número de hojas emergidas; ARMA: Altura del retoño más alto; DF: Días hasta la floración; DLF: Días hasta el llenado de los frutos; DC: Días hasta la cosecha.

**Tabla 4.** Parámetros de rendimiento del plátano bajo diferentes prácticas de manejo en Kinshasa, Congo occidental, 1998.

Tratamiento	No. de manos por racimo	No. de frutos por racimo	Peso del racimo (Kg.)	Rendimiento (t/ha)
Testigo	6.0 a	75 a	9.5 a	15.8 a
Aserrín de madera	6.5 b	88 c	15.0 c	25.0 c
Cáscara de arroz	6.5 b	90 c	17.5 d	29.2 d
<i>Vigna unguiculata</i>	6.2 a	82 b	11.0 a	18.3 a
N-P-K	6.2 a	87 bc	13.0 b	21.7 b

Dentro de las columnas, los promedios seguidos por la misma letra no difieren significativamente en un nivel de probabilidad de 0.05, de acuerdo a la Prueba de Rango Múltiple de Duncan.

testigo. Sin embargo, con respecto a la circunferencia de la planta y la cantidad de hojas emergidas, el plátano con cobertura vegetal residual se desempeñó mejor que el plátano sin ella. La circunferencia más grande y la menor cantidad de hojas se obtuvieron con las plantas tratadas con la cáscara de arroz y aserrín de madera en comparación con las plantas sin cobertura vegetal residual. Las plantas con la aplicación de la cáscara de arroz florecieron significativamente más temprano y tuvieron un período de llenado de frutos más largo que las plantas en otros tratamientos. Ellas florecieron cinco meses más temprano que las del testigo y alrededor de uno a dos meses más temprano que los plátanos fertilizados y con cultivos de cobertura. El efecto combinado dio como resultado un ciclo de producción más corto para el plátano con cobertura de cáscara de arroz, cuyos racimos fueron cosechados 104 y 28 días antes que el testigo y el plátano fertilizado, respectivamente. El plátano cubierto con la cáscara de arroz fue cosechado 16 días antes que el plátano cubierto con el aserrín de madera. También mostró una mejor producción de hijos, siendo el retoño más alto, es decir, el retoño que continuará como el siguiente ciclo de producción, significativamente más alto que en los otros tratamientos. Esto normalmente debería dar como resultado un segundo ciclo de cultivo más corto para el plátano tratado con la cáscara de arroz en comparación con otros tratamientos.

Los componentes de rendimiento evaluados fueron el número de manos por racimo, número de frutos por racimo y peso del racimo (Tabla 4).

Hubo diferencias significativas entre los plátanos con aplicación de cobertura vegetal residual (aserrín de madera y cáscara de arroz) y los plátanos sin la aplicación de la misma (testigo, cultivo de cobertura y fertilizante) con respecto al número de manos por racimo y la cantidad de frutos por racimo (Tabla 4). El plátano con la aplicación de la cobertura vegetal residual tuvo un mayor número de manos y frutos por racimo que el plátano sin ella.

El rendimiento por hectárea fue calculado del peso promedio del racimo multiplicado por la densidad de plantas. El rendimiento difería significativamente entre el plátano cubierto con la cáscara de arroz y otros tratamientos. El rendimiento del plátano con el mejor desempeño tratado con la cáscara de arroz fue en un 46%, 37% y 26% más alto que el rendimiento de los plátanos de control, con cultivo de cobertura y fertilizados, respectivamente. El rendimiento del plátano tratado con la cáscara de arroz fue en un 14% más alto que el obtenido con el aserrín de madera.

Estos resultados indican que la cobertura vegetal residual confiere ventajas importantes al cultivo de plátano: rendimiento más alto, maduración más temprana o ciclo de producción más corto y mayor circunferencia, lo que permite reducir las pérdidas por daños ocasionados por los vientos, otra limitación importante para la producción de plátanos (Mobambo *et al.* 1996a).

#### Conclusión

La investigación presentada aquí compara diferentes prácticas de manejo de la producción platanera. Los efectos de la cobertura con residuos vegetales (aserrín de madera y

cáscara de arroz) fueron comparados con los efectos de la aplicación de fertilizantes y cultivo de cobertura con respecto a la fertilidad del suelo, severidad de la Sigatoka negra, parámetros de crecimiento y rendimiento del plátano.

Con respecto a todos los parámetros evaluados, el plátano con la aplicación de la cobertura vegetal residual se desempeñó mejor que el plátano sin la cobertura. La fertilidad del suelo es un factor crítico responsable por la diferencia entre las coberturas con residuos vegetales, cultivos de cobertura y fertilizantes. Debido a un alto nivel de fertilidad gracias a la aplicación de la cobertura con residuos vegetales, el plátano fue afectado por la Sigatoka negra en menor grado y, consecuentemente, tuvo un mejor crecimiento que el plátano que no recibió la cobertura con los residuos vegetales. Entre los residuos vegetales, la cáscara de arroz fue mejor estadísticamente que el aserrín de madera.

Por lo tanto, el manejo adecuado de la materia orgánica es esencial para una productividad sostenible del plátano, minimizando la severidad de la Sigatoka negra con bajos insumos. Ya que el plátano se cultiva en África principalmente por pequeños agricultores, los fertilizantes químicos no están disponibles tan rápidamente y son costosos. De esta manera, el potencial de los fertilizantes orgánicos tradicionales como el compost, estiércol y residuos de cultivos deben ser explotados en una escala mayor. Un estudio que integre los recursos orgánicos y la fauna del suelo puede ayudar a entender los mecanismos que regulan los procesos biológicos para mejorar la fertilidad del suelo en relación con la sostenibilidad de la producción del plátano, severidad de plagas y enfermedades.

### Agradecimiento

Esta investigación fue apoyada en su totalidad por la *International Foundation for Science* (IFS), Stockholm, Suecia. Personalmente, estoy muy agradecido a la Sra. Ingrid Lindhe (Asistente, Área de Ciencias de Cultivo) y Sra. Josiane Lindberg (Servicios de Compras) por su disponibilidad, asistencia y ayuda eficiente durante esta investigación. ■

### Bibliografía

- Anonymous. 1985. Caractéristiques climatiques de Kinshasa. Institut national de géographie. 85 pp.
- Aubouin E. 1997. Propagation rapide de matériel de plantation de bananiers et plantains. La multiplication sur souche décortiquée. Fiche technique. CRBP, Douala, Cameroun.
- Black N.C. 1965. Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling. Pp. 515-545 in *Methods of soil analysis. Part I: Physical methods* (C.A. Black, ed.). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

- Brady N.C. 1984. *The nature and properties of soils*. MacMillan Publishing Company, New York. 750pp.
- Brun J. 1963. La cercosporiose du bananier en Guinée. Etude de la phase ascosporee de *Mycosphaerella musicola* Leach. Thesis. Faculté des Sciences, Université Paris-Orsay. 196pp.
- FAO. 1990. *Production Yearbook*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Fouré E. 1982. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés. 1: Incubation et évolution de la maladie. *Fruits* 37:749-766.
- Fouré E. 1987. Varietal reactions of bananas and plantains to black leaf streak. Pp. 110-113 in *Banana and plantain breeding strategies* (G.J. Persley and E.A. De Langhe, eds). Proceedings of an International workshop, 13-17 October 1986, Cairns, Australia. ACIAR Proceedings No. 21.
- Lal R. & B.T. Kang. 1982. Management of organic matter in soils of the tropics and subtropics. Pp. 152-178 in *Non-symbiotic nitrogen fixation and organic matter in the tropics*. Symposia papers 1. 12<sup>th</sup> International Congress of Soil Science, 8-16 Feb. 1982, New Delhi.
- Meredith D.S. & J.S. Lawrence. 1970. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijensis*): susceptibility of cultivars. *Tropical Agriculture* 27:275-287.
- Mobambo K.N., F. Gauhl, D. Vuylsteke, R. Ortiz, C. Pasberg-Gauhl & R. Swennen. 1993a. Yield loss in plantain from black Sigatoka leaf spot and field performance of resistant hybrids. *Field Crops Research* 35:35-42.
- Mobambo K.N., M. Naku & Z. Nganga. 1993b. La enfermedad de la Sigatoka negra en banano y plátano en Zaire. *INFOMUSA* 2:14-15.
- Mobambo K.N., K. Zuofa, F. Gauhl, M.O. Adeniji & C. Pasberg-Gauhl. 1994. Effect of soil fertility on host response to black leaf streak of plantain (*Musa* spp., AAB group) under traditional farming systems in southeastern Nigeria. *International Journal of Pest Management* 40:75-80.
- Mobambo K.N., F. Gauhl, R. Swennen & C. Pasberg-Gauhl. 1996a. Assessment of the cropping cycle effects on black leaf streak severity and yield decline of plantain and plantain hybrids. *International Journal of Pest Management* 42:1-7.
- Mobambo K.N., F. Gauhl, C. Pasberg-Gauhl & K. Zuofa. 1996b. Season and plant age affect evaluation of plantain for response to black Sigatoka disease. *Crop Protection* 15:609-614.
- Purseglove J.W. 1988. *Tropical crops: Monocotyledons*. Longman Scientific & Technical, Singapore. 607pp.
- SAS. 1988. *Statistical Analysis Systems Procedures Guide*, Release 6.03. SAS Institute, Cary, NC. 441pp.
- Swennen R. 1984. A physiological study of the suckering behaviour in plantain (*Musa* cv. AAB). PhD Thesis. Katholieke Universiteit Leuven, Belgium. 180pp.
- Swennen R. & E. De Langhe. 1985. Growth parameters of yield of plantain (*Musa* cv. AAB). *Annals of Botany* 56: 197-204.
- Wilson G.F. 1987. Status of bananas and plantains in West Africa. Pp. 29-35 in *Banana and plantain breeding strategies* (G.J. Persley and E.A. De Langhe, eds). Proceedings of an International workshop, 13-17 October 1986, Cairns, Australia. ACIAR Proceedings No. 21.

El autor es Profesor en la Facultad de Agricultura, Universidad de Kinshasa, BP 785 Kinshasa XI, República Democrática de Congo. Tel. +243 99 18257; Correo electrónico: pknmobambo@yahoo.fr

Enfermedades

Diseminación de la Sigatoka negra

## Evolución de la Sigatoka negra en Venezuela: 1997-2000

G. Martínez, J. Hernández,  
O. Tremont, R. Pargas  
y E. Manzanilla

Desde que se reportó por primera vez en Venezuela la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijensis* Morelet), se originó gran incertidumbre sobre el futuro de la producción de bananos y plátanos, debido a la compleja naturaleza de este patógeno, pudiendo generar alto potencial para su adaptación a nuevas condiciones cli-

máticas, fungicidas y genotipos de huésped (Ploetz 2000). Esto fue demostrado ante la pérdida de la eficiencia de algunos productos químicos usados para su control como benzimidazoles y triazoles (Douglas y Ching 1992, Estévez 1992, Guzmán *et al.* 2000, Romero 2000, Stover 1993).

Esta situación resalta la magnitud del problema que representa esta enfermedad, que induce al establecimiento de medidas de control integrado donde se incluye el uso de clones resistentes con alto potencial productivo (Rowe y Rosales 1993). La existencia de



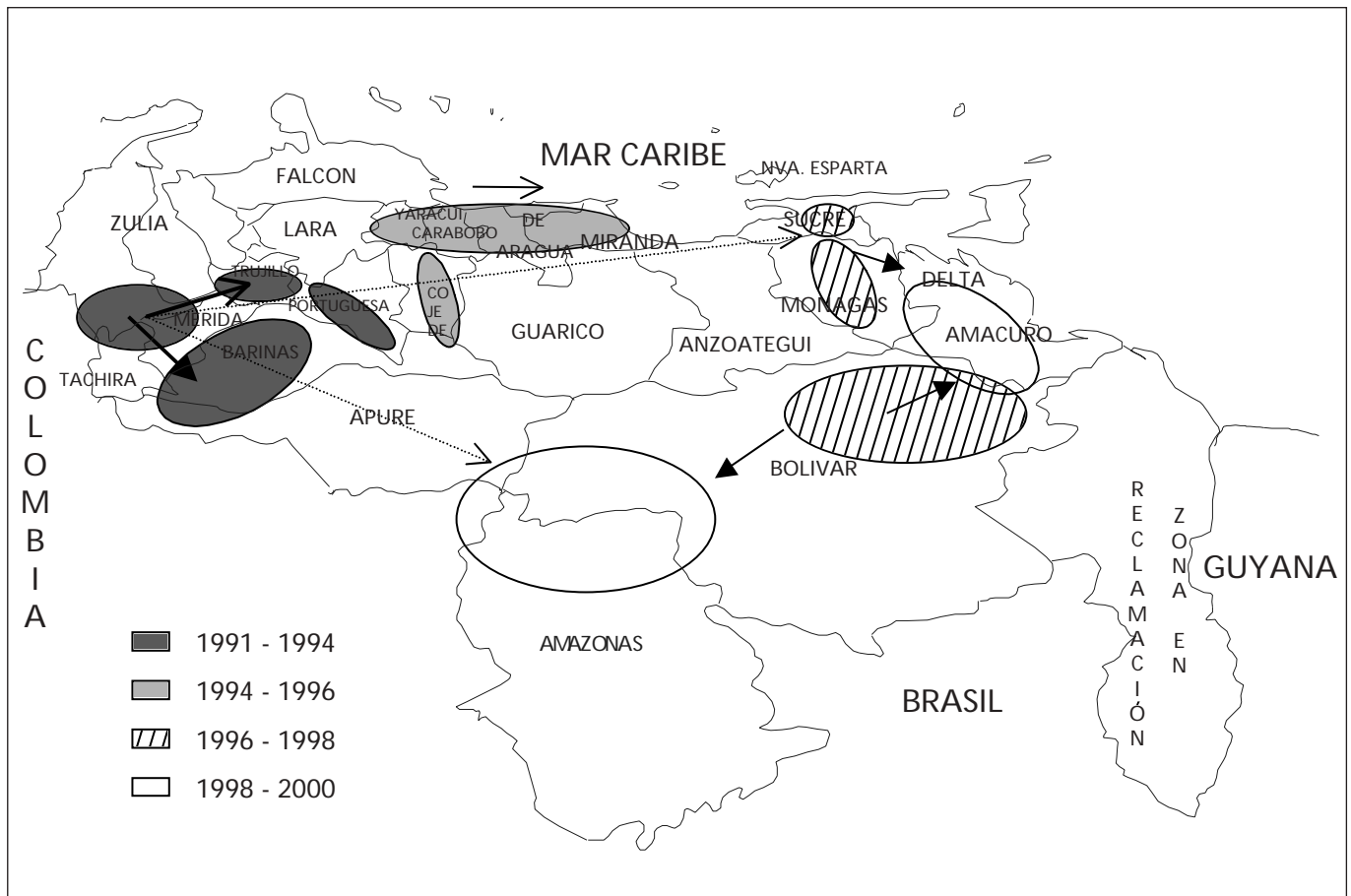


Figura 1. Evolución de la Sigatoka negra en Venezuela de 1991 a 2000.

una estrecha relación entre algunos factores climáticos como humedad relativa, temperatura y precipitación, y el patógeno, condicionan la incidencia y severidad de la enfermedad (Fouré 1994, Gauhl 1994). Esto ha permitido establecer su ruta de diseminación en el país e inferir sobre su comportamiento a mediano plazo en zonas donde no se habían reportado su presencia, tal como fueron señaladas en 1997 y 1998 (Martínez 1997, Martínez *et al.* 1998).

Este trabajo tiene como objetivo dar a conocer la situación actual de la Sigatoka negra en Venezuela, ruta de diseminación, relación con algunos factores climáticos que condicionan su agresividad, así como las medidas tomadas para su control. Para lo cual se realizó un recorrido en diferentes sectores de la zona sur oriental de Venezuela, colecta de muestras con síntomas típicos de la enfermedad para su identificación, entrevistas con productores y análisis de datos climatológicos (humedad relativa, precipitación y temperatura).

#### Situación actual y ruta de diseminación

La Sigatoka negra fue detectada por primera vez en Venezuela en 1991 en el estado Zulia, región occidental (Haddad *et al.* 1992, Escobar y Ramírez 1995), extendiéndose

posteriormente a diferentes zonas y estados (Martínez 1997, Martínez *et al.* 1998). En este reporte se indica para 1997, su entrada al estado Bolívar, y entre 1999-2000 en los estados Delta Amacuro y Amazonas (extremos este y sur del país), respectivamente, zonas que fueron señaladas como de alto riesgo potencial de infección a corto plazo, basado en condiciones climáticas como precipitación y humedad relativa existentes (Martínez 1997, Martínez *et al.* 1998) (Figura 1).

Estas zonas se caracterizan por presentar precipitación mayor a 1500 mm/año, humedad relativa superior a 79% y temperatura promedio entre 25 y 28°C (Figuras 2 y 3), siendo indicativo de la relación entre el clima, la incidencia y desarrollo de la enfermedad (Fouré 1994, Gauhl 1994, Mobambo 1995), existiendo gran diferencia con la zona de Maracay (precipitación promedio de 922 mm/año, con seis meses de sequía). Esta situación ha permitido establecer un patrón de comparación entre dos condiciones agroecológicas totalmente diferentes, observándose los niveles críticos que puede alcanzar la enfermedad en cuanto a su severidad. Este modelo sirve de referencia para establecer medidas de control en base a las condiciones climáticas, e inferir sobre el posible desarrollo de la misma en zonas donde las condiciones cli-

máticas presentan similares características (Martínez *et al.* 2000).

Fouré (1994) indica la existencia de relaciones entre parámetros climáticos y el desarrollo de la enfermedad que permiten un mejor entendimiento de la dinámica de la misma en zonas productoras y el potencial para iniciar infecciones futuras. La liberación de ascosporas ante la presencia de lluvias es alta, atribuido a la existencia de una capa de agua en la superficie de la hoja donde existe una mayor cantidad de manchas en el envés. Las hojas secas adheridas a las plantas representan una excelente fuente de inoculo (Gauhl 1994). En relación a la temperatura, se estima que las ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis* germinan entre 10 a 38°C, considerándose óptimo 27°C; observándose que la velocidad relativa del crecimiento de los tubos germinativos de estas se deprimen fuertemente en temperatura menores de 20°C (Pérez y Mauri citados por Pérez 1996). Con respecto al efecto del viento, se ha observado que la concentración de las conidiosporas en las plantaciones es alta en las capas inferiores del aire, en comparación con el follaje, mientras que la concentración de las ascosporas en el aire es la misma en ambas alturas, lo cual indica su importancia en el ciclo de la enfermedad (Stover 1984, Gauhl 1994).

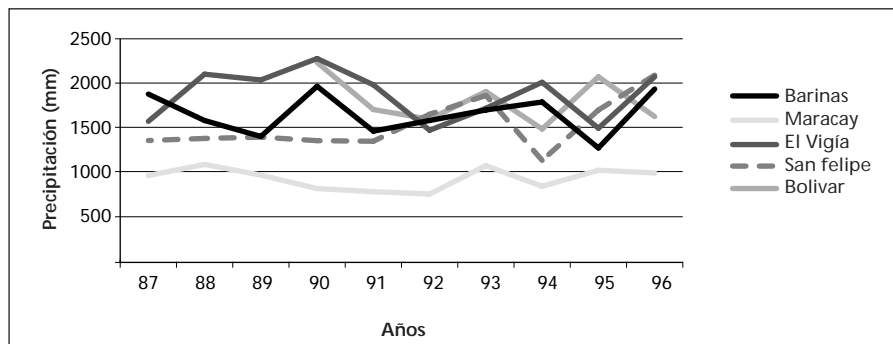


Figura 2. Niveles de precipitación en las zonas de Barinas, Maracay, El Vigía, San Felipe y Bolívar. (Fuente: FAV.MARNR, DANAC).

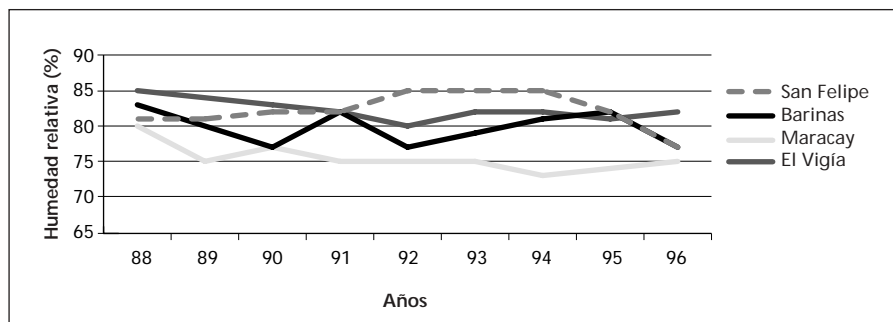


Figura 3. Niveles de humedad relativa en las zonas de Barinas, Maracay, El Vigía, San Felipe. (Fuente: FAV.MARNR, DANAC).

Cabe destacar la presencia de algunos accidentes geográficos en determinadas zonas que aparentemente guardan relación con el comportamiento de los factores climáticos antes señalados, condicionando el desarrollo y nivel de severidad de la enfermedad. El primer reporte de la enfermedad en el país se indica en la zona sur del lago de Maracaibo, donde existe una alta humedad relativa, que puede estar relacionada con la presencia del lago, sumado a la topografía del paisaje presente en la zona. Estas condiciones son muy similares a las existentes en la cercanía al lago de Valencia (punto de entrada de la Sigatoka negra al estado Aragua), y sectores cercanos a las vegas del río Caroni, Hato Gil (estado Bolívar). De igual forma, la existencia de la cordillera de los Andes y la cadena del interior, que sirven como barrera natural para evitar el paso de esporas del hongo a otras zonas adyacentes, debería de restringir el movimiento natural de la enfermedad a la mismas, pudiéndose inferir que solo fue posible su entrada a estos sectores a través del traslado de material contaminado.

### Manejo de las plantaciones y impacto de la enfermedad sobre los productores

Entrevistas con productores y visitas realizadas en diferentes zonas del país nos revelan que las mayores pérdidas en estos cultivos se originan en parcelas donde se realiza ningún control de malezas, nematodos e insectos. Tampoco se practica la eliminación de

hojas secas colgantes ni la aplicación de fertilizantes. Existen también problemas de riego y drenaje así como una inadecuada distribución de las plantas en el campo. Los productores carecen de práctica de deshierbe y aplicación de productos químicos para el control de enfermedades, de asistencia técnica y de recursos para compra de insumos y equipos, de organizaciones de productores. Con un rendimiento limitado y dirigido a la subsistencia del núcleo familiar, las alternativas del pequeño productor son la venta de la finca, cambio de rubro y/o abandono de la misma (Martínez *et al.* 2000).

En cuanto a los medianos productores, tienden a ajustar la superficie explotada basada en el incremento de los costos de producción, logrando obtener rendimientos ponderados de acuerdo a la inversión; y los grandes productores han logrado convivir con la enfermedad, como es evidente en el sur del Lago de Maracaibo, donde existen asociaciones de productores y empresas, con mejoras en las plantaciones en cuanto a calidad del producto, que es destinado al mercado internacional, mientras el remanente va al mercado nacional y local, donde no existe control de calidad (Martínez *et al.* 2000).

### Cambios observados en el manejo de los cultivos ante la presencia de la Sigatoka negra

La presencia de la Sigatoka negra en el país a inducido cambios radicales en la forma de

manejar estos cultivos. El criterio tradicionalista de llevar cabo estas explotaciones como cultivos perennes, tiende a ser cambiado de manera paulatina hacia el manejo de cultivos semiperennes, y en algunos casos como anuales, acompañados por la introducción de altas densidades de siembra e inclusive asociados a otros cultivos de ciclo corto, que permiten incrementar tanto los rendimientos como la diversidad de productos obtenidos. Esto se ha llevado a cabo a través de trabajos de investigación realizados por el INIA, observándose igualmente que el concepto de organización entre los productores ha adquirido elevado grado de importancia.

En los diferentes ensayos de campo, se hace énfasis en la aplicación de prácticas culturales básicas de manera eficiente, como eliminación de hojas secas colgantes y aplicación de fertilizantes, entre otras, las cuales no se realizaban de manera habitual, demostrándose que estas prácticas contribuyen a disminuir la cantidad de inoculo del patógeno en la plantación y condicionan a la planta a ser atacada con menor facilidad por el hongo (Gauhl 1994).

La búsqueda de reducción en las aplicaciones de productos químicos para el control de la enfermedad, a fin de lograr convivir con este patógeno es evidente. Se utiliza además como alternativa el uso de clones resistentes, bien como hileras intercaladas dentro de la plantación comercial de los clones tradicionalmente explotados en el país (con el fin de reducir la cantidad de inoculo disponible) o como alternativa de producción, tal como se evidencia en el sector de Ocumare de la Costa, en el estado Aragua, donde se lleva cabo la siembra del plátano FHIA-21, que por presentar una textura mas suave que el plátano 'Hartón gigante', permite la elaboración de tostones o chips de excelente calidad, permitiendo penetrar este mercado, con gran aceptación por parte de los consumidores. De igual manera, cabe destacar que existen otros clones como FHIA-01, FHIA-02 y FHIA-03 que han demostrado excelentes niveles de rendimiento y comportamiento ante la enfermedad, y que se presentan como alternativas de producción.

### Conclusiones

1. La velocidad de diseminación del patógeno en el país ha sufrido fuerte incremento; su paso de la zona occidental a la central requirió de cinco años, mientras que el paso desde esta última, a la zona oriental y sur, tardó solo un año, siendo evidente que esta evolución ha sido favorecida por la acción del hombre, lo cual ha originado incertidumbre debido al aumento de 40 a 45% de los costos de producción, donde el pequeño productor es el



mas afectado. El avance de la enfermedad en el territorio nacional señala su presencia en el estado Bolívar, Delta Amacuro y Amazonas entre 1997 y 2000.

2. El caso del estado Amazonas, frontera con Brasil, es específico. El plátano y el banano son cultivados por comunidades indígenas y constituyen elementos esenciales de su dieta alimenticia. El ecosistema de la zona es frágil y existe una compleja diversidad genética y biológica. Por estas razones, esta contraindicada la aplicación de productos químicos para el control de la Sigatoka negra, siendo lo más indicado el uso de clones resistentes, sin aplicación de ningún producto químico, aun cuando su grado de aceptación por los consumidores no es total.
3. Es evidente que en la actualidad, la presencia de la Sigatoka negra en el país ha generado cambios radicales en el manejo agronómico tradicional a que han sido sometidas estas plantaciones, manifestado a través de la aplicación eficiente de las prácticas agronómicas básicas enmarcadas dentro del control integrado, que conducen a una convivencia con este patógeno, lo cual ha sido demostrado a través de innumerables trabajos de investigación realizados por el INIA.

#### Agradecimiento

Agradecemos especialmente al Sr. Daniel Muñoz, por su valiosa colaboración en la toma de información en campo, a la Corporación Venezolana de Guayana (CVG), a través del Ing. Marcos Sanoja, a Fundacite-Guayana por el apoyo logístico, al personal de climatología de la Fuerza Aérea Venezolana (FAV) Maracay, Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables (MARNR) y a la Fundación Polar a través de DANAC. ■

#### Bibliografía

- Douglas M. & L. Ching. 1992. Monitoreo de sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* al Benomil. Pp. 17-19 in Informe anual Corbana.
- Escobar C. & M. Ramírez. 1995. Avance y establecimiento de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el occidente de Venezuela. Universidad Nacional Experimental del Táchira y Ministerio de Agricultura y Cria-SASA. VIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. XIV Congreso Venezolano de Fitopatología. Universidad de los Andes. Mérida.
- Estévez M. 1992. Monitoreo sobre la resistencia de la Sigatoka Negra a fungicidas sistémicos, penetrantes, inhibidores de esteroides. Revista PNB. (Ecu): 32-33.
- Fouré E. 1994. Leaf spot diseases of banana and plantain caused by *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*. Pp. 37-46 in The improvement and testing of *Musa*: a global partnership. Proceedings of the first Global Conference of the International *Musa* Testing Programme (D. Jones, ed.). INIBAP, Montpellier, Francia.
- Gauhl F. 1994. Epidemiology and ecology of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on plantain and banana in Costa Rica, Central America. PhD thesis originally presented in German. INIBAP, Montpellier, Francia. 120pp.
- Guzmán M., A. Jiménez, R. Vargas & R. Romero. 2000. Caracterización de cepas de *M. fijiensis*, causante de la Sigatoka negra, con menor sensibilidad a fungicidas triazoles. P. 64 in Reunión ACORBAT 2000. Memorias.
- Haddad O., M. Bosque, J. Osorio & L. Chávez. 1992. Aspectos fitosanitarios: Sigatoka negra medidas de prevención y control. FONAIAP Divulga 40: 44-45.
- Martínez G. 1997. Situación actual de la Sigatoka negra en Venezuela. *INFOMUSA* 6(1): 16-17.
- Martínez G., R. Pargas, E. Manzanilla & D. Muñoz. 1998. Sigatoka negra en Venezuela: informe 1997. *INFOMUSA* 7 (1): 31-32.
- Martínez G., J. Hernández & A. Aponte. 2000. Distribución y epidemiología de la Sigatoka negra

en Venezuela. Serie C.48. FONAIAP. Fundacite Guayana. 50pp.

- Mobambo K. 1995. Factores que influyen sobre el desarrollo de la Sigatoka negra en plátano. *INFOMUSA* 4(1):16-17.
- Pérez L. 1996. Manual para el control integrado de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder) en banano y plátano. Proyecto TCP/CUB/4454. 27pp.
- Ploetz R. 2000. La enfermedad más importante del banano y el plátano: Una breve introducción a la historia, importancia y manejo de la Sigatoka negra. P. 117 in Reunión ACORBAT 2000. Memorias. Mesa redonda Sigatoka negra.
- Romero R. 2000. Podemos evitar o disminuir el riesgo de desarrollo de resistencia a los fungicidas en las poblaciones de *M. fijiensis*? P. 118 in Reunión ACORBAT 2000. Memorias. Mesa redonda Sigatoka negra.
- Rowe P. & Rosales F. 1993. Mejoramiento de diploides en la FHIA y desarrollo de Goldfinger (FHIA-01). *INFOMUSA* 2(2): 9-11.
- Stover R. 1984. Las manchas producidas por las Sigatokas en hojas de bananos y plátanos. Curso internacional de reconocimiento, diagnóstico y control de Sigatoka negra del plátano y banano. Mayo 14 al 18. Tulenapa. Colombia. 15pp.
- Stover R. 1993. Cambios en la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* al tilt. Informe UPEB 16(97): 41-44.

Los autores trabajan en diferentes centros del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, INIA (antiguo FONAIAP), Venezuela. **Gustavo Martínez, Rafael Pargas y Edwuard Manzanilla**, CENIAP-Maracay, apartado postal 4653, Maracay,. E-mail: martinezgve@yahoo.es/recfitog@reacciun.ve. **Julitt Hernández** en el CIAE-Yaracuy; y **Omar Tremont** en el CIAE-Amazonas.

## Frecuencia de *Paracercospora fijiensis* y *Pseudocercospora musae* en plátano Dominico hartón

C. Lorena Cardona-Sánchez  
y J. Castaño-Zapata

El plátano (*Musa* sp.) es un cultivo de subsistencia y en muchas regiones es la base de la alimentación de la población especialmente de la ubicada en las zonas rurales, con un consumo *per capita* a nivel nacional estimada en 68.5 Kg./año. En

la mayor parte se cultiva con labores agronómicas mínimas, motivo por el cual la Sigatoka amarilla y la Sigatoka negra han incrementado su intensidad y diseminación (Merchán 1998), reduciendo la producción hasta en un 50% (Burt *et al.* 1997). En el país se cultivan alrededor de 384 957 ha de las cuales el 75% está cultivado en plátano Hartón y Dominico hartón, esta última variedad es ampliamente cultivada en las áreas plataneras del país, de gran

aceptación comercial por sus características organolépticas y tamaño; siendo altamente susceptible a las Sigatokas negra y amarilla en la zona marginal baja cafetera (Merchan 1992).

Actualmente, estas enfermedades se encuentran compitiendo en altitudes superiores a 1000 msnm. Según algunos reportes, la Sigatoka negra, causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, se encuentra atacando al plátano Dominico

hartón, en el municipio de Victoria (Caldas) a 1100 msnm, siendo más agresiva que la Sigatoka amarilla, causada por *Mycosphaerella musicola* Leach, enfermedad a la que desplazó en menos de seis meses (Merchán 1992). Un comportamiento similar se observó en el municipio de Pueblo Rico (Risaralda) a 1560 msnm (Merchán 1992). Según los últimos informes, la Sigatoka negra puede afectar el plátano desde el nivel del mar hasta los 1940 m de altitud (Belalcázar *et al.* 1994).

Las Sigatokas son difíciles de diferenciar entre sí a nivel de campo con base en los síntomas externos, lo cual no permite establecer con claridad cual de las dos enfermedades tiene mayor incidencia cuando están coexistiendo (Aguirre *et al.* 1998b). A nivel de microscopio, *M. fijiensis* y *M. musicola* se distinguen principalmente por las diferencias morfológicas de sus anamorfos, en particular, las características de los conidióforos y conidios, especialmente por la presencia de cicatrices en los conidióforos y conidios de *Paracercospora fijiensis*, ausentes en *Pseudocercospora musae* (Aguirre *et al.* 1998b).

Para el manejo de estas enfermedades, se podría recurrir al uso de productos químicos; práctica que no es muy aplicable al sistema tradicional de explotación del cultivo. Para dar solución a este problema se ha estado trabajando en la búsqueda de alternativas más económicas, como es el uso de materiales que presenten resistencia a ambas enfermedades, que implica una menor esporulación de sus agentes causales. Este trabajo, se realizó con el fin de determinar la frecuencia de esporas de *P. fijiensis* y *P. musae* en plátano Dominico hartón, susceptible a las Sigatokas negra y amarilla.

### Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Departamento del Tolima, a 7 km del Municipio de Fresno, en la vía que de Manizales (Caldas) conduce a Mariquita (Tolima), en la vereda La Ceiba, finca Campoalegre, ubicada a 1250 msnm, con una temperatura que oscila entre 18-25°C, una humedad relativa entre 65-100% y precipitación anual de 1800mm.

Inicialmente se sembraron 1600 plantas del clon Dominico hartón, provenientes de cultivo *in vitro*, multiplicadas en el laboratorio de cultivo de tejidos del Departamento de Fitotécnia de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Caldas y posteriormente aclimatadas en la granja Montelindo de la Universidad.

Las evaluaciones se llevaron a cabo semanalmente en 53 clones seleccionados al azar. La información fue registrada desde el 13 de septiembre de 1998, época en que se inició la inflorescencia, hasta cosecha, la cual se rea-

lizó el 13 de marzo de 1999. A todos los materiales se les tomó improntas semanales, sobre hojas atacadas por las Sigatokas con el fin de cuantificar la cantidad de esporas de los estados anamorfos de *M. fijiensis* (Figura 1) y *M. musicola* (Figura 2).

La impronta consiste en jeringas con agar solidificado en forma de dispensador, el cual se puede obtener utilizando una jeringa desechable de 5 cm<sup>3</sup>, a la que se le remueve el extremo anterior formando un cilindro de 1.26 cm de diámetro. El dispensador es llenado con agar cristal violeta, que se prepara mezclando 1 g de agar bacteriológico, 15 ml de solución de cristal violeta al 1% y 100 ml de agua destilada. Esta mezcla se lleva al autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 mn, posteriormente a este medio estéril se le adiciona 1 mg de benomyl y dos sensibilizadores de estreptomycin de 10 mg (Aguirre *et al.* 1998b).

Para la cuantificación de los conidios fue tomada semanalmente una impronta por

cada material evaluado, la cual consiste en remover los conidios presionando la superficie del agar contra la lesión en estado 4 o 5 de la hoja más joven manchada. El cilindro de agar cristal violeta más conidios, se coloca sobre un portaobjetos, el cual se lleva a una bandeja en cuyo interior se pone papel toalla humedecido con agua estéril. Las bandejas se cubren con bolsas de plástico y se depositan en una caja de icopor hermética.

La identificación y el conteo de conidios/cm<sup>2</sup> de ambos hongos, se hizo utilizando un microscopio compuesto marca *Olympus* a través del objetivo 40 X.

Las variables analizadas fueron número de conidios/cm<sup>2</sup> de *P. fijiensis* y *P. musae*, temperatura (máxima, media y mínima), humedad relativa y precipitación.

A cada una de las variables se les realizó análisis de varianza, procedimientos descriptivos de valores máximos, mínimos y medios, regresiones, correlaciones de Pearson y pruebas de Chi-cuadrado. Los



Figura 1. Conidios de *Paracercospora fijiensis*, anamorfo de *Mycosphaerella fijiensis*.

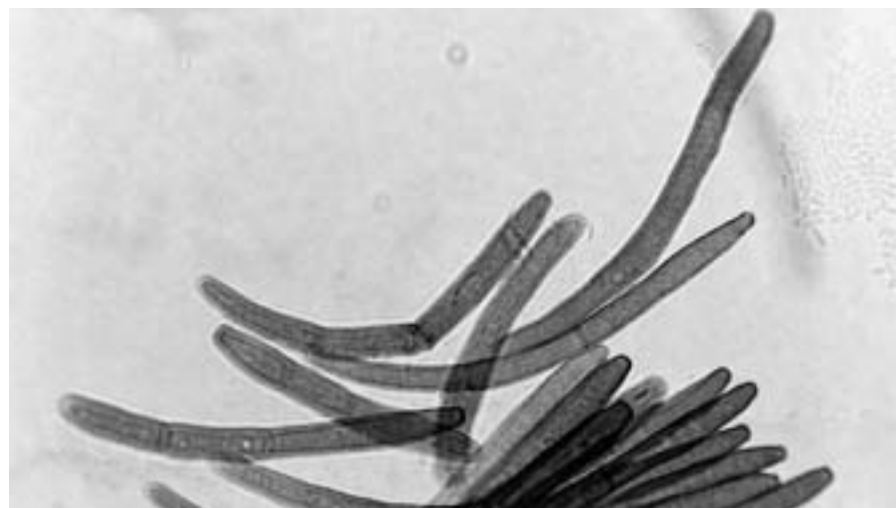


Figura 2. Conidios de *Pseudocercospora musae*, anamorfo de *Mycosphaerella musicola*.

resultados fueron procesados en el programa estadístico SAS (*Statistical Analysis System*, SAS Institute 1980). El número de conidios fue transformado con  $\ln x + 1$ , porque es la función que más se ajusta para explicar el comportamiento de los datos, siendo  $x$  el número de conidios/cm<sup>2</sup>.

### Resultados y discusión

Los análisis de varianza para el conteo de *P. fijiensis* y *P. musae* indicaron diferencias altamente significativas para clones y fechas de evaluación. Para la interacción de estos dos factores se presentó diferencia sólo significativa para *P. fijiensis* y altamente significativa para *P. musae*, lo que indica que una alta o baja producción de inóculo depende del material de siembra y de la influencia de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de cada material (Tabla 1).

Los procesos de infección y producción de inóculo fueron favorecidos durante las épocas lluviosas, ya que a medida que aumentó la precipitación se incrementó el número de conidios muestreados de *P. fijiensis* y *P. musae*, presentando dos etapas de máxima producción de conidios, a los 334 días después de siembra (dds) y a los 424 dds, coincidiendo con los máximos niveles de precipitación alcanzados durante el estudio, con una precipitación acumulada de 211.8 mm y 296.2 mm, respectivamente (Figura 3A), lo cual está de acuerdo con los estudios realizados por Aguirre *et al.* (1998a), quienes observaron que la precipitación acumulada tiene una relación inversa con el período de incubación y de evolución de las Sigatocas negra y amarilla y una relación directa con la esporulación. Esto significa que al aumentar el volumen de lluvia acumulado semanalmente, los períodos de incubación y de evolución de las Sigatocas disminuyen, causando mayores severidades de las enfermedades, y por consiguiente, mayor producción de inóculo de los agentes causales. A partir de los 424 dds, la relación que existía entre el número de conidios y la precipitación empezó a reducirse, notándose claramente a los 473 dds, cuando no obstante ocurrió un incremento en la precipitación (192.5 mm), la producción de conidios fue muy baja debido a que el follaje de las plantas se encontraba severamente necrosado, no existiendo más tejido sano para ser infectado.

La temperatura y la humedad relativa, permanecieron relativamente constantes con un promedio de 21.5°C (Figura 3B) y 81% (Figura 3C), condiciones óptimas para la producción de conidios. De acuerdo a Mouliom Pefoura y Mourichon, (1990) y Tapia (1993), citados por Porras y Pérez (1997), temperaturas superiores a 20°C

**Tabla 1.** Componentes del análisis de varianza para el número de conidios de *Paracercospora fijiensis* y *Pseudocercospora musae*.

ANOVA	<i>P. fijiensis</i>					
	G.L.	C.M.	F	Pr > F	R <sup>2</sup>	C.V. (%)
Modelo	985	6.83	3.74	0.0237*	0.99**	35.8
Error	8	183				
Clones	53	10.67	5.84	0.0061**		
Fechas de evaluación	18	56.59	30.97	0.0001**		
Interacción clon-fecha	859	5.53	3.03	0.0456*		
<b>Total</b>	<b>943</b>					

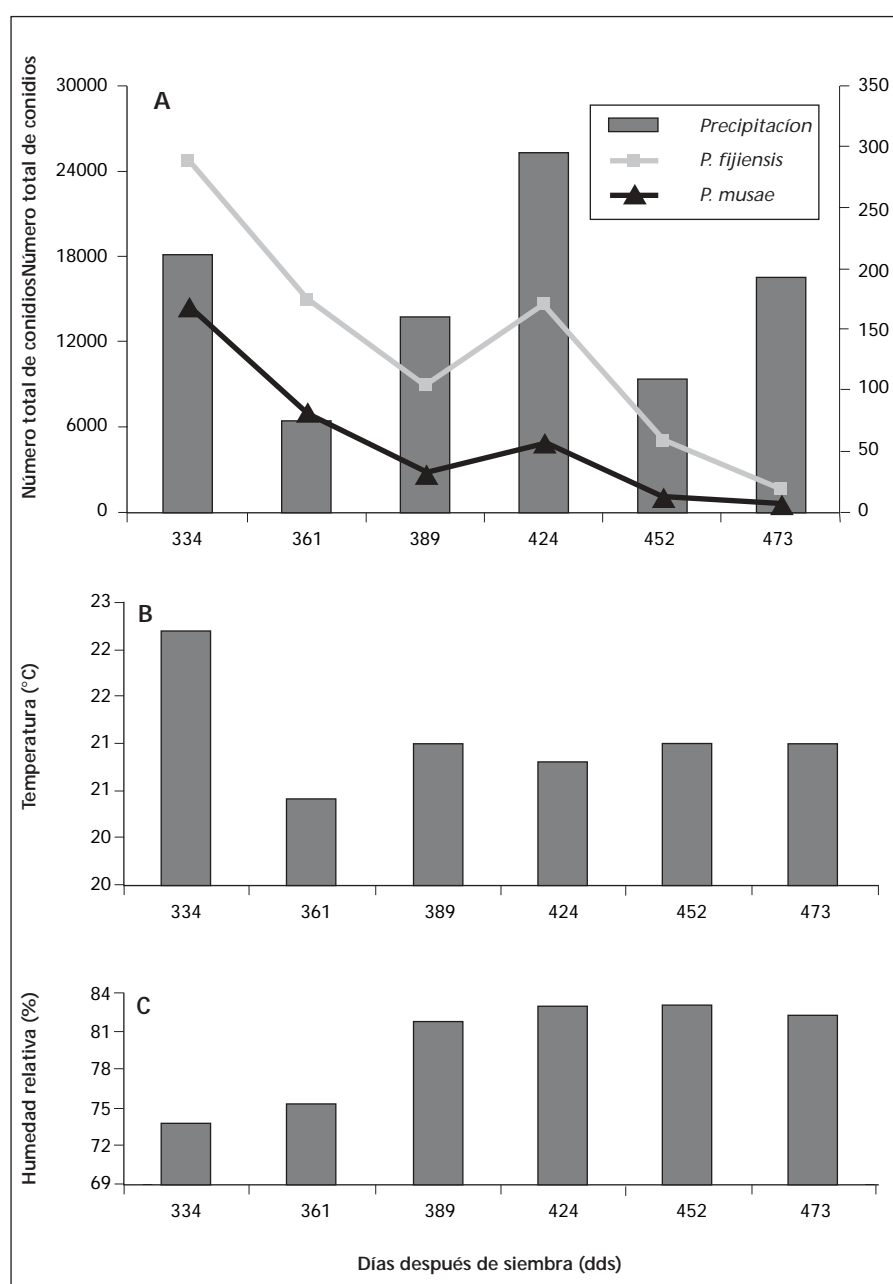
  

ANOVA	<i>P. musae</i>					
	G.L.	C.M.	F	Pr > F	R <sup>2</sup>	C.V. (%)
Modelo	936	3.79	11.93	0.0004**	0.99**	23.31
Error	8	0.32				
Clones	53	3.39	10.67	0.0007**		
Fechas de evaluación	18	40.50	127.67	0.0001**		
Interacción clon-fecha	860	3.04	9.59	0.0009**		
<b>Total</b>	<b>944</b>					

\* : Denota diferencias significativas, p = 5%

\*\* : Denota diferencias altamente significativas, p = 1%

Nota: Variables transformadas con raíz cuadrada del número de conidios.



**Figura 3.** Total de conidios de *P. fijiensis* y *P. musae* muestreados a través del tiempo en los 53 clones y su relación con las condiciones climáticas. A. Precipitación, B. Temperatura y C. Humedad relativa.



**Tabla 2.** Promedio de conidios muestreados/cm<sup>2</sup> a través del tiempo de *P. fijiensis* y *P. musae* y sus desviaciones estándares, de acuerdo con la precipitación (Septiembre 1998 – Marzo 1999).

Días después de siembra (dds)	Correlación (r)		Conidios de <i>P. fijiensis</i>	Desviación estándar	Conidios de <i>P. musae</i>	Desviación estándar	Precipitación semanal (mm)
319	0.7782	**	45	65.96	37	58.55	81.60
326	0.7466	**	42	55.10	16	25.65	34.40
334	0.8464	**	26	46.98	12	24.87	95.80
340	0.8115	**	32	58.84	13	20.71	9.70
347	0.6622	**	23	29.70	12	27.17	21.00
361	0.8557	**	13	11.35	7	8.61	44.00
375	0.6407	**	31	37.79	9	14.34	51.80
389	0.7373	**	11	22.61	3	4.80	109.10
404	0.8552	**	22	41.92	8	14.96	173.70
411	0.6903	**	15	20.72	5	8.69	42.20
418	0.7697	**	16	18.44	4	6.55	25.30
424	0.6966	**	14	19.26	5	11.66	55.00
438	0.8575	**	14	21.65	2	3.78	51.90
452	0.6361	**	10	13.14	2	4.78	57.60
466	0.6028	**	5	6.05	2	3.68	103.20
473	0.8074	**	4	6.08	2	4.35	89.30
493	0.5474	**	3	3.62	1	2.50	220.80
<b>Promedio</b>			<b>19</b>		<b>8</b>		<b>81.32</b>

\*\* Correlaciones altamente significativas entre el número de conidios de *P. fijiensis* y *P. musae* a través del tiempo en relación con la precipitación.

**Tabla 3.** Comparación del promedio de conidios/cm<sup>2</sup> de *P. fijiensis* y *P. musae* en los clones evaluados en relación con la precipitación.

Días después de siembra (dds)	Promedio de conidios de <i>P. fijiensis</i>	Promedio de conidios de <i>P. musae</i>	Precipitación (mm)
319	45 <sup>a</sup>	37	81.60
326	42	17	34.40
334	26	12	95.80
340	32	13	9.70
347	23	13	21.00
361	13	6	44.00
375	31	9	51.80
389	11	3	109.10
404	22	8	173.70
411	15	5	42.20
418	16	4	25.30
424	14	5	55.00
438	14	2	51.90
452	10	2	57.60
466	5	2	103.20
473	4	1	89.30
493	3	0	220.80
<b>Total</b>	<b>281</b>	<b>139</b>	<b>1 266.00</b>

favorecen el desarrollo de conidios de *P. fijiensis*. Según Stover (1965), temperaturas superiores a 22°C favorecen la producción de conidios de *P. fijiensis*, siendo 26°C la temperatura óptima (Stover 1965). Una humedad relativa cercana al 100% favorece la reproducción y viabilidad de las esporas, sobre todo cuando hay presencia de una película húmeda sobre la hoja (Jacome y Schuh 1992).

La cantidad de conidios de *P. fijiensis* siempre fue superior al número de conidios

de *P. musae*, en una relación de 2.3 a 1 (Tabla 2), lo que permite afirmar que la Sigatoka negra tiende a desplazar a la Sigatoka amarilla por su mayor agresividad, lo cual concuerda con los estudios realizados por Aguirre *et al.* (1998a) en la misma zona, quienes demostraron que la Sigatoka negra fue más agresiva, presentándose épocas del año en que la Sigatoka amarilla desaparecía, con la tendencia a ser desplazada por la Sigatoka negra. En general, hubo una correlación directa altamente sig-

nificativa entre el número de conidios muestreados de *P. fijiensis* y *P. musae* y la precipitación, lo cual también concuerda con los estudios realizados por Aguirre *et al.* (1998a), quienes observaron que la fluctuación en el número de conidios capturados por semana está altamente relacionada con la precipitación.

En la época de inflorescencia, que coincidió con el inicio del estudio, la desviación estándar fue alta hasta los 452 dds, cuando la mayoría de los materiales habían emitido bellota; dicha desviación se debió principalmente a la influencia de la precipitación sobre la producción de conidios como se ha reiterado en los resultados donde *P. fijiensis* tuvo mayor frecuencia con respecto a *P. musae* (Tabla 2).

De los 319 a los 347 dds, se presentó una precipitación acumulada de 242.5 mm, observándose una alta frecuencia de conidios de ambos hongos, sin embargo, entre los 361 hasta los 404 dds, la precipitación acumulada fue demasiado alta con 378.6 mm, disminuyendo el número promedio de conidios de ambos patógenos. Es de resaltar que a los 438 dds, se presentó el más alto valor de correlación ( $r = 0.8575$ ) entre el número de conidios y la precipitación (Tabla 2).

Entre los 411 dds y 452 dds se empezó a observar gran parte del tejido foliar necrosado. En este periodo se obtuvo 232 mm de lluvia y un promedio de 14 conidios/cm<sup>2</sup>/clon de *P. fijiensis* y 4 conidios/cm<sup>2</sup>/clon de *P. musae*.

A partir de los 466 dds, cuando el cultivo estaba finalizando su ciclo, las desviaciones estándares fueron bajas, ya que la mayoría de los clones se encontraban severamente afectados y no existían hojas disponibles para causar más infección, de ahí la baja población de conidios de ambos hongos, reflejándose en una desviación estándar baja. Al momento de la cosecha la cantidad promedio de conidios de *P. fijiensis* y *P. musae* fue de 4 y 2 conidios/cm<sup>2</sup>/clon, respectivamente.

La población de conidios de *P. fijiensis* siempre fue superior a la de *P. musae*, disminuyendo la población de conidios de ambos hongos a medida que escaseó el tejido susceptible sano (Figura 4).

Con el fin de observar la relación existente entre ambos patógenos se realizó una regresión entre el número de conidios/cm<sup>2</sup> de *P. fijiensis* y *P. musae* en todos los clones evaluados. El coeficiente de correlación fue muy bajo ( $r = 0.40656$ ) (Figura 5), lo que indica que el número de conidios/cm<sup>2</sup> de *P. musae* no depende del comportamiento del número de conidios de *P. fijiensis* y viceversa y que la producción de conidios en cada clon depende de la susceptibilidad del material y las condiciones climáticas,

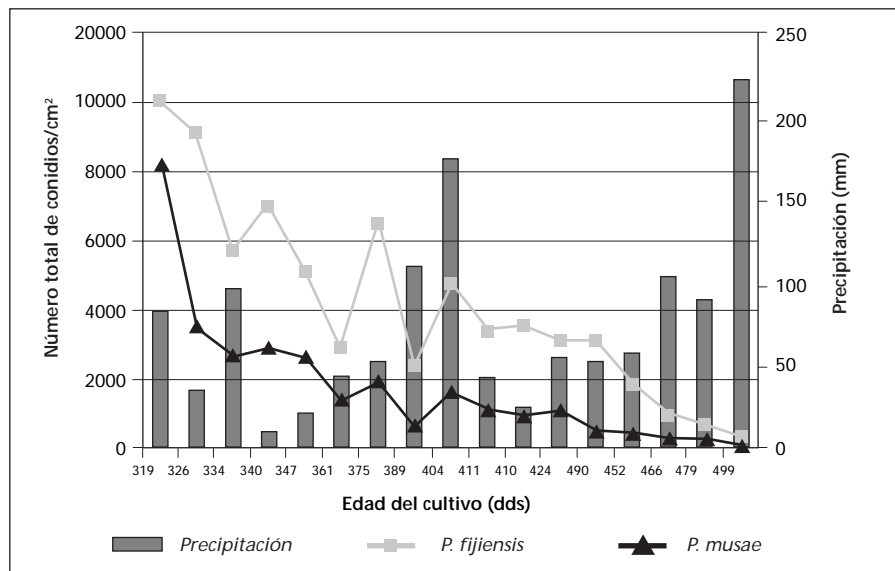


Figura 4. Frecuencia de *P. fijiensis* y *P. musae* a través del tiempo y su relación con la precipitación.

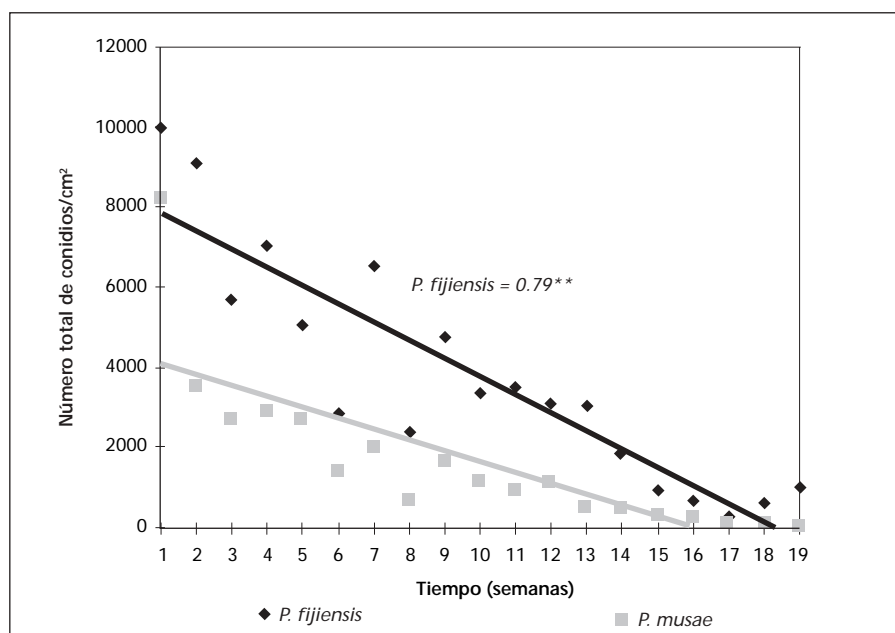


Figura 5. Relación entre el número de conidios de *P. musae* y *P. fijiensis*.

especialmente de la precipitación. A pesar que el número de conidios de *P. fijiensis* fue mayor, no siempre que incremente o disminuya en número, los conidios de *P. musae* siguen el mismo comportamiento, ya que no existe una relación directa y estrecha entre la producción de inóculo de los dos patógenos.

En general, los clones evaluados produjeron en total mayor número de conidios de *P. fijiensis*, ratificando que la Sigatoka negra tiende a desplazar a la Sigatoka amarilla (Tabla 3). ■

## Bibliografía

Aguirre M.C., J. Castaño-Zapata, J.A. Valencia, L.E. Zuluaga & C. Arce. 1988a. Interacción de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y *M. musicola* Leach en siete genotipos de *Musa* spp. en un área límite de expansión de la Sigatoka negra en la zona cafetera colombiana. Pp. 192-220 in

Memorias del Seminario Internacional sobre Producción de Plátano. Universidad del Quindío – Comité de Cafeteros del Quindío – SENA – INIBAP – CORPOICA.

Aguirre M.C., J. Castaño-Zapata & L.E. Zuluaga. 1998b. Método rápido de diagnóstico de *Mycosphaerella musicola* Leach y *M. fijiensis* Morelet, agentes causales de la Sigatoka amarilla y Sigatoka negra. *Agronomía* 8(2): 26-30.

Belalcázar C.S., V.F. Salazar, M.J.A. Valencia, S.C.H. Silva, P.M.I. Arcila & R. Jaramillo. 1994. Reacción de variedades mejoradas de plátano al ataque de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). Pp. 192-214 in *Mejoramiento de la producción del cultivo del plátano. Segundo informe técnico 1984-1994. Región 9, ICA-CORPOICA. Creced-Quindío, Armenia, Colombia.*

Burt J.A., J. Rutter & H. González. 1997. Short distance wind dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain. *Plant Pathology* 46(4):451-458.

Hernández G.J.C., J.A.C. Gómez & P.M.I. Arcila. 1994. Comportamiento agroeconómico de plántulas de plátano clon Dominico hartón *Musa* AAB Simmonds, manejados bajo condiciones de almácigo. Pp. 41-54 in *Mejoramiento de la Producción del Cultivo del Plátano. Segundo informe técnico 1984-1994. Región 9, ICA-CORPOICA. Creced-Quindío, Armenia, Colombia.*

Jacome L.H. & W. Schuh. 1992. Effects of leaf wetness duration and temperature on development of black Sigatoka disease on banana infected by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Phytopathology* 82(5): 515-520.

Merchán V.V.M. 1992. Informe de actividades convenio ICA-IRFA. Subdirección Investigación Estratégica. CORPOICA Regional 9. Pp. 5-10.

Merchán V.V. M. 1998. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera. Pp. 177-191 in *Memorias del Seminario Internacional sobre Producción de Plátano. Universidad del Quindío – Comité de Cafeteros del Quindío – SENA – INIBAP – CORPOICA.*

Porras A. & L. Pérez. 1997. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de los tubos germinativos de las ascósporas de *Mycosphaerella* spp. causante de la Sigatoka en banano. *INFOMUSA* 6(2): 27-31.

SAS Institute Inc. 1980. The SAS applications guide. (K.A. Council, ed.). SAS Inst., North Carolina. 195pp.

Stover R.H. 1965. Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola*. Effect of temperature on germination, hyphal growth, and conidia production. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 42(4): 351-360.

Claudia Lorena Cardona-Sánchez es estudiante de Pregrado. Programa de Agronomía. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas y Jairo Castaño-Zapata Profesor titular, Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Apartado aéreo 275. Manizales (Caldas), Colombia. Correo electrónico: fitotec@cumanday.ucaldas.edu.co

# Efecto del fungicida natural F20 contra la enfermedad Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano (AAB) y banano (AAA)

R. Sánchez Rodríguez,  
J.A. Pino Algora, C. Vallin Plous,  
M.E. Pérez Rodríguez, Y. Iznaga Sosa  
y F. Malpartida Romero

La presencia de la enfermedad de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en Cuba a partir del año 1990, trajo como consecuencia un incremento de los costos de producción en las plantaciones de plátanos y bananos debido al aumento en la frecuencia de aspersiones fitosanitarias aéreas y terrestres para combatir el agente causal. Se crea así la necesidad de llevar a cabo la búsqueda de alternativas con productos nacionales que hicieran posible la disminución de los costos del control de la enfermedad.

Los daños colaterales por el uso indiscriminado de productos químicos se han manifestado en la inducción de resistencia a fungicida por parte del agente causal, la formación de cepas más virulentas que las nativas y la contaminación ambiental entre otras (Rodríguez y Jiménez 1985, Fullerton y Olsen 1991, Mouliom Pefoura 1999).

El uso de productos naturales obtenidos a partir de microorganismos presenta grandes ventajas sobre los productos comerciales por ser su producción mucho menos dañina al ecosistema y por su biodegradabilidad *in situ* a compuestos no tóxicos por la propia microflora ambiental. La búsqueda de nuevos y variados productos de origen natural, no contaminantes del medio ambiente, para el combate de plagas y enfermedades representa una alternativa importante en una agricultura sostenible.

El producto F20 está compuesto por dos antibióticos: las estreptotricinas B y F. Estos antibióticos son producidos en su mayoría por microorganismos del género *Streptomyces*. En su estructura contienen un amino azúcar (glucosamina) al cual se une una cadena peptídica de  $\beta$ -lisina. La distinción entre las diferentes estreptotricinas, de la F a la A, depende del número de residuos de  $\beta$ -lisina en la cadena peptídica, desde 1- $\beta$ -lisina en la F a 6- $\beta$ -lisina en la A.

Las propiedades físico-químicas de las estreptotricinas, su espectro de actividad antimicrobiana y su toxicidad son bien conocidas (Wienstein y Wagmans 1978).

No hemos encontrado en la literatura reportes acerca del uso de las estreptotricinas en el control de fitopatógenos; particularmente no se reporta el uso, hasta el presente, de ningún antibiótico producido por microorganismos contra enfermedades en banano y plátano.

En este trabajo se muestra la posibilidad del uso de las estreptotricinas en el control de la Sigatoka negra en los clones de plátano (*Musa* AAB) cv. "CEMSA  $3/4$ " y de banano (*Musa* AAA) cv. "Parecido al Rey".

## Materiales y métodos

La investigación se ejecutó en el Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT). El producto F20, el cual contiene como principios activos los antibióticos estreptotricinas B y F, fue obtenido en el Centro de Química Farmacéutica (CQF) en colaboración con el Centro Nacional de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma, Canto Blanco, Madrid, España, por vía fermentativa a partir de las cepas *Streptomyces lavendofoliae* var. 383 (productora de estreptotricina B) y *Streptomyces rochei* var. f20 (productora de estreptotricina F), aisladas de suelos cubanos. El caldo fermentado fue centrifugado y el líquido sobrenadante sometido a un procedimiento cromatográfico con una resina de intercambio iónico IRC-50, obteniéndose finalmente una solución saturada de acetato de sodio después de eluir con ácido acético.

El producto fue aplicado después de disolver la solución saturada de acetato de sodio en la que se encuentran los antibióticos, en una solución acuosa que contenía 0.2 g/L de detergente comercial, como emulsificante y 60 ml/L de aceite mineral, para lograr una concentración final entre 5 y 13 g de estreptotricina/L, en una dosis entre 80–200 g de estreptotricina/ha. Las aspersiones se realizaron con una motomochila a la cual se le modificó el brazo de salida del producto para simular la aspersión aérea, a razón de 12 L/ha. El producto fue aplicado las semanas 8, 13, 17 y 22 en el banano y 5, 11, 16 en el plátano. Se realizó un deshoje fitosanitario cada dos semanas a todos los tratamientos y la aplicación de aceite mineral con 0.2 g/L de detergente comercial, como emulsificante, al tratamiento testigo para permi-

tir que las plantas testigos se mantuvieran durante todo el ciclo biológico.

Para cada clon por separado, plátano "CEMSA  $3/4$ " y banano "Parecido al Rey", se realizó un diseño experimental de bloques al azar de seis plantas por parcela y cuatro repeticiones.

El efecto del producto F20 contra la Sigatoka negra se comparó con las variantes sin tratamientos fitosanitarios y con aquellas parcelas bajo tratamiento químico con propiconazol (Tilt 250 EC.) a dosis de 400 ml PC/ha. El F20 se aplicó a una dosis similar a la del propiconazol.

El efecto de los fungicidas se determinó semanalmente mediante la medición del estado de evolución (EE) de la enfermedad, hoja más joven con síntoma o raya (HMJS), hoja más joven manchada (HMJM) (Fouré 1982, Pérez 1996, Orjeda 1998).

## Resultados y discusión

Las aspersiones con F20 y propiconazol (Tilt) con aceite mineral, provocaron la disminución del índice EE de la enfermedad en comparación con las parcelas sin tratamiento (ST) en los clones "Parecido al Rey" y "CEMSA  $3/4$ ".

En la Figura 1 podemos observar los resultados de las aplicaciones fitosanitarias en ambos clones. En los gráficos A y B se aprecia el comportamiento semejante de las aplicaciones con F20 y Tilt, las cuales resultaron sin diferencias significativas entre los valores de EE correspondientes ( $p > 0.05$ ) y ambas aplicaciones con diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) con el tratamiento testigo.

El efecto controlador de los productos aplicados se distingue, además, por la disminución del número de oscilaciones de los valores de EE en los gráficos y por las magnitudes de estas fluctuaciones en ambos clones. Por ejemplo, como consecuencia de la aplicación de los productos en la semana 5, los valores de EE disminuyen monótonamente entre las semanas 5 y 10, desde valores próximos a 3000 hasta alcanzar valores cercanos a 50 en el clon "CEMSA  $3/4$ "; disminuyendo la velocidad de desarrollo de la enfermedad, mientras que las plantas testigos mostraron un comportamiento oscilante con valores de EE entre 1500 y 2500.

Al analizar la variable HMJS (Figura 2) no se encontraron diferencias significativas



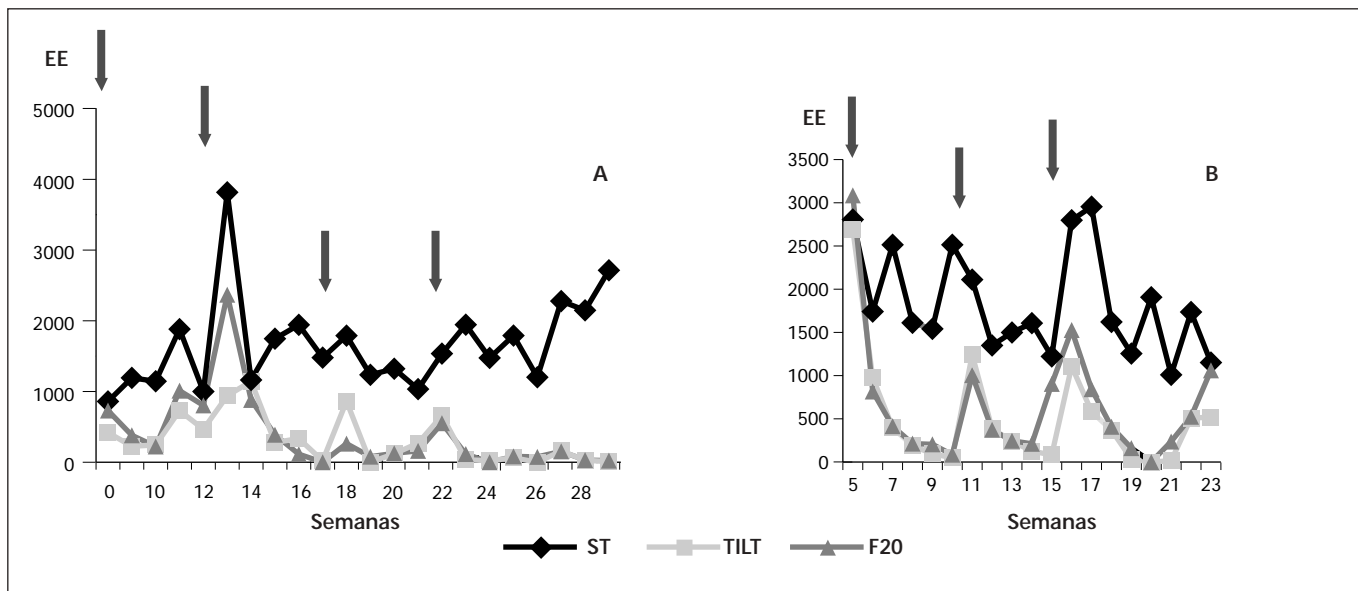


Figura 1. Efecto de los tratamientos F20 y Tilt sobre el estado evolutivo (EE) de la Sigatoka negra en los clones: A: "Parecido al Rey" (AAA) y B: "CEMSA 3/4" (AAB). Las flechas indican los momentos de aplicación.

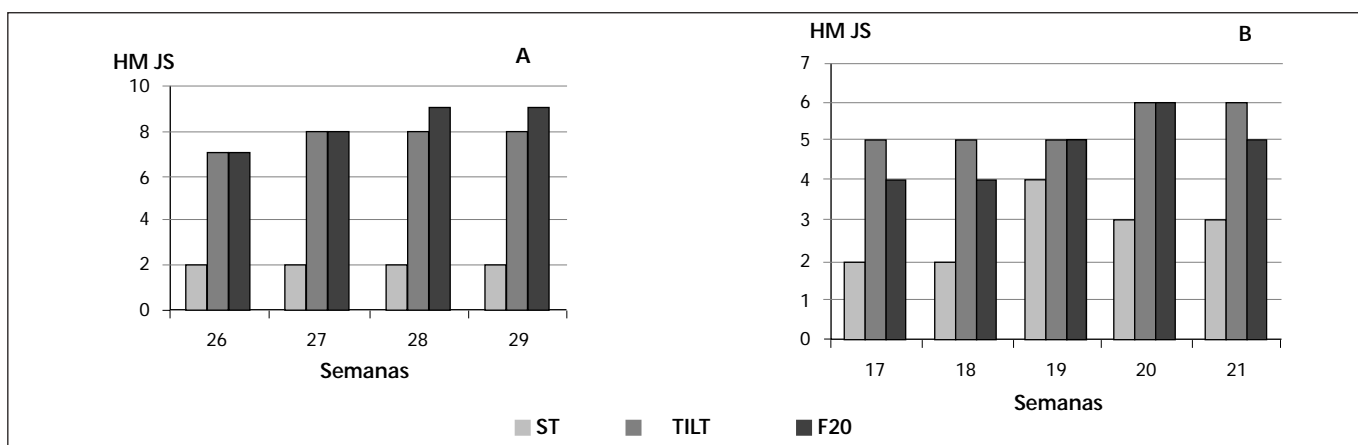


Figura 2. Hoja mas joven con síntoma o con raya (HMJS), semanas antes de la floración, despues de la aplicación del producto en los clones A: "Parecido al Rey" (AAA) y B: "CEMSA 3/4" (AAB). ST: Testigo.

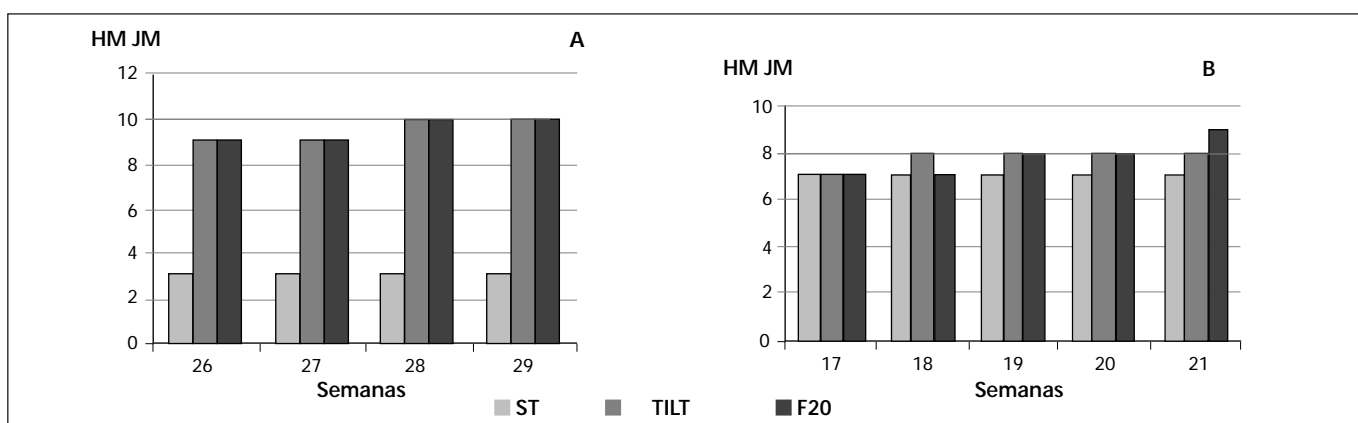


Figura 3. Hoja mas joven manchada (HMJM), semanas antes de la floración, despues de la aplicación del producto en los clones A: "Parecido al Rey" (AAA) y B: "CEMSA 3/4" (AAB). ST: Testigo.

( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos con F20 y Tilt. Sin embargo en el clon 'Parecido al Rey' la acción del F20 se hace notoria al detectarse el menor síntoma producido por la enfermedad, etapa 1, en la hoja 9 (Pérez 1996).

En la Figura 3 apreciamos que es posible alcanzar un valor de la HMJM igual o supe-

rior a 9 antes del inicio de la floración y así asegurar que no existan afectaciones en el peso o madurez prematura de los frutos en ambos clones; pues en Cuba se ha observado una alta correlación negativa del área foliar afectada con la HMJM (Pérez *et al.* 1993, Pérez 1996).

Todos los datos antes analizados sugieren la utilización del producto de origen natural F20 en mezclas con aceite mineral y detergente comercial, como emulsificante en el combate de la Sigatoka negra en los cultivos de bananos y plátanos. El F20 supera a los productos químicos sintéticos en su produc-

ción, mucho menos dañina al ecosistema. Cabe precisar que se observa un comportamiento diferente entre los dos clones, presentando "CEMSA  $3/4$ " valores de infección mas altos. Sin embargo, y para evitar una posible resistencias de parte del hongo, es importante que este producto sea incorporado al programa de control integral conjuntamente con los otros productos antifúngicos (Pérez 1996, Romero 1997).

### Conclusiones

- El producto F20 no mostró diferencias significativas con el producto comercial Tilt en su eficiencia controlando la Sigatoka negra.
- La mayor efectividad del F20 se alcanza en mezcla con aceite mineral y detergente comercial, como emulsificante, y el efecto se mantiene durante tres o cuatro semanas a partir del momento de aplicación.
- La aplicación de dosis entre 80-200 g de estreptotricina/ha permite el control de la Sigatoka negra en plantaciones en campo, en cualquier época del año. Aventajando a los productos químicos sintéticos en su biodegradabilidad *in situ* a compuestos no tóxicos por la propia microflora ambiental y su menor toxicidad. ■

### Bibliografía

- Fouré E. 1982. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements : Etude de la sensibilité variétale des bananiers et des plantains à *M. fijiensis* Morelet au Gabon. *Fruits* 37(12): 749-771.
- Fullerton R.A. & T. Olsen. 1991. Pathogenic variability in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet Pp. 105-114 in *Banana diseases in Asia and the Pacific*. Proceedings of a Regional technical meeting on diseases affecting banana and plantain in Asia and Pacific (R.V. Valmayor, B.E. Umali and C.P. Bejosano, eds). INIBAP-ASPNET book series No. 3.
- Mouliom-Pefoura A. 1999. First observation of the breakdown of high resistance in "Yangambi km 5" (*Musa* sp.) to the black leaf streak disease in Cameroon. *Plant Disease* 83(1): 78.
- Orjeda G. 1998. Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka y marchitamiento por Fusarium. Guías técnicas Inibap. 3.
- Pérez L., A. Hernández & F. Mauri. 1993. Efficacy of a biological warning system for timing fungicide treatments for the control of black Sigatoka disease *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in banana plantations in Cuba. in *Proceedings VII International Congress of Plant Pathology*. Montreal.
- Pérez L. 1996. Manual para manejo integrado de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella*

*musicola* Leach ex Mulder) en banano y plátano. FAO, Representación de la FAO en Cuba, La Habana. 54pp.

- Romero R.A. 1997. Avances en epidemiología y manejo de la Sigatoka negra del banano. *Agronomía Costarricense* 21(1): 77-81.
- Rodríguez R. & L. Jiménez. 1985. El problema de la tolerancia de *Mycosphaerella fijiensis* al fungicida Benomil en plantaciones bananeras de Costa Rica. ASBANA. 16pp.
- Wienstein M.J. & G.H. Wagman. 1978. Antibiotics. Isolation, separation and purification. *Journal of Chromatography Library* 15: 625-680.

R. Sánchez Rodríguez y J.A. Pino Algora trabajan en el Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), Apdo. 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba, CP 53000; C. Vallin Plous, M.E. Pérez Rodríguez e Y. Iznaga Sosa en el Centro de Química Farmacéutica, (COF), Calle 2000 y 21, Atabey 16042, Playa, Ciudad Habana, Cuba y F. Malpartida Romero en el Centro Nacional de Biotecnología, Campus de la Universidad Nacional Autónoma, 28049 Canto Blanco, Madrid, España.  
Enviar la correspondencia a:  
Robersy Sánchez. E-mail: inivit@ip.etecca.cu

## Fluctuaciones estacionales de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* en ciertos cultivares de banano

P. Sundararaju

Los nematodos que producen lesiones como *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* se consideran plagas económicamente importantes para el banano y están ampliamente diseminados en el sur de la India (Koshy *et al.* 1978, Rajendran *et al.* 1979). El nematodo barrenador, *R. similis*, disfruta de una dispersión geográfica amplia en las regiones productoras de banano de los trópicos y subtropicos en todo el mundo. En India, la primera ocurrencia del nematodo fue registrada en el banano en el Distrito de Palghat de Kerala (Nair *et al.* 1966), causando pérdidas de rendimiento de hasta 41%. Subsecuentemente, este nematodo fue registrado en los bananos en el sur de la India (Koshy *et al.* 1978), Gujarat (Sethi *et al.* 1981), Maharashtra (Darekar *et al.* 1981), Madhya Pradesh (Tiwari *et al.* 2000), Goa (Koshy y Sosamma 1988), Islas Lakshadweep (Sundararaju

1990), Manipur (Anandi y Dhanchand 1992), Orissa (Mohanty *et al.* 1992), Tripura (Mukherjee *et al.* 1994) y Bihar, Uttar Pradesh y Nagaland (Khan 1999).

Se reportó que el nematodo lesionador de las raíces, *P. coffeae* se ha propagado a diferentes regiones productoras de banano a través de cormos infestados. Se sabe que en la India, el nematodo ocurre en el plátano (AAB) en el sur del país, Gujarat, Orissa, Bihar y Assam (Sundararaju 1996). Se descubrió que *P. thornei*, otra especie importante, infesta las plantas de banano solo en Assam (Choudhury y Phukan 1990).

Las pérdidas de los cultivos causadas por los nematodos de los bananos son muy altas, con una pérdida de rendimiento anual de un 20% en todo el mundo (Sasser y Freckman 1987). La temperatura del suelo a una profundidad de 30 cm no influye sobre el tamaño de la población (Jiménez 1972). Se descubrió que las poblaciones fluctúan entre las muestras, árboles, meses y años. Sin embargo, hubo periodos definidos para la

ocurrencia de las poblaciones mínimas y máximas durante un año. Una extensa encuesta realizada por Sundararaju (1996) en las diferentes regiones productoras de banano del país indicó la presencia de 17 géneros de nematodos fitoparásitos. Entre ellos, los nematodos lesionadores, *R. similis* y *P. coffeae* son las especies predominantes y se encuentran en diferentes cultivares de banano con intensidades diferentes. Los campos infestados con los nematodos barrenadores muestran raíces severamente podridas, lo que da como resultado, serias pérdidas económicas. El rendimiento se redujo hasta 25-35% en el campo infestado con el nematodo barrenador en comparación con las plantaciones libres de nematodos. Se reportó que las pérdidas de cultivos debido al nematodo lesionador de las raíces, *P. coffeae* en el cv. Nendran fueron de 25.4% (Sundararaju *et al.* 1999). Por lo tanto, se iniciaron estudios para determinar las fluctuaciones estacionales de las poblaciones de estos nematodos en las raíces de los diferen-

tes cultivares de banano, mediante un muestreo periódico de las plantas de banano infestadas con los nematodos en una finca del *National Research Centre for Banana* (NRCB). El principal objetivo del estudio consistió en descubrir los picos de actividad en términos de poblaciones más altas y más bajas de estos nematodos parasíticos en la rizosfera para que, al programar los esquemas de manejo, se pudiera tomar en cuenta los descubrimientos de este trabajo.

### Materiales y métodos

Para estudiar la fluctuación de la población de los nematodos lesionadores, tres cultivares de banano, Kalyan bale (AB), Alukkal (ABB) y Kalibow (AAB), altamente susceptibles a *R. similis*, y una variedad Nendran (ABB), altamente susceptible a *P. coffeae*, fueron seleccionados en la finca del NRCB, Podhavrur, Trichy, Tamil Nadu. Para este estudio se seleccionó un campo infestado con nematodos y los bananos seleccionados fueron cultivados en el campo en condiciones de suelo aluvial. Muestras, tanto del suelo (250 cc) como de las raíces (10 g), fueron recolectadas de la base de las plantas madres a intervalos mensuales empezando desde el 5º mes hasta la etapa de cosecha durante 1997-98. Las raíces alimentadoras principales, muy tiernas, de color blanco a blanco cremoso, con lesiones corticales de color rojizo pardo, fueron recolectadas de la base de las plantas. También se cuidó de recolectar solo los tipos de raíces arriba mencionados ya que se sabe que ellos albergan la cantidad máxima de nematodos lesionadores. Las muestras de raíces, lavadas a fondo y cortadas en pedazos de 2-2.5 cm y luego rebanadas en 8 pedazos longitudinales, fueron dejadas por 72 horas en platos Petri de 15 cm que contenían 150 ml de agua corriente en un refrigerador a una temperatura de 10-14°C, para extraer los nematodos (Koshy *et al.* 1975). Las muestras de suelo fueron procesadas de acuerdo al método de tamizado de Cobb seguido por el método del embudo modificado de Baermann para estimar las poblaciones de nematodos. La temperatura del suelo a una profundidad de 15 cm se registraba en los campos diariamente a las 7 am. Los datos promedio de temperatura, humedad del suelo y sobre las precipitaciones acumulativas fueron correlacionados con la densidad de las poblaciones de nematodos en la muestra.

### Resultados y discusión

En la Figura 1 se observa que un aumento drástico de la población de *R. similis* se notó en los tres cultivares durante los meses de noviembre a abril; posteriormente, la población disminuyó hasta llegar a un nivel insignificante desde mayo hasta octubre, lo que concordaba con Shafice y Mendez (1975). Es interesante observar que la máxima pobla-

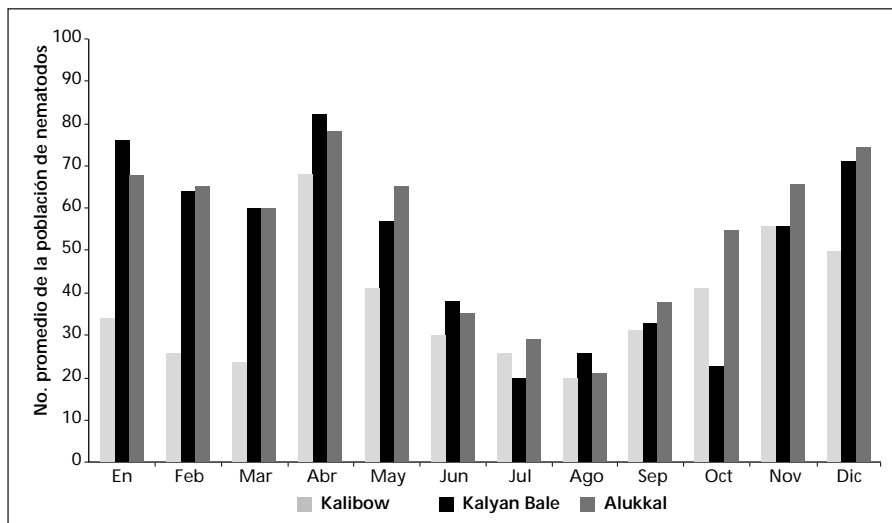


Figura 1. Fluctuación de la población de *Radopholus similis* en las raíces de banano.

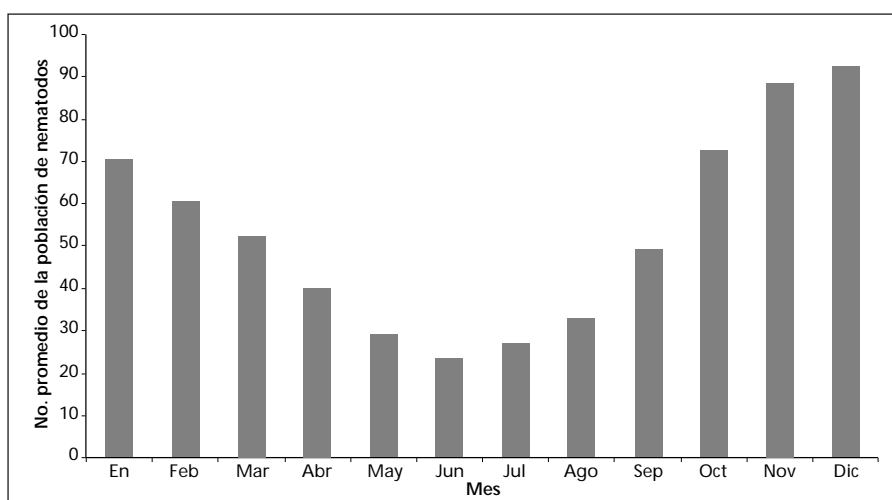


Figura 2. Fluctuación de la población de *Pratylenchus coffeae* en las raíces del banano (cv. Nendran).

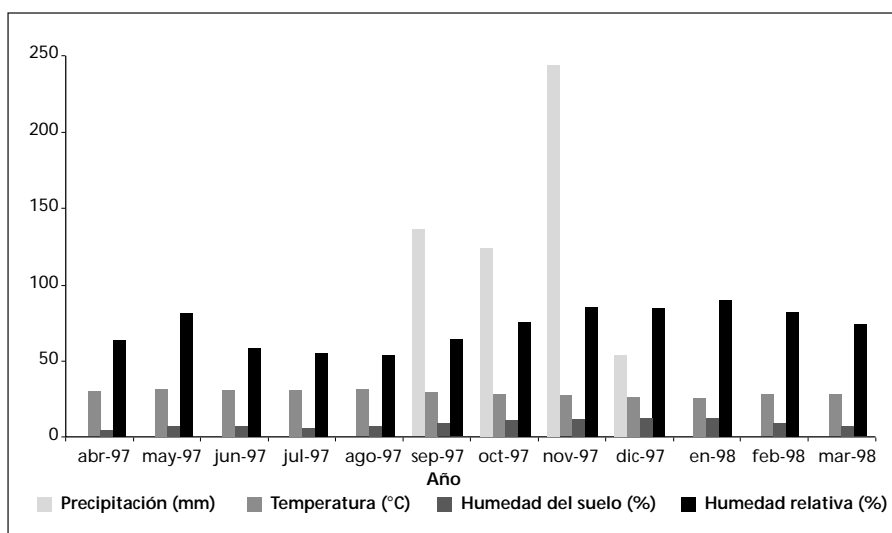


Figura 3. Precipitación mensual total, temperatura promedio, humedad del suelo y humedad relativa en la finca del NRCB, Podhavrur, durante el período experimental.

ción de nematodos fue registrada en abril en todos los cultivares: Kalayan bale (86/g de raíces), Alukkal (78/g de raíces) y Kalibow (68/g de raíces), y la mínima, en julio en el

cv. Kalyan bale (20/g de raíces). El análisis de las muestras del suelo también reveló la misma tendencia como en el caso de las muestras de raíces con la máxima población



de nematodos en el período de noviembre a abril, con una precipitación y humedad del suelo máximas durante este mismo período. En el caso de *P. coffeae* en la variedad Nendran, la población máxima fue registrada en el período de octubre a diciembre y la población mínima, de mayo a agosto (Figura 2). Con respecto a la población promedio para un mes, un máximo de 92 por gramo de raíces fue registrado en diciembre, mientras que hubo solo 23 nematodos por gramo en junio. La población de los nematodos lesionadores de las raíces en las muestras del suelo también mostró la misma tendencia que en el caso de las muestras de las raíces, con la población máxima durante los meses de octubre a diciembre y la mínima, de mayo a agosto. La precipitación pico ocurrió durante el monzón nororiental (de septiembre a diciembre) con una precipitación promedio de 140 mm. La temperatura del suelo a 15 cm de profundidad registrada en los campos varió de 18 a 37.5° C. El análisis del contenido de humedad reveló que hubo un máximo durante aquellos meses cuando se registraron las poblaciones de nematodos máximas (Figura 3). La precipitación también influye sobre el crecimiento de las raíces. Por lo tanto, con el aumento en la disponibilidad del sistema radical, hubo un incremento en la actividad de *R. similis* durante el período de noviembre a abril y de *P. coffeae*, durante el período de octubre a diciembre.

Las fluctuaciones en las poblaciones de *Pratylenchus* spp. fueron correlacionadas con la precipitación (Cooke y Draycott 1971). El comportamiento de *P. coffeae* en relación con la temperatura del suelo y precipitación fue similar a la de *P. crenatus* y *P. penetrans* en maíz (Miller *et al.* 1972). Se encontró que la escasez de la humedad unida a temperaturas estivales más altas durante el período de abril a agosto han sido desfavorables para el predominio de *P. coffeae* en la palma de aceite (Sundararaju y Ratnakaran *in press*). La presente investigación concuerda con Kumar (1984) quien reportó que la población más alta de *P. coffeae* ha sido registrada durante el período de octubre a diciembre que es el período de precipitación alta y actividad aumentada de las raíces en las plantas de café.

Observaciones similares fueron reportadas en el nematodo barrenador *R. similis* en cítricos (DuCharme y Suit 1967), banano (Vilardebo 1976), palma de coco y palma de areca (Koshy y Sosamma 1978).

### Conclusión

La Figura 1 indica que la población de *R. similis* fluctúa de mes en mes. Un aumento continuo de la población de *R. similis* fue registrado durante los meses de noviembre a enero y una disminución gradual fue registrada durante los meses de febrero y marzo,

mientras que un incremento drástico de la población de nematodos fue registrado en abril en el cv. Kalyan bale (Figura 1). Una tendencia similar se observó en los cultivares Alukkal y Kalibow (Figura 1).

En el caso de *P. coffeae*, un aumento continuo de la población fue registrado de septiembre a diciembre que luego disminuyó gradualmente de enero a junio (Figura 2).

Esto muestra claramente que la acumulación de las poblaciones de *R. similis* y *P. coffeae* variaría en gran medida dependiendo de la estación y otras condiciones ecológicas como la precipitación, temperatura del suelo, humedad del suelo y la disponibilidad de raíces susceptibles que desempeñarían sus propios papeles en la acumulación de las poblaciones.

### Agradecimiento

El autor agradece al Dr H.P. Singh, ex Director, NRCB, Trichy, por proporcionar las facilidades necesarias. También se agradece la asistencia técnica de Mr T. Sekar. Este trabajo de investigación fue realizado en el marco de los programas de investigación del NRCB. ■

### Bibliografía

- Anandi Y. & D. Dhandachand. 1992. Nematodes of banana plantation in Imphal district, Manipur. *Curr. Nematol.* 3: 153-58.
- Choudhury B.N. & P.N. Phukan. 1990. Distribution and occurrence of certain plant parasitic nematodes in different cultivars of banana. *Curr. Nematol.* 1: 153-156.
- Cooke D.A. & Draycott. 1971. The effect of soil fumigation and nitrogen fertilization on nematodes in sugar-beet in sandy soils. *Ann. Appl. Biol.* 65:253-254.
- DuCharme E.P. & R.F. Suit. 1967. Population fluctuation of burrowing nematodes in Florida citrus groves. *Proc. Fla. St. Hort. Soc.* 80: 63-67.
- Jiménez M.F. 1972. Seasonal fluctuations of *Radopholus similis* in the banana growing area of Pococo, Costa Rica. *Nematropica* 2:6.
- Khan R.M. 1999. Distribution of *Radopholus similis* in India, its spread in new regions and an analysis of the nematofauna of banana crop pathosystem. *Nematol. Medit.* 27: 239-245.
- Koshy P.K. & V.K. Sosamma. 1978. Studies on the population fluctuations of *Radopholus similis* in coconut and arecanut roots. *Indian Phytopath.* 31: 180-183.
- Koshy P.K. & V.K. Sosamma. 1988. Occurrence of the burrowing nematode *Radopholus similis* in the state of Goa. *Indian J. Nematol.* 18: 130.
- Koshy P.K., V.K. Sosamma & C.P. Radhakrishnan Nair. 1975. Preliminary studies on *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 infesting coconut and arecanut palms in South India. *Indian J. Nematol.* 5: 26-35.
- Koshy P.K., P. Sundararaju & V.K. Sosamma. 1978. Occurrence and distribution of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 in South India. *Indian J. Nematol.* 8: 49-58.

- Kumar A.C. 1984. Investigations on Cannoncado die-back in coffee. *J. Coffee Res.* 14: 85-103.
- Miller R.E., C.W. Bothroyd & W.F. Mai. 1972. Plant parasitic nematodes associated with corn roots in New York. *Phytopath.* 52: 22 (Abstr.).
- Mohanty K., N.K. Sahoo & S. Ray. 1992. Occurrence of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Tgirbe 1949 on banana and pepper in wide areas of Orissa, India. *Afro Asian Nematol. Network.* 1: 25-26.
- Mukherjee B., R.C. Nath & M.K. Dasgupta. 1994. New record on the occurrence of burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 on banana in Tripura. *Indian J. Ent.* 28: 553-554.
- Nair M.R.G.K., M.N. Das & M.R. Menon. 1966. On the occurrence of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 on banana in Kerala. *Indian J. Ent.* 28:553-554.
- Rajendran G., T.N. Naganathan & S. Vadivelu. 1979. Studies on banana nematodes. *Indian J. Nematol.* 9: 54.
- Sasser J. N & D.W. Freckman. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society. Pp. 7-14 *in* Vistas on Nematology (J.A. Veech and D.W. Dickson, eds). Society of Nematologist Inc., Hyattsville, USA.
- Sethi C.L., Siyandand & N. Srivastava. 1981. Occurrence of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 in Gujarat. *Indian J. Nematol.* 11: 116.
- Shafice M. F. & J.M. Mendez. 1975. Seasonal fluctuations in *Radopholus similis* on three varieties of *Musa* species. Universidad de la Habana, Serie 11, Sanidad vegetal No. 12. 12pp.
- Sundararaju P. 1990. Occurrence of the burrowing nematode, *Radopholus similis* in the Union Territory of Lakshadweep Island. *Indian J. Nematol.* 18: 112.
- Sundararaju P. 1996. Nematode pests of banana and their management. Pp. 17-19 *in* Souvenir, "Conference on challenges for banana production and utilisation in 21<sup>st</sup> Century" held at Trichy on 24-25 September 1996.
- Sundararaju P. & K. Ratnakaran. *In press*. Factors influencing the prevalence of the root-lesion nematode *Pratylenchus coffeae* on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Indian J. Nematol.*
- Sundararaju P., B. Padmanaban & S. Sathiamoorthy. 1999. Control of root-lesion nematode *Pratylenchus coffeae* in certain cultivars of banana. Pp. 46-47 *in* National Seminar on Nematological Research in India held at C.S. Azad University of Agri. & Tech. 17 December 1999 (abstract).
- Tiwari S.P., I. Vadhera & G.S. Dave. 2000. Burrowing nematode *Radopholus similis* associated with banana crop in Madhya Pradesh. *Indian J. Nematol.* 30(1):38: 41.
- Vilardebo A. 1976. Population dynamics of *Radopholus similis* in relation to climate factors and the physiology of the plant. *Nematropica* 6: 54-55.

El autor trabaja en el *Crop Protection National Research Centre for Banana*, 44 Ramalinga Nagar South Vayalur Road, Tiruchirapalli – 620 017, India.

# Respuesta de la planta hospedante de los bananos Pisang jari buaya y Mysore, a *Radopholus similis*

Duong Thi Minh Nguyet,  
A. Elsen, Nguyen Thi Tuyet  
y D. De Waele

Los nematodos fitoparásitos representan la principal limitación para la producción bananera en todo el mundo (Gowen y Quénehervé 1990). La infección con los nematodos puede interferir con la absorción y transportación de nutrientes y agua, resultando en un crecimiento lento, llenado de frutos reducido y sensibilidad al vuelco de las plantas. Entre los nematodos que atacan a los bananos, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne se considera la especie más destructiva (Sarah *et al.* 1996).

Las posibilidades de controlar los nematodos en los bananos son limitadas, ya que los bananos crecen usualmente como cultivo permanente y se cultivan por pequeños agricultores. Además, se comprobó que las fuentes de resistencia son difíciles de encontrar. Se ha reportado que "Pisang jari buaya" (*Musa* AA grupo Pisang jari buaya) y "Yangambi Km5" (*Musa* AAA grupo Ibota) (Pinochet 1988, Viaene *et al.* 1998, Fogain y Gowen 1998, Stoffelen 2000) poseen resistencia a *R. similis*. Se descubrió que el clon "SH-3142" derivado de un genotipo perteneciente al grupo Pisang jari buaya y el clon "SH-1734" son altamente resistentes a *R. similis* (Pinochet y Rowe 1979, Pinochet 1988). Además, algunos de los cultivares del grupo "Pisang jari buaya" expresaron características agronómicas favorables similares a las de los bananos comerciales.

Los bananos Mysore (*Musa* AAB) son un postre muy popular y delicioso. La información sobre la resistencia o tolerancia del banano Mysore a *R. similis* es escasa. Al examinar 17 genotipos AAB de *Musa*, Fogain (1996) reportó que ninguna de las plantas resultó inmune, incluyendo "Pisang ceylan", el único cultivar perteneciente al grupo Mysore. El objetivo de nuestro estudio fue investigar más la respuesta de la planta hospedante de los genotipos de *Musa* de los grupos Pisang jari buaya y Mysore a una población de *R. similis* de Costa Rica y encontrar fuentes adicionales de resistencia al nematodo barrenador.

A través del estudio, se utilizaron la terminología de Bos y Parlevliet (1995) relativa a la resistencia y susceptibilidad de las plantas hospedantes a los patógenos y la metodo-

logía del cribado para detectar la resistencia en *Musa* tal como la describen Speijer y De Waele (1997).

## Materiales y métodos

### Preparación de las plantas de banano

En el estudio se incluyeron 13 genotipos diploides (AA) de banano pertenecientes al grupo Pisang jari buaya (Experimentos 1 y 2, ver Tabla 1 y Tabla 2) y 5 genotipos triploides (AAB) de banano del grupo Mysore (Experimento 3, ver Tabla 3). Dos bananos triploides (*Musa* AAA), "Grande naine" y "Yangambi Km5", fueron incluidos como genotipos de referencia debido a su alta susceptibilidad y resistencia a *R. similis*, respectivamente. Los genotipos de *Musa* utilizados en los experimentos fueron suministrados por el Centro de Tránsito de INIBAP (ITC) en la Universidad Católica de Lovaina. Después de la proliferación, regeneración y enraizamiento (Banerjee y De Langhe 1985), cada plántula de banano propagada *in vitro* con 3-4 hojas y 5-6 raíces fue trasplantada en un pote plástico de 1 L (12 cm de diámetro) que contenía unos 1000 cm<sup>3</sup> de sustrato autoclavado de turba y cuarzo (2:1). Para mantener la humedad alta, los potes fueron colocados bajo una cubierta plástica, que se abrió ligeramente después de dos semanas y se retiró después de cuatro semanas. Las condiciones de invernadero se mantuvieron a una temperatura de 25-30°C y una humedad relativa de 70-80% con un fotoperiodo de 12 horas. Los potes se regaban cuando era necesario y se fertilizaban con una solución hidropónica (Swennen *et al.* 1986) cada tres semanas después de realizar la inoculación con los nematodos. Las plantas fueron inoculadas con nematodos cada cuatro semanas después de la plantación para el grupo Pisang jari buaya, u ocho semanas después de la plantación para el grupo Mysore, ya que la cantidad de nematodos era muy baja en el experimento con los genotipos Mysore.

### Preparación del inóculo de nematodos

La población de *R. similis* utilizada en los experimentos se obtuvo de las raíces infectadas del banano 'Valery' (*Musa* AAA) en Talamanca, Costa Rica. La población fue criada de modo monoxénico sobre discos de zanahoria e incubada a 28°C en oscuridad por varias generaciones (Moody *et al.* 1973,

Pinochet *et al.* 1995). Los discos de zanahoria fueron licuados dos veces durante 10 s (con un intervalo de 5 s) y colados a través de tamices con poros de 106 y 25 µm. El tejido de zanahoria recolectado en el tamiz con poros de 106 µm fue descartado, mientras que los nematodos fueron recolectados del tamiz con poros de 25 µm.

Una suspensión de 1000 nematodos vermiformes vivos se vertió en tres hoyos hechos en el sustrato alrededor de la base de cada planta. Después de la inoculación, los hoyos fueron tapados.

### Observaciones de la respuesta de la planta hospedante

Ocho semanas después de la inoculación, las plantas fueron cosechadas para observar la respuesta de los diferentes genotipos de banano a *R. similis*. Se registraron los siguientes datos:

#### Porcentaje de la necrosis radical

El procedimiento seguido fue el descrito por Speijer y De Waele (1997). Se recolectaron y se cortaron longitudinalmente cinco pedazos de 10 cm de las raíces primarias funcionales. Para una mitad de cada raíz se anotó el porcentaje de la corteza de las raíces con necrosis. La necrosis radical máxima en la mitad de la raíz es del 20%, dando una necrosis radical máxima de 100% para las cinco mitades de raíces juntas.

#### Densidades de las poblaciones de nematodos

El sistema radical entero, incluyendo los cinco segmentos de raíces observados para calcular la necrosis, fue pesado y cortado en pedazos de 2 cm. Se tomaron al azar 15 g de raíces frescas que se maceraron tres veces por 10 s con intervalos de 5 s. La mezcla fue colada a través de una serie de tamices con poros de 250-106-40 µm y se enjuagaron los tamices con agua del grifo. Los nematodos que se quedaron en el tamiz con poros de 40 µm fueron recolectados en un vaso con agua destilada. Los nematodos fueron contados en alícuotas de 6 ml de cada muestra utilizando un microscopio binocular.

#### Diseño experimental y análisis de datos

Se realizaron tres experimentos, basados en un diseño completamente aleatorio, con ocho réplicas para cada genotipo (grupo

**Tabla 1.** Reproducción de *R. similis* (población de Costa Rica) en 8 genotipos diploides (*Musa* AA) de banano pertenecientes al grupo Pisang jari buaya y en el genotipo de referencia "Grande naine", medida 8 semanas después de la inoculación con 1000 nematodos vermiformes por planta.

Genotipo de <i>Musa</i>	Genoma	Número ITC	Peso de raíces frescas (g)	Necrosis radical (%)	Nematodos por 1g de raíces frescas	Nematodos por sistema radical
Huwundu	AA	0308	35.3	22.4	ab	1050 a
Morong datu	AA	0309	41.0	14.5	ab	851 a
Morong princessa	AA	0310	29.9	30.5	b	972 a
Pisang rotan	AA	0313	41.1	16.6	ab	794 a
Pisang tunjiuk	AA	0315	44.2	7.9	a	255 a
Saing todloh	AA	0316	36.0	6.8	a	297 a
Sin nombre	AA	0318	43.2	11.3	ab	442 a
Umbarin	AA	0317	32.6	17.1	ab	495 a
Grande naine	AAA	1256	52.0	9.3	ab	528 a

ITC = Centro de Tránsito de INIBAP

Nota: Se presentan datos originales, pero los datos de los números de nematodos fueron transformados a  $\log_{10}(x+1)$  y los datos del porcentaje de la necrosis radical fueron convertidos a  $\arcsin(x/100)$  para el análisis estadístico. Los promedios en la misma columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente ( $P < 0.05$ ), de acuerdo a la prueba HSD de Tukey.

**Tabla 2.** Reproducción de *R. similis* (población de Costa Rica) en 5 genotipos de Pisang jari buaya, Yangambi Km 5 y en el genotipo de referencia "Grande naine", medida 8 semanas después de la inoculación con 1000 nematodos vermiformes por planta.

Genotipo de <i>Musa</i>	Genoma	Número ITC	Peso de raíces frescas (g)	Necrosis radical (%)	Nematodos por 1g de raíces frescas	Nematodos por sistema radical
Gabah gabah	AA	0307	74.4	11.0	a	588 c
Pisang gigi buaya	AA	0310	64.0	8.4	a	741 c
Pisang jari buaya	AA	0312	54.9	11.9	a	1053 c
SH-3142	AA	0425	52.7	8.9	a	108 a
Pisang sipulu	AA	1308	60.6	8.9	a	579 bc
Yangambi Km5	AAA	1123	57.2	7.8	a	120 ab
Grande naine	AAA	1256	43.9	25.0	b	2041 c

ITC = Centro de Tránsito de INIBAP

Véase nota en la Tabla 1.

**Tabla 3.** Reproducción de *R. similis* (población de Costa Rica) en 5 genotipos triploides (*Musa* AAB) de banano pertenecientes al grupo Mysore y en el genotipo de referencia "Grande naine", medida 8 semanas después de la inoculación con 1000 nematodos vermiformes por planta.

Genotipo de <i>Musa</i>	Genoma	Número ITC	Peso de raíces frescas (g)	Necrosis radical (%)	Nematodos por 1g de raíces frescas	Nematodos por sistema radical
Thap maeo	AAB	1301	101.3	17.3	a	852 ab
Gorolo	AAB	0723	45.6	22.8	ab	579 a
Pisang ceylan	AAB	0650	58.3	29.6	abc	804 ab
Lady finger (South Johnstone)	AAB	0583	51.8	36.9	c	679 a
Lady finger (Nelson)	AAB	0582	87.8	33.1	bc	1128 ab
Grande naine	AAA	1256	83.9	42.5	c	1552 b

ITC = Centro de Tránsito de INIBAP

Véase nota en la Tabla 1.

Pisang jari buaya, Experimento 1, Tabla 1; grupo Mysore, Experimento 3, Tabla 3) o nueve réplicas (grupo Pisang jari buaya, Experimento 2, Tabla 2). Antes de realizar el análisis estadístico, el porcentaje de necrosis radical fue transformado a  $\arcsin(x/100)$  y los números de nematodos fueron convertidos a  $\log_{10}(x+1)$ . Todos los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y los promedios de los parámetros fueron comparados utilizando la prueba HSD de Tukey a  $P \leq 0.05$ .

### Resultados y discusión

Los resultados obtenidos del grupo Pisang jari buaya se presentan en las Tablas 1 y 2. En la Tabla 1, no se observaron diferencias significativas en las cantidades de nematodos por sistema radical o por 1 g de raíces frescas y en el porcentaje de la necrosis radical entre los genotipos de Pisang jari buaya y "Grande naine". Entre los genotipos de Pisang jari buaya, el porcentaje de necrosis radical fue significativamente más alto en "Morong princessa" comparado con "Pisang

tunjiuk" y "Saing todloh". En la Tabla 2, se observó la reproducción de *R. similis* en todos los genotipos examinados. En general, las poblaciones de los nematodos recolectados de las raíces de los genotipos Pisang jari buaya, incluyendo la accesión ITC0312 de Pisang jari buaya, no diferían significativamente de los resultados recavados de "Grande naine", pero si fueron significativamente más altos en comparación con el "Yangambi Km5" y "SH-3142". Solo en el "Pisang sipulu" la cantidad de nematodos por 1 g de raíces frescas no difería significativamente de la misma en el "Yangambi Km5". Los números más bajos de nematodos fueron registrados en "SH-3142" y "Yangambi Km5". Los porcentajes de la necrosis radical de todos los genotipos de Pisang jari buaya, "Yangambi Km5" y "SH-3142" fueron significativamente más bajos en comparación con "Grande naine".

Estos resultados muestran que todos los genotipos Pisang jari buaya examinados son tan susceptibles a *R. similis* como lo es el "Grande naine". Ellos confirman un informe anterior (Wehunt *et al.* 1978) que "Pisang jari buaya", "Gabah gabah", "Pisang sipulu" y 'Pisang gigi buaya' son significativamente menos sensibles al daño causado a las raíces (expresado como el porcentaje de la necrosis radical) en comparación con "Grande naine". Sorprendentemente, "Pisang jari buaya", que anteriormente fue confirmado como resistente a *R. similis* (Pinochet 1988, Viaene *et al.* 1998, Fogain y Gowen 1998, Stoffelen 2000), no lo parece en nuestro estudio. Asimismo, "Pisang sipulu", considerado como un genotipo de banano promotor debido a que es menos susceptible a *R. similis* (Wehunt *et al.* 1978, Binks y Gowen 1996), tampoco mostró resistencia a *R. similis* en nuestro estudio.

Los resultados obtenidos del grupo Mysore se presentan en la Tabla 3. Las cantidades de nematodos por sistema radical y por 1 g de raíces frescas de "Gorolo" y "Lady finger" (South Johnstone) fueron significativamente más bajas en comparación con "Grande naine", mientras que aquellas recuperadas de los genotipos de Mysore no diferían significativamente en comparación con el genotipo de referencia. El porcentaje de necrosis radical observado en "Thap maeo" y "Gorolo" fue significativamente más bajo en comparación con "Grande naine". En contraste, los porcentajes de necrosis radical de "Pisang ceylan", "Lady finger" (South Johnstone) y "Lady finger" (Nelson) no diferían significativamente de los porcentajes en el "Grande naine".

De acuerdo a Price (1994) y Price y McLaren (1995), los genotipos AAB de *Musa* son susceptibles a *R. similis* al examinarlos en los campos experimentales. Desgraciadamente, los genotipos del grupo



Mysore no fueron incluidos en sus ensayos. Nuestro estudio confirma los informes anteriores (Stanton 1994, Fogain *et al.* 1996) en que "Lady finger" (Nelson), "Lady finger" (South Johnstone) y "Pisang ceylan" son susceptibles a *R. similis*.

### Agradecimiento

Los autores desean agradecer al Centro de Tránsito de INIBAP (ITC) en la Universidad Católica de Lovaina por proporcionar los genotipos de *Musa* y el equipo para completar esta investigación. Se le agradece al *Flemish Interuniversity Council* (VLIR) por financiar las becas para Duong Thi Minh Nguyet y Nguyen Thi Tuyet con el fin de completar este estudio como parte de sus tesis de maestría (MSc) en el *Postgraduate International Nematology Course*. ■

### Bibliografía

- Banerjee N. & E. De Langhe. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports* 4: 351-354.
- Binks R.H. & S.R. Gowen. 1996. Evaluación en el campo de las infestaciones de nematodos en germoplasma de *Musa*. *INFOMUSA* 5(2): 15-17.
- Bos L. & J.E. Parlevliet. 1995. Concept and terminology on plant/pest relationships: toward consensus in plant pathology and crop protection. *Annual Review of Phytopathology* 33: 69-102.
- Fogain R. 1996. Screenhouse evaluation of *Musa* for susceptibility to *Radopholus similis*: evaluation of plantains AAB and diploid AA, AB and BB. Pp. 79-86 *in* Proceedings of a workshop on New frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and Sigatoka, 2-5 Oct. 1995, Kuala Lumpur, Malaysia (E.A. Frison, J.P. Horry & D. De Waele, eds). INIBAP, Montpellier, France.
- Fogain R. & S.R. Gowen. 1998. "Yangambi Km5" (*Musa* AAA, Ibota subgroup): a possible source of resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus goodeyi*. *Fundamental and Applied Nematology* 21: 75-80.
- Fogain R., S.R. Gowen & F. Mekemda. 1996. Screening for susceptibility to *Radopholus similis*: evaluation of plantain AAB and diploid AA, AB and BB. *Tropical Agriculture, Trinidad* 73: 281-285.
- Gowen S.R. & P. Quénehervé. 1990. Nematode parasites of bananas, plantain and abaca. Pp. 431-460 *in* Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture (M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge, eds.). CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Moody E.H., B.F. Lownsberry & J.M. Ahmed. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology* 5: 225-226.
- Pinochet J. 1988. Nematodes problem in *Musa* spp.: pathotypes of *R. similis* and breeding for resistance. Pp. 66-70 *in* Proceeding of a workshop on Nematodes and the borer weevil in bananas: present status of research and outlook, 7-11 December 1987, Bujumbura, Burundi. INIBAP, Montpellier, France.
- Pinochet J. & P.R. Rowe. 1979. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. *Nematropica* 9: 76-78.
- Pinochet J., C. Fernandez & J.L. Sarah. 1995. Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 18: 391-392.
- Price N.S. 1994. Field trial evaluation of nematode susceptibility within *Musa*. *Fundamental and Applied Nematology* 17:391-396.
- Price N.S. & C.G. McLaren. 1995. Technique for field screening of *Musa* germplasm. Pp. 87-105 *in* Proceedings of a workshop on New frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and Sigatoka, 2-5 Oct. 1995, Kuala Lumpur, Malaysia (E.A. Frison, J.P. Horry & D. De Waele, eds). INIBAP, Montpellier, France.
- Sarah J.L., J. Pinochet & J. Stanton. 1996. El nematodo barrenador del banano, *Radopholus similis* Cobb, 1913. Plagas de *Musa* - Hoja divulgativa No. 1. INIBAP, Montpellier, France. 2pp.
- Stanton J.M. 1994. Status of nematode and weevil borer problems affecting banana in Australia. Pp. 48-56 *in* Banana nematodes and weevil borers in Asia and the Pacific. Proceedings of a conference-workshop on Nematodes and weevil borers affecting bananas in Asia and the Pacific, 18-22 April 1994, Serdang, Selangor, Malaysia (R.V. Valmayor, R.G. Davide, J.M. Stanton, N.L. Treverrow & V.N. Roa, eds). INIBAP/ASPNET, Los Baños, Philippines. ASPNET Book Series No.5.
- Speijer P. R. & D. De Waele. 1997. Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes. INIBAP Technical Guidelines No.1. INIBAP, Montpellier, France. 42pp.
- Stoffelen R. 2000. Early screening of *Eumusa* and *Australimusa* bananas against root-lesion and root-knot nematodes. Doctoral thesis, Universiteit K.U. Leuven, Belgium.
- Swennen R., E. De Langhe, J. Janssen & D. Decoene. 1986. Study of the root development of some *Musa* cultivars in hydroponics. *Fruits* 41: 515-524.
- Viaene N., J. Duenas & D. De Waele. 1998. Screening for resistance and tolerance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae* in banana and plantain (Resumen). P. 125 *in* Programme and abstracts of the 24<sup>th</sup> International Symposium of the European Society of Nematologists, 5-8 Aug. 1998, Dundee, Scotland (D. Brown, ed.).
- Wehnt E.J., D.J. Hutchinson & D.I. Edwards. 1978. Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Journal of Nematology* 10: 368-370.
- Duong Thi Minh Nguyet y Nguyen Thi Tuyet trabajan en el *Vietnam Agricultural Science Institute* (VASI), Van Dien, Thanh Tri, Hanoi, Vietnam. Tel: (84) 4 861 43 25, Fax: (84) 4 861 71 67. Annemie Elsen y Dirk De Waele trabajan en el *Laboratory of Tropical Crop Improvement*, Catholic University of Leuven, Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Heverlee, Bélgica. Tel: (32) 16 32 96 03, Fax: (32) 16 32 19 93. Correo electrónico para escribir al autor: nhiviovasi@fpt.vn o anhnguyet1@hotmail.com

Plagas

Control de nematodos

## Efecto de tres hongos micorriza arbusculares sobre la infección de *Musa* con el nematodo nodulador de las raíces (*Meloidogyne* spp.)

A. Elsen, S. Declerck  
y D. De Waele

Los hongos micorriza arbusculares (MA) son simbioses obligatorias de las plantas que colonizan biotróficamente la corteza de las raíces y desarrollan

un micelio fuera de la matriz, lo que ayuda a la planta a absorber agua y nutrientes del suelo. Los hongos MA también pueden proteger las plantas contra los fitopatógenos del suelo, incluyendo a los nematodos. En varios estudios se han investigado las asociaciones entre los hongos MA y nematodos noduladores de las raíces, los cuales se consideran

como los nematodos más importantes en el hemisferio norte en los cultivos agrícolas que crecen en clima templado. Se ha informado que muchas micorrizaciones tienen un efecto supresor sobre los nematodos endoparásitos sedentarios. En algunos cultivos este efecto es suficientemente significativo para considerar la infección de micorriza



como un medio de control biológico más o menos eficaz (Pinochet *et al.* 1996).

En bananos, solo se han realizado unos pocos estudios sobre los efectos de los hongos MA sobre el desarrollo de los nematodos. Las poblaciones de *Radopholus similis* tanto en las raíces como en el suelo fueron eliminadas en las plantas con micorrizas en comparación con las plantas sin micorrizas (Umesh *et al.* 1988). Bajo condiciones *in vitro*, utilizando las raíces de *Daucus carota* transformadas mediante un procedimiento de Ri T-DNA, se eliminó el 50% de una población de *R. similis* en presencia de hongos MA (Elsen *et al.* 2001). Pinochet *et al.* (1997) informaron que la colonización con micorriza no afectó la acumulación de nematodos en las raíces, aunque las plantas infectadas con *Meloidogyne javanica* y *Glomus intraradices* tenían más agallas.

En este experimento, tres especies de *Glomus* (*G. mosseae*, *G. macrocarpum* y *G. caledonium*) fueron examinadas en el cultivar de *Musa* "Williams" (TTC0570) con respecto a su efecto sobre *Meloidogyne javanica*, una población del nematodo nodulador de las raíces aislado de los bananos en Maruecos. Las plántulas derivadas de los cultivos de tejidos fueron aclimatadas en potes de 1 litro llenados con suelo esterilizado en el invernadero. Durante el trasplante, las plántulas del tratamiento con micorrizas fueron micorrizadas con el inóculo del suelo, que contenía  $\pm$  1850 esporas y 0.25 g de raíces micorrizadas de *Allium porrum*. Un mes después, las plantas fueron inoculadas con una mezcla de 5000 especímenes jóvenes y huevos de *M. javanica*. El experimento fue planificado como un diseño factorial aleatorio de 4 x 2 con 8 réplicas por tratamiento: hongos MA (- MA, *G. mosseae*, *G. macrocarpum* y *G. caledonium*) x *M. javanica* (+ *M. javanica*, - *M. javanica*). Tres meses después de la plantación, las plantas de "Williams" fueron cosechadas y evaluadas con respecto a la colonización micorrízica y daños/desarrollo de los nematodos. Una submuestra de las raíces fue manchada con tripano azul al 0.05% en ácido láctico (Koske y Gemma 1989), para determinar la colonización micorrízica. Las agallas en las raíces se contaron en una submuestra de 5 g después de mancharla con floxina B (Hadisoeganda y Sasser 1982).

### Efecto de los hongos MA sobre el crecimiento de las plantas

Los hongos MA no causaron efecto sobre el crecimiento de las plantas ya que el peso de los retoños, el diámetro de los retoños, la altura de la planta y el peso de las raíces no diferían entre los tratamientos (no se presentan datos). En general, la micorrización de las plantas de banano dio como resultado un mejor crecimiento de las plantas en com-

paración con las plantas no micorrizadas (Declerck *et al.* 1994, 1995). Aunque, en algunos casos, se observó que el establecimiento de la simbiosis dio como resultado un efecto negativo o neutral sobre el crecimiento de las plantas siempre y cuando la colonización micorrízica no se desarrolló bien (Jakobsen 1998). Por lo tanto, al momento de la cosecha, la colonización de las raíces por las tres cepas de *Glomus* examinadas fue relativamente baja. Esto puede explicar parcialmente el porqué en este experimento no se observó un efecto sobre el crecimiento de las plantas. En adición, es importante señalar las diferencias en la colonización entre las especies de *Glomus* en las plantas sin la presencia de los nematodos. La mayor colonización se observó con *G. mosseae* en comparación con *G. caledonium* y *G. macrocarpum*.

Semejantes diferencias también fueron reportadas en la literatura (Declerck *et al.* 1994, 1995). *G. mosseae* se mostró como el hongo más infeccioso en el "Williams" y otros cultivares, en comparación con *G. macrocarpum* (Declerck *et al.* 1995).

### Efecto de los hongos MA sobre la reproducción de los nematodos

*G. caledonium* y *G. macrocarpum* redujeron significativamente la formación de las agallas en las raíces, mientras que este efecto reductor no fue significativo para *G. mosseae* (Tabla 1). En la literatura, los resultados son contradictorios: de acuerdo a Pinochet *et al.* (1997), *Glomus intraradices* no redujo la acumulación de los nematodos *M. javanica* y produjo como resultado más agallas en las raíces en comparación con las raíces no micorrizadas. En contraste, *G. mosseae* eliminó las agallas en las raíces y la acumulación de los nematodos *Meloidogyne incognita* (Jaizme-Vega *et al.* 1997).

### Efecto de *M. javanica* sobre el desarrollo de la micorriza

*M. javanica* redujo significativamente el desarrollo intraradical de *G. mosseae*. No se observó un efecto similar en *G. macrocarpum* y *G. caledonium*: la presencia o ausencia del nematodo nodulador de las raíces no

tuvo efecto sobre la colonización interna de las raíces. En experimentos similares, los nematodos noduladores de las raíces no produjeron efectos sobre el porcentaje de la colonización de las raíces en las plantas micorrizadas (Pinochet *et al.* 1997, Jaizme-Vega *et al.* 1997).

### Conclusión

Los resultados de este experimento sugieren un efecto supresor de las tres cepas de *Glomus* estudiadas, sobre el nematodo nodulador de las raíces *M. javanica*. Los mecanismos involucrados en la eliminación de los nematodos son aún una cuestión de conjeturas. Sin embargo, probablemente están involucrados algunos de los factores principales: estado mejorado de nutrientes de la planta, cambios bioquímicos en los tejidos de las plantas (aumento de quitinasa, aminoácidos, peroxidasa y fitoalexinas), cambios anatómicos (aumento de lignificación), alivio del estrés, cambios microbianos en la rizosfera y cambios inducidos a la morfología de la planta (aumento de ramificaciones, una mayor proporción de las raíces de órdenes superiores) (Hooker *et al.* 1994). Se necesitan más estudios para confirmar el efecto supresor de los hongos MA sobre los nematodos noduladores de las raíces y revelar los mecanismos involucrados. ■

### Bibliografía

- Declerck S., B. Devos, B. Delvaux & C. Plenchette. 1994. Growth response of micropropagated plants to VAM inoculation. *Fruits* 49:103-109.
- Declerck S., C. Plenchette & D.G. Strullu. 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata* AAA group) cultivar. *Plant and Soil* 176: 183-187.
- Elsen A., S. Declerck & D. De Waele. 2001. Effects of *Glomus intraradices* on the reproduction of the burrowing nematode (*Radopholus similis*) in dixenic culture. *Mycorrhiza* 11: 49-51.
- Hadisoeganda W.W. & J.N. Sasser. 1982. Resistance of tomato, bean, southern pea and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. *Plant Disease* 66: 145-150.
- Hooker J.E., M.C. Jaizme-Vega & D. Atkinson. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. Pp. 191-200 *in* Impact of arbus-

**Tabla 1.** Micorrización y su efecto sobre la reacción de las raíces de "Williams" a la infección con *M. javanica*.

	% de tejido radical micorrizado	Agallas / 5 g de raíces
- MA - <i>M. javanica</i>	/	/
- MA + <i>M. javanica</i>	/	41 $\pm$ 12 b
<i>G. mosseae</i> - <i>M. javanica</i>	29 $\pm$ 10 b	/
<i>G. mosseae</i> + <i>M. javanica</i>	23 $\pm$ 12 a	29 $\pm$ 16 ab
<i>G. macrocarpum</i> - <i>M. javanica</i>	14 $\pm$ 3 a	/
<i>G. macrocarpum</i> + <i>M. javanica</i>	15 $\pm$ 5 a	25 $\pm$ 17 a
<i>G. caledonium</i> - <i>M. javanica</i>	22 $\pm$ 5 a	/
<i>G. caledonium</i> + <i>M. javanica</i>	16 $\pm$ 6 a	16 $\pm$ 8 a

Los datos representan los promedios de ocho repeticiones. Los promedios en las mismas columnas seguidos por la misma letra no difieren de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

cular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems (S. Gianinazzi & H. Schüepp, eds). Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.

Jaizme-Vega M.C., P. Tenoury, J. Pinochet & M. Jaumot. 1997. Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. *Plant and Soil* 196: 27-35.

Jakobsen L. 1998. Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. Pp. 305-332 in *Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology* (A. Varma & J.E. Hooker, eds). Springer-Verlag, New York, USA.

Koske R.E. & J.N. Gemma. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research* 92: 486-488.

Pinochet J., C. Calvet, A. Camprubi & C. Fernández. 1996. Interaction between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops. *Plant and Soil* 185: 183-190.

Pinochet J., C. Fernández, M. Jaizme & P. Tenoury. 1997. Micropropagated banana infected with *Meloidogyne javanica* responds to *Glomus intraradices* and phosphorus. *Hortscience* 32: 101-103.

Umesh K.C., K. Krishnappa & D.J. Bagyaraj. 1988. Interaction of burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne 199, and VA mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* (THAXT) Gerd. and Trappe in banana (*Musa acuminata* colla.). *Indian Journal of Nematology* 18: 6-11.

Annemie Elsen y Dirk De Waele trabajan en el *Laboratory of Tropical Crop Improvement*, Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Lovaina, Bélgica; Stéphane Declerck trabaja en la *Mycothèque de l'Université catholique de Louvain (MUCL)*, Unité de microbiologie, Place Croix du Sud 3, 1348 Louvain-la-Neuve, Bélgica.

## Estudio de las especies de hongos endofíticos asociados a la necrosis de las raíces de bananos en plantaciones de bananos y plátanos de Cuba

A. Batlle-Viera y L. Pérez-Vicente

En Cuba existen un total de 108 700 ha cultivadas de Musáceas, de las cuales cultivares de banano del subgrupo Cavendish (AAA) ocupa 32 800 ha, los plátanos (AAB) 13 800 ha y las variedades de tipo Burro/Bluggoe (ABB) 62 000 ha. De las 32 800 ha de plantaciones de banano existentes 13 800 están cultivadas con sistemas de riego localizado microjet, por lo cual deben permanecer los próximos cinco años en explotación. Sin embargo, existe el interés de replantar estas áreas con híbridos tetraploides resistentes a plagas y enfermedades desarrollados por la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA).

Las especies de nemátodos más comúnmente asociadas a nuestras plantaciones son *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Helycotylenchus multincinctus*, *Meloidogyne* spp. y *Rotylenchulus reniformis*. De ellas, las más importantes en Cuba son las tres primeras (Pérez *et al.* 1984). La determinación de la patogenicidad de los nemátodos ha sido usualmente establecida en función de la densidad poblacional encontrada en las raíces. Sin embargo, existen datos contradictorios con relación a la densidad poblacional de los nemátodos y los daños causados en el cultivo. En los últimos años han sido registrados en Cuba caída de plantas y necrosis de raíces con poblaciones muy bajas de nemátodos.

Interacciones a nivel radical entre *R. similis* y especies fungosas del género *Cylindrocladium* y *Acremonium* que contribuyen a aumentar los daños causados por

este nematodo han sido bien documentadas (Booth y Stover 1981, Loridat 1989, Sarah 1990). Estas asociaciones han sido encontradas en la mayoría de suelos infestados con nemátodos en algunas de las Islas de las Antillas. En Cuba no existe ningún antecedente de trabajos tendientes a investigar y cuantificar estas asociaciones a escala radical. Sin embargo, no siempre existe una buena correlación entre las poblaciones de nemátodos y los daños observados en raíces y el desarrollo de las plantas.

El objetivo del presente estudio fue determinar las especies de hongos que se encuentran asociadas a las necrosis de raíces en bananos y plátanos en diferentes clones y plantaciones de Cuba.

### Materiales y métodos

Los muestreos fueron realizados en plantaciones de plátanos ubicadas en las provincias de Pinar del Río, La Habana, Matanzas, Villa Clara, Ciego de Avila, Camagüey, Cienfuegos, Santiago de Cuba y Guantánamo.

Se realizaron muestreos de raíces de plantas de "Gran enano" (AAA), de "Gros Michel" (AAA), "CEMSA 3/4" (AAB) y "Burro CEMSA/Bluggoe" (ABB), necrosadas y en algunos casos vinculadas a plantas caídas aparentemente debido al ataque de nemátodos. En cada campo se muestrearon 10 plantas al azar. Para muestrear las raíces afectadas se excavaron huecos de 20 x 20 x 20 cm, a una distancia de 10 cm del pseudotallo de donde se sacaron cinco raíces afectadas.

Las raíces fueron lavadas y seleccionados fragmentos necrosados típicos del ataque de *R. similis* los cuales fueron desinfectados con hipoclorito al 1% durante dos minutos y culti-

vadas en medio de agar agua, suplementado con 50 µg/ml de estreptomycin. Los crecimientos fungosos obtenidos fueron pasados a tubos con cuñas de PDA, siendo incubados hasta proceder a la identificación de las especies presentes. Las identificaciones de las especies de *Fusarium* fueron realizadas utilizando como referencia la clave de Booth (1981). Las especies de *Cylindrocarpon* encontradas fueron identificadas utilizando las claves del CMI editadas por el CAB.

Se registraron las especies presentes en cada localidad y se determinó la frecuencia relativa de cada una de las especies en relación con el total de los aislados obtenidos en las diferentes localidades.

### Resultados y discusión

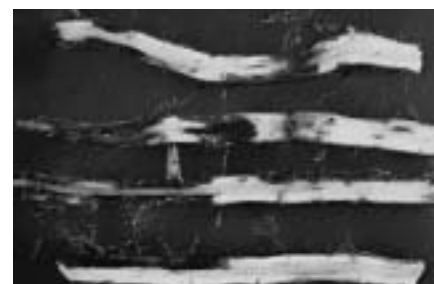
Un total de 59 aislados endofíticos fueron obtenidos a partir de tejidos de raíces aparentemente necrosados por *R. similis*. Las especies identificadas de estos aislamientos se describen en la Tabla 1.

Las especies *Cylindrocarpon musae* y *Fusarium oxysporum* Schlecht. fueron aisladas en casi todas las muestras de todas las localidades. *F. oxysporum* resultó la especie más frecuentemente aislada (45.6 % de todos los aislados), seguido por *C. musae* (19.2% de todos los aislados). Con menos frecuencia fue encontrado también *F. equiseti* (Corda) Sacc. Resultados similares fueron encontrados por Pocasangre (2000), quien encontró que las especies de *Fusarium* son las predominantes en suelos infestados con *R. similis* de Cuba, Costa Rica, Guatemala y Honduras.

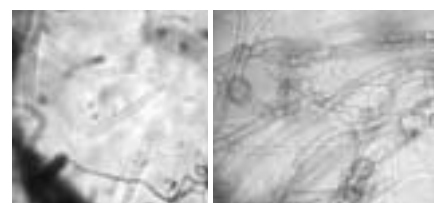
Booth y Stover (1971), informaron la presencia de *C. musae* asociado a necrosis de

**Tabla 1.** Especies de hongos endofíticos asociados a las raíces de bananos y plátanos de plantaciones de diferentes localidades de Cuba.

Cepa	Especie	Clon	Localidad
1.1	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	Gran enano	UBPC 14 La Cuba, Ciego de Avila
1.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	UBPC 14 La Cuba, Ciego de Avila
1.5	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	UBPC 14 La Cuba, Ciego de Avila
2.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	UBPC 1 La Cuba, Ciego de Avila
2.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	UBPC 1 La Cuba, Ciego de Avila
2.3	colonias oscuras no identificado	Gran enano	UBPC 1 La Cuba, Ciego de Avila
2.4	colonias oscuras no identificado	Gran enano	UBPC 1 La Cuba, Ciego de Avila
3.1	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	UBPC 7 La Cuba, Ciego de Avila
3.2	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	Gran enano	UBPC 7 La Cuba, Ciego de Avila
4.1	colonias oscuras no identificado	Gran enano	UBPC 5 La Cuba, Ciego de Avila
4.2	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	UBPC 5 La Cuba, Ciego de Avila
5.1	colonias oscuras no identificado	Gran enano	Sola, Camagüey
5.2	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	Sola, Camagüey
5.5	Monilial no identificado	Gran enano	Sola, Camagüey
6.1	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	Gran enano	La Esperanza, Quemado de Güines, Villa Clara
6.3	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	La Esperanza, Quemado de Güines, Villa Clara
6.5	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	La Esperanza, Quemado de Güines, Villa Clara
7.1	<i>F. semitectum</i>	Gran enano	Margarita, Quemado de Güines, Villa Clara
7.2	<i>C. musae</i> B. & St.	Gran enano	Margarita, Quemado de Güines, Villa Clara
8.1	<i>C. musae</i> B. & St.	Parecido al Rey	Lutgardita, Quemado de Güines, Villa Clara
8.2	Basidiocarpio	Parecido al Rey	Lutgardita, Quemado de Güines, Villa Clara
9.1	colonias oscuras no identificado	Gran enano	Güines, Quemado de Güines, Villa Clara
9.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Güines, Quemado de Güines, Villa Clara
9.3	colonias oscuras no identificado	Gran enano	Güines, Quemado de Güines, Villa Clara
9.4	Monilial no identificado	Gran enano	Güines, Quemado de Güines, Villa Clara
10.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Horquita, Cuban 11, Cienfuegos
10.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Horquita, Cuban 11, Cienfuegos
11.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	FHIA-03	Lenin, Matanzas
11.2	<i>C. musae</i> B. & St.	FHIA-03	Lenin, Matanzas
11.3	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	FHIA 03	Lenin, Matanzas
12.2	colonias oscuras no identificado	Parecido al Rey	Lenin, Campo 48, Matanzas
13.1	colonias oscuras no identificado	Gran enano	Lenin, Campo 52, Matanzas
13.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Lenin, Campo 52, Matanzas
14.1	<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc.	Gran enano	Pinar del Río (vitroplantas)
15.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Robusta	La Maya, Santiago de Cuba
15.3	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Robusta	La Maya, Santiago de Cuba
15.4	<i>C. musae</i> B. & St.	Robusta	La Maya, Santiago de Cuba
16.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gros Michel	La Ciénaga, Baracoa, Guantánamo
16.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gros Michel	La Ciénaga, Baracoa, Guantánamo
17.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Imías, Guantánamo
17.2	colonias oscuras no identificado	Gran enano	Imías, Guantánamo
17.3	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gran enano	Imías, Guantánamo
18.1	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gros Michel	Vega del Jobo, Imías, Guantánamo
18.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gros Michel	Vega del Jobo, Imías, Guantánamo
18.3	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Gros Michel	Vega del Jobo, Imías, Guantánamo
19	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Burro	Palma Soriano, Santiago de Cuba
20	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	Burro	Antero Regalado, Artemisa, La Habana
21	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Burro	UBPC Emilio Hernández, Artemisa
22	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Burro	CPA Niceto Pérez, Güira La Habana
24	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Burro	Ojo de Agua, San Antonio, La Habana
25	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Pelipita	CPA Niceto Pérez, Güira La Habana
26.1	<i>Rhizoctonia</i> sp.	FHIA	La Palma, Alquizar, La Habana
26.2	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	FHIA	La Palma, Alquizar, La Habana
27	<i>C. musae</i> B. & St.	Burro	Rpto. Hnos. Cruz, Pinar del Río
28	Hongo oscuro, no identificado	Burro	San Juan y Martínez, Pinar del Río
29	<i>C. musae</i> B. & St.	Cavendish enano	Coifa, Boyeros, La Habana
30	Hongo no identificado	Burro CEMSA	CCS Pedro Lantigua, Bauta, La Habana
31	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.		Consejo de Estado, Plaza, La Habana
32	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Robusta	Fca. Govín, Caimito, La Habana



**Figura 1.** Raíces de bananos con necrosis causadas por el ataque de nematodos.



**Figura 2.** *Cylindrocarpon musae*. Macroconidios y clamidosporas.

las raíces de bananos en Costa Rica y plantearon que el hongo no tenía capacidad parasítica para provocar las lesiones en raíces sanas. Otras especies de *Cylindrocarpon* son importantes patógenos de las plantas. Por ejemplo, *C. destructans* causa necrosis de raíces y muerte de plantas de pino (*Pinus* sp.) (Chakravarty y Unestam 1987).

Actualmente se están desarrollando bioensayos de inoculaciones artificiales de *C. Musae per se* y estudios de cocultivos de *C. musae* y *R. similis*. Los resultados de estas investigaciones arrojarán importante información sobre el efecto de la patogenicidad de estas especies sobre la necrosis de las raíces en el cultivo.

En ninguna de las localidades fueron aisladas especies de *Cylindrocladium* o *Zythia* sp. informadas por Loridat (1989), Mourichon (1993) y Risède (1994). Estas especies han sido relacionadas con las necrosis de bananos en Martinica y Guadalupe y posteriormente observadas en Camerún (Abadie 1998, comunicación personal) y Côte d'Ivoire (Kobenan 1991).

## Conclusiones

1. Las especies más frecuentemente asociadas a las necrosis causadas por nematodos en plantaciones de banano y plátanos de diferentes regiones de Cuba son *F. oxysporum* y *C. musae*. Con menos frecuencia fueron observados *F. equiseti* y *Rhizoctonia* sp.
2. *F. oxysporum* fue la especie aislada con mayor frecuencia con un 45.6% del total de aislados obtenidos, seguida de *C. musae*.

Nunca fueron encontradas *Cylindrocladium* spp. y *Zythia* sp. informadas en otros países como asociadas a las necrosis de las raíces. ■



## Bibliografía

- Booth C. 1981. The genus *Fusarium*. CAB, Ferham Royals, England, 237pp.
- Booth C. & R.H. Stover. 1971. *Cylindrocarpon musae* sp. nov., commonly associated with burrowing nematode (*Radopholus similis*) lesions on banana. Trans. British Mycol. Soc. 63:503-507.
- Chakravarty P. & T. Unestam. 1987. Mycorrhizal fungi prevent disease in stressed pine seedlings. Journal of Phytopathology 118(4): 335-340.
- Kobenan K. 1991. Parasites du système racinaire des bananiers en Côte d'Ivoire. Fruits 46(6): 633-641.
- Loridat P. 1989. Etude de la microflore fongique et des nématodes associés aux nécroses de l'appareil souterrain du bananier en Martinique. Mise en évidence du pouvoir pathogène du genre *Cylindrocladium*. Fruits 44(11):587-598.
- Mourichon X. 1993. Parasites fongiques du bananier. Fruits 48(1): 26-28.
- Pérez J., O. García & E. Fernández. 1984. Distribución de los principales nematodos parásitos del plátano en Cuba. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Serie Protección de Plantas. 7(1): 27 - 58.
- Pocasangre L. 2000. Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematode *Radopholus similis* and Panama disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*). PhD Thesis, Bonn University. 95pp.
- Risède J.M. 1994. Eléments de caractérisation de *Cylindrocladium* sp. agent des nécroses racinaires du bananier en Martinique. Fruits 49(3): 167-178.
- Sarah J.L. 1990. Les nématodes et le parasitisme des racines de bananiers. Fruits. (Número Spécial Bananes): 60-67.

Alicia Batlle-Viera y Luis Pérez-Vicente trabajan en el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, INISAV, Gaveta 634, Zona Postal 13, Playa, Ciudad de La Habana, 11300 Cuba.

## Agronomía

## Efecto de las micorrizas

# Efectos de la micorrización sobre el desarrollo de dos cultivares de platanera micropropagada

M.C. Jaizme-Vega,  
M. Esquivel Delama,  
P. Tenoury Domínguez  
y A.S. Rodríguez Romero

Las posibilidades de utilizar hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) en los sistemas de producción vegetal son cada vez más reales, y los estudios dirigidos a tal fin se han incrementado considerablemente en los últimos años.

La platanera<sup>1</sup> (*Musa* AAA) presenta durante sus primeras fases de desarrollo una buena capacidad micotrófica y una dependencia micorrícica moderada (40-50%) (Jaizme-Vega *et al.* 1998). La micorrización en la fase *in vivo* ha permitido registrar mejoras cuantificables en el crecimiento y nutrición de esta especie (Lin y Chang 1987, Rizzardi 1990, Declerk *et al.* 1995, Jaizme-Vega y Azcón 1995) incluso bajo las condiciones de fertilización estándar de los viveros comerciales (Tenoury 1996, Sosa Hernández 1997), con consecuencias positivas sobre el comportamiento de la planta frente a diferentes patógenos de suelo, tales como *Meloidogyne incognita* (Jaizme-Vega *et al.* 1997), *Pratylenchus goodeyi* (Jaizme-Vega y Pinochet 1997) y *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Jaizme-Vega *et al.* 1998). Estos resultados demuestran las ventajas de la aplicación de inóculo de hongos MA

durante las fases de enraizamiento y aclimatación de plataneras micropropagadas, garantizando una planta bien desarrollada, con un incremento en su tolerancia frente a posibles ataques patógenos de suelo. Sin embargo, y hasta el momento, no hay información sobre el efecto de estos hongos simbiotes en platanera durante fases de desarrollo más avanzadas y bajo condiciones de fertilización similares a las del cultivo comercial.

Por esta razón se realizó la presente investigación con el objetivo de estudiar secuencialmente los efectos de la micorrización temprana sobre el crecimiento de plataneras micropropagadas desde las primeras fases de desarrollo hasta nueve meses después de su trasplante a campo en condiciones de microparcela.

## Material y métodos

### Planta hospedadora

Se utilizó material de platanera micropropagada de los dos cultivares comerciales más extendidos, *Musa acuminata* Colla AAA, cvs. "Grande Naine" y "Gruesa" (selección local de "Dwarf Cavendish").

### Fase de enraizamiento

#### Inoculación con hongos MA

La micorrización se realizó durante la fase de endurecimiento. El inóculo consistió en una mezcla homogénea de suelo rizosférico, esporas y raicillas de la planta hospedadora.

Para cada cultivar se inocularon dos hongos formadores de MA, empleando en ambos casos 1500 g de inóculo por bandeja (capaci-

dad de la bandeja 24 kg.) de los siguientes aislados:

- *Glomus intraradices* Schenck y Smith, procedente de colección, multiplicado bajo sorgo, con un porcentaje de colonización de un 68%.
- *Glomus manihotis* Howeler, Sieverding y Schenck, procedente de colección, multiplicado bajo tomate con un 70% de colonización.

El tamaño de las plantas en el momento de ser inoculadas fue de  $10 \pm 2$  cm, con aproximadamente tres hojas desarrolladas. La inoculación se realizó en bandejas de polietileno (PE) (40 x 60 cm, A x L), disponiendo una bandeja por cultivar y hongo, además de dos bandejas control (una por cultivar) con plántulas sin inóculo. En total fueron inoculadas seis bandejas con 35 plantas cada una

Como sustrato se empleó una mezcla esterilizada a vapor libre de suelo, picón (arena volcánica) y turba enriquecida (TKS1<sup>®</sup>, Instant, Floragard, GmbH), en las proporciones 5:2:1. Esta fase duró durante 6 semanas en condiciones de invernadero bajo un túnel de aclimatación de malla negra. El riego se hizo con agua destilada, según necesidades de las plantas.

### Fase de vivero

Finalizado el periodo de enraizamiento y antes del trasplante a contenedores individuales, 10 plantas de cada tratamiento y variedad, fueron seleccionadas para evaluar los efectos de la inoculación micorrícica sobre el desarrollo de la planta, la dependencia micorrícica bajo las condiciones de fertilización impuestas, y el alcance de la colonización de los hongos MA.

<sup>1</sup> En Canarias, resto de España y también en México, se llama plátano a lo que en la mayoría de los países latinoamericanos y también en inglés se conoce como banano. Por ello utilizaremos a lo largo de este artículo el término plátano y no banano para referirnos a los cultivares del grupo Cavendish con los que hemos trabajado.



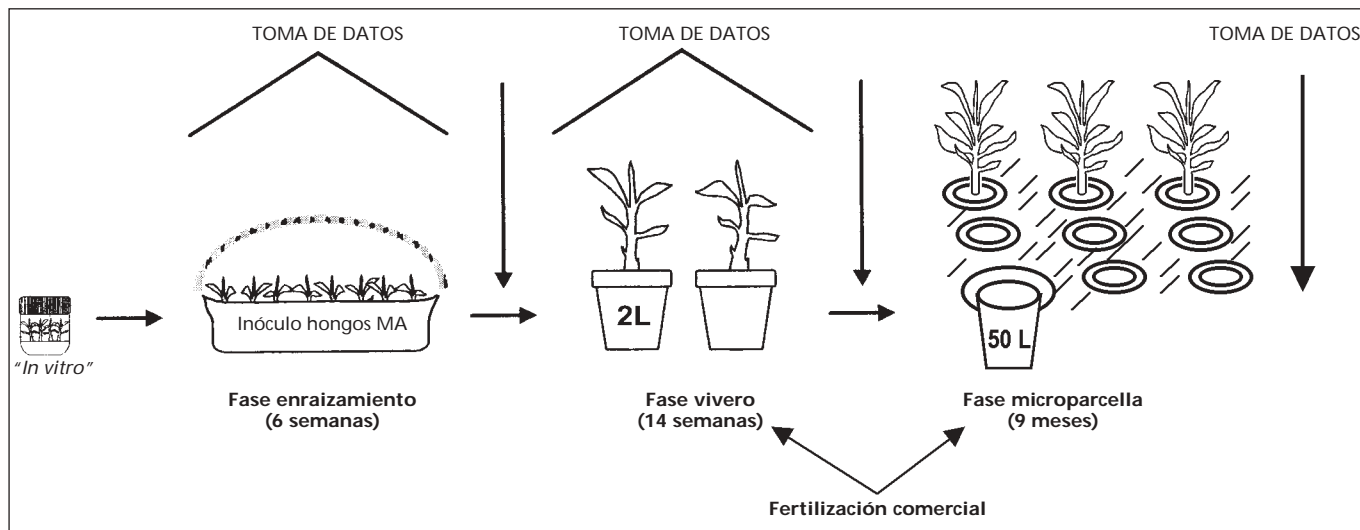


Figure 1. Esquema de la diferentes fases de desarrollo de la platanera en el presente ensayo.

Los parámetros correspondientes al crecimiento general de la planta que se evaluaron en cada fase de la investigación fueron los siguientes: peso fresco de raíz y parte aérea (g), peso seco de parte aérea (g), longitud y diámetro del pseudotallo (cm), número de hojas y superficie foliar (cm<sup>2</sup>). La superficie foliar se calculó con el medidor de superficie Li-COR, inc. Lincoln, Nebraska, EEUU. Mod. Li-3100.

La dependencia micorrícica relativa (DMR), definida por Gerdeman (1975) como el grado de necesidad de las plantas de estar micorrizadas para producir el máximo crecimiento o rendimiento a un nivel determinado de fertilidad del suelo, fue establecida según la fórmula propuesta por Plenchette *et al.* (1983) como expresión numérica de este concepto:

$$DMR = \frac{\text{Peso seco planta MA} - \text{Peso seco planta no MA}}{\text{Peso seco planta no MA}} \times 100$$

La infección micorrícica se confirmó mediante observación al microscopio óptico. Las muestras de raíz fueron blanqueadas con KOH al 10% y posteriormente teñidas con azul de trypan al 0.05% en ácido láctico, según lo descrito por Phillips y Hayman (1970) y modificado por Koske y Gemma (1989). El porcentaje de colonización radical fue determinado a partir de 20 trozos de 1 cm de raíz teñida, montados sobre un porta-objetos y observados al microscopio óptico, según lo descrito por Brundett *et al.* (1985).

Una vez realizadas las determinaciones, 20 plantas de cada tratamiento fueron llevadas a bolsas de PE de 2 L, con un sustrato esterilizado a vapor libre, compuesto a volúmenes iguales (1:1:1) por suelo, picón y turba enriquecida (TKS1<sup>®</sup>). Esta fase duró 14 semanas en condiciones de invernadero, con unas temperaturas comprendidas entre 27–32°C, y una humedad relativa de 70–80%.

La fertilización se diseñó según el plan de fertilización de un vivero comercial de platanera. Las plantas fueron fertilizadas dos veces por semana (100cc/planta), en días alternos. En una de las aplicaciones se fertilizaba con (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ca (3 g/L) y con NO<sub>3</sub>H (0.4 cc/L), en la otra se aplicaba SO<sub>4</sub>K<sub>2</sub> (3 g/L) y PO<sub>4</sub>H<sub>3</sub> (0.2 cc/L). Los días en los que no se aplicaba fertilizante, se intercalaban riegos con agua corriente, en función de las necesidades del cultivo. Semanalmente se aplicó micronutrientes en tratamiento foliar al 3% con Wuxal<sup>®</sup> Super AA 8-8-6 (Argos Shering, Agrevo, S.A. Valencia, España).

#### Fase de microparcela

Después de tres meses y medio de crecimiento, las plantas fueron sometidas a un nuevo trasplante a un contenedor de mayor tamaño, y enterradas en una parcela dentro de los límites de la finca propiedad del ICIA, situada a 300 msnm. Este emplazamiento está considerado debido a su orientación y condiciones climáticas como zona marginal para este cultivo. Antes de llevar a cabo este paso, y de igual manera que se hizo en el primer trasplante, se evaluó sobre 10 plantas por cultivar y tratamiento el efecto de los hongos MA, así como la extensión de la infección micorrícica en sus raíces, y su dependencia micorrícica.

Para esta última fase del ensayo se eligieron macetas de PE de 35 cm de diámetro, y 50 L de capacidad, rellenas de un sustrato sin esterilizar compuesto de los mismos elementos y en las mismas proporciones que señalamos en el trasplante anterior (1:1:1), enriquecido con 1.5 g/L de abono de lenta liberación (Osmocote 17:10:10, Scotts, O.M. Tarragona). Una vez instaladas las plantas en sus nuevas macetas (10 por cultivar y tratamiento), estas se colocaron dentro de otra de las mismas dimensiones previamente enterradas hasta el borde superior en la par-

cela de ensayo. La fertilización se aplicó a través del sistema de riego localizado, abonando semanalmente (1 L/planta) con las dos combinaciones de abono ya descritas para las plataneras después del primer trasplante. La fertilización foliar se aplicó quincenalmente. Los días en los que no se aplicó fertilizante, el riego se administró en función de las necesidades hídricas de la planta.

Las plantas permanecieron en esta condición durante nueve meses. Posteriormente se procedió a levantar el ensayo y valorar los efectos de la simbiosis sobre el desarrollo de las plataneras.

Diferentes variables experimentales fueron estudiadas tales como: peso fresco de raíz y parte aérea, número de hijos, número de hojas, superficie foliar, contenido en N, P y K, además de la dependencia y colonización micorrícica.

Con el fin de realizar los análisis foliares, las muestras se colocaron en una estufa durante 24 horas a 70°C, y posteriormente fueron evaluados los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio. Para medir el N, la muestra fue mineralizada por "vía húmeda", y determinada calorimetricamente en el caso del P, y por espectrofotometría de absorción atómica en el del K.

Los datos fueron analizados mediante ANOVA (Systat). Las medias se compararon por la prueba de menor diferencia significativa, LSD de Fisher. Los análisis fueron realizados con el paquete estadístico Systat versión 5.0 (SPSS Inc. Chicago, EEUU).

#### Resultados y discusión

Al finalizar la fase de enraizamiento, ambos cultivares manifestaron una respuesta positiva a cualquiera de los dos hongos MA inoculados (Tablas 1a y 2a). En esta fase, la dependencia micorrícica relativa (DMR) de ambos cultivares a *G. manihotis* y *G. intraradices*, alcanzó los valores más ele-

**Tabla 1.** Efecto de *G. manihotis* y *G. intraradices* sobre el desarrollo, colonización y dependencia micorrícica de platanera micropropagada cv. ‘Grande naine’ a los a) 6 semanas después de la inoculación, b) 14 semanas después de la inoculación y c) 9 meses después del trasplante a microparcela.

	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	Pseudotallo		No. hojas	Sup. foliar (cm <sup>2</sup> )	Colonización %	DMR** %	
	Raíz	P. aérea	P. aérea	Diámetro	Longitud					
<b>a) 6 semanas después de la inoculación (fase enraizamiento)</b>										
Testigo	2.6 b*	8.6 b	0.5 b	0.9 b	10.4 b	5.2 b	143 b	–	–	
<i>G. manihotis</i>	6.4 a	17.5 a	1.1 a	1.2 a	12.9 a	6.3 a	261 a	26	51	
<i>G. intraradices</i>	5.5 a	17.8 a	1.0 a	1.2 a	12.1 a	6.0 a	269 a	37	46	
<b>b) 14 semanas después de la inoculación (fase vivero)</b>										
Testigo	13.1 b*	38.1 b	2.6 b	1.8 b	15.4 b	7.3 b	494 b	15	–	
<i>G. manihotis</i>	29.4 a	66.5 a	4.4 a	2.6 a	23.5 a	8.5 a	777 a	59	40	
<i>G. intraradices</i>	26.7 a	63.7 a	4.3 a	2.4 a	22.1 a	8.7 a	805 a	38	38	
	Peso fresco (g)		No. hojas	No. hijos	Sup. foliar (cm <sup>2</sup> )	Colonización %	DMR %	Contenido macronutrientes		
	Raíz	P. aérea						N	P	K
<b>c) 9 meses después del trasplante a microparcela</b>										
Testigo	5.3 b*	9.2 a	14.0 a	3.7 ab	50192 a	59	–	2.89 a	0.185 a	2.52 a
<i>G. manihotis</i>	6.8 ab	6.9 a	14.3 a	2.2 b	44256 a	71	5	2.99 a	0.180 a	2.80 a
<i>G. intraradices</i>	9.8 a	10.0 a	13.7 a	4.5 a	55774 a	74	8	2.71 a	0.183 a	2.41 a

\* Media de 10 repeticiones. Dentro de cada columna, las diferencias entre cifras seguidas de una misma letra no son estadísticamente significativas aplicando la prueba de Fisher ( $P \leq 0.05$ ).

\*\* DMR: dependencia micorrícica relativa.

**Tabla 2.** Efecto de *G. manihotis* y *G. intraradices* sobre el desarrollo, colonización y dependencia micorrícica de platanera micropropagada cv. ‘Gruesa’ a los: a) 6 semanas después de la inoculación, b) 14 semanas después de la inoculación, y c) 9 meses después del trasplante a microparcela.

	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	Pseudotallo		No. hojas	Sup. foliar (cm <sup>2</sup> )	Colonización %	DMR** %	
	Raíz	P. aérea	P. aérea	Diámetro	Longitud					
<b>a) 6 semanas después de la inoculación (fase enraizamiento)</b>										
Testigo	3.1 b*	8.2 b	0.50 b	0.97 b	8.7 b	5.5 a	155 b	–	–	
<i>G. manihotis</i>	5.5 a	12.9 a	0.80 a	1.15 a	8.7 b	6.3 a	223 a	27	38	
<i>G. intraradices</i>	6.0 a	11.9 a	0.75 a	1.18 a	9.8 a	6.5 a	216 a	24	34	
<b>b) 14 semanas después de la inoculación (fase vivero)</b>										
Testigo	22.8 b*	40.5 b	2.8 b	2.0 b	14.7 b	7.7 a	514 b	14	–	
<i>G. manihotis</i>	33.9 a	57.5 a	3.9 a	2.5 a	16.3 a	8.5 a	722 a	26	29	
<i>G. intraradices</i>	36.4 a	50.7 a	3.5 ab	2.4 a	15.9 ab	8.0 a	662 a	30	19	
	Peso fresco (g)		No. hojas	No. hijos	Sup. foliar (cm <sup>2</sup> )	Colonización %	DMR %	Contenido macronutrientes		
	Raíz	P. aérea						N	P	K
<b>c) 9 meses después del trasplante a microparcela</b>										
Testigo	7.1 a*	7.8 a	14.9 b	2.4 a	41845 b	59	–	2.84 a	0.176 a	2.65 a
<i>G. manihotis</i>	7.7 a	11.5 ab	19.1 ab	3.6 a	57733 ab	72	31	3.03 a	0.189 a	3.00 a
<i>G. intraradices</i>	9.5 a	13.6 a	23.2 a	4.0 a	61660 a	83	42	3.00 a	0.184 a	3.03 a

\* y \*\* ver tabla 1.

vados de todo el tiempo de ensayo, entre un 35-50%, respectivamente. En esta primera fase, los porcentajes de colonización de los dos hongos MA inoculados fueron similares para los dos cultivares.

Después del trasplante, el efecto positivo de los hongos MA sobre el desarrollo de las plantas se mantuvo, de tal manera que tres meses y medio después de la micorrización, las plantas inoculadas de ambos cultivares presentaban la mayoría de las variables experimentales evaluadas con valores significativamente diferentes desde el punto de vista estadístico con respecto a los controles (Tablas 1b y 2b). Las DMR evolucionaron de modo similar en los dos cultivares, acabando esta fase del ensayo con unas medias del 40% para ambos hongos MA sobre ‘Grande naine’, y del 30% y 20% para *G. manihotis* y *G. intraradices* respectivamente, sobre ‘Gruesa’ (Tablas 1b y 2b).

Las colonizaciones micorrícicas en las raíces de las plataneras inoculadas, sufrieron tendencias diferentes en función del cultivar. Así, las raíces de las plantas de ‘Grande naine’ inoculadas con *G. manihotis* duplicaron sus valores de infección micorrícica con respecto al primer momento de estudio, manteniendo los mismos valores en aquellas raíces colonizadas por *G. intraradices*. Sin embargo, en las plantas del cv. ‘Gruesa’ no se registraron cambios en las colonizaciones con respecto a los valores obtenidos en el primer trasplante. Durante el ensayo, y a partir de las 14 semanas se evaluaron sobre las raíces de las plantas testigo de ambos cultivares infecciones de un 15% de hongos MA contaminantes (Tablas 1b y 2b), sin efectos significativos sobre el desarrollo de las plantas. Estos endófitos pueden proceder del agua de riego o de contaminaciones incontroladas del vivero donde se encontraban las plantas.

Estos datos confirman los ya publicados sobre los beneficios de la micorrización temprana de plantas durante las primeras fases de desarrollo de este cultivo (Declerck *et al.* 1995, Tenoury 1996, Sosa-Hernández 1997, Jaizme-Vega *et al.* 1997, 1998).

Los resultados de la segunda fase del ensayo, en la cual se estudió los efectos de los hongos MA sobre plantas micorrizadas en la fase *in vivo* endurecidas durante tres meses y trasplantadas a sustrato no estéril muestran que, después de nueve meses en condiciones de microparcela con fertilización estándar, en general las plataneras inoculadas con *G. intraradices* y con más énfasis las del cultivar Gruesa registraron un efecto benéfico de la simbiosis sobre el desarrollo de la planta, y unos porcentajes de DMR de aproximadamente un 40%. Estos valores pueden considerarse relativamente altos para las condiciones del ensayo (Tablas

1c y 2c), además de observar un incremento en los datos de las restantes variables experimentales. Sin embargo, los datos de los macronutrientes (N, P y K) aunque sensiblemente superiores, no guardan diferencias estadísticamente significativas (Tablas 1c y 2c). Esta no respuesta en el contenido nutricional de la parte aérea, puede interpretarse como la respuesta típica de una planta micorrizada y sometida a una fertilización con abonos solubles.

Las plantas del cultivar "Grande naine" manifestaron una respuesta menor a los hongos MA después de la fase de microparcela, presentando aquellas inoculadas con *G. manihotis* un desarrollo y un estado nutricional igual o incluso ligeramente menor que las plantas control.

Al finalizar esta fase, la colonización radical conseguida por las dos especies de *Glomus* inoculadas es relativamente importante en ambos cultivares (superiores al 70%). Es de resaltar el alto nivel de colonización de las raíces de las plantas control. En esta parte del ensayo se empleó un sustrato sin esterilizar circunstancia que, unida a las otras condiciones del ensayo justifican estos datos.

Las conclusiones del presente trabajo en general, y de esta última fase del ensayo en particular, nos permiten confirmar las ventajas en momentos más avanzados del cultivo, creando unas perspectivas esperanzadoras sobre las consecuencias de este recurso biotecnológico sobre el mejoramiento de la producción.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a Ana Rosa Socorro Monzón, responsable del Laboratorio de suelos y riegos del ICIA, la realización de los análisis foliares.

Este ensayo forma parte de los realizados dentro del proyecto INCO-DEV: *International Cooperation with Developing Countries* (1998-2002), Contrato No. ERB IC 18 CT97-0208. ■

#### Bibliografía

- Brundrett M.S., Y. Piche & R.L. Peterson. 1985. A development study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Canad. J. Bot.* 63: 184-194.
- Declerck S., C. Plenchette & D.G. Strullu. 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil* 176(1): 183-187.
- Gerdemann J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. Pp. 575-591 in *The development and Function of Roots*. (J.G. Torrey and D.T. Clarkson, eds). Academic Press, New York and London.
- Jaizme-Vega M.C. & R. Azcon. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5: 213-217.
- Jaizme-Vega M.C. & J. Pinochet. 1997. Growth response of banana to three mycorrhizal fungi in *Pratylenchus goodeyi* infested soil. *Nematropica* 27(1): 69-76.
- Jaizme-Vega M.C., B. Sosa-Hernández & J. Hernández 1998. Efecto de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) en platanera micorrizada bajo dos niveles de fertilización fosforada. *Acta Horticulturae* 490: 285-295.
- Jaizme-Vega M.C., P. Tenoury, J. Pinochet & M. Jaumot. 1997. Interaction between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the mycorrhizal association of *Glomus mossae* and Grande Naine banana. *Plant and Soil* 196: 27-35.
- Koske R.E. y J.M. Gemma. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res.* 92: 486-505.
- Lin Ch. & D.C.N. Chang. 1987. Effect of three *Glomus* endomycorrhizal fungi on the growth of micropropagated banana plantlets. *Trans. Mycol. Soc. Rep. China* 2(1): 37-45.

pagated banana plantlets. *Trans. Mycol. Soc. Rep. China* 2(1): 37-45.

Phillips J.M. & D.S. Hayman. 1970. Improve procedures for cleaning roots and stain parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.

Plenchette C., J.A. Fortin & V. Furlan. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhiza in a soil of moderate P fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and Soil* 70: 191-209.

Rizzardi V. 1990. Effect of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated *Musa acuminata* clone "Grand Nain". *Revista de Agricultura Subtropical e Tropical* 84(3): 473-484.

Sosa Hernandez B. 1997. Estudio de la interacción de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) y el patógeno vascular *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* sobre platanera en fase de vivero. Proyecto Fin de Carrera. Universidad de La Laguna. Centro Superior de Ciencias Agrarias. 155pp.

Tenoury P. 1996. Estudio de la interacción del hongo formador de micorrizas arbusculares (MA) *Glomus mosseae* y el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en platanera. Proyecto Fin de Carrera. Universidad de La Laguna. Centro Superior de Ciencias Agrarias. 159pp.

Los autores trabajan en el Departamento de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Apartado 60, 38200 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España.

## *Arachis pintoii*: ¿una planta de cobertura para los bananales? Ventajas e inconvenientes desde un punto de vista nematológico

P. Quénéhervé, Y. Bertin y C. Chabrier

La leguminosa *Arachis pintoii* L. (maní forrajero) se utiliza desde hace muchos años como planta de cobertura en distintos países de la zona intertropical, en particular en Centroamérica (Kerridge 1993). Su comportamiento frente a los nematodos está aún poco documentado. La posible resistencia del cv.

"Amarillo" frente a *Meloidogyne* spp. se menciona en Australia (Cook *et al.* 1990). En México se observó una reducción sensible de los ataques de *Meloidogyne* en tomates en un ensayo de cultivos asociados (Marban Mendoza *et al.* 1992). En Costa Rica, una experimentación en campo puso de manifiesto que *Arachis pintoii* sería un buen hospedero de *Radopholus similis* (Cobb 1893, Thorne 1949) con una infestación concomitante promedio de aproximadamente 30

individuos por g de raíz (Araya 1996). También en Costa Rica, pruebas realizadas en cultivos de banano y plátano habrían mostrado una incidencia positiva del maní forrajero, utilizado como planta de cobertura, reduciendo la densidad de *Radopholus similis* en los bananos adyacentes (Vargas 1998). Por último, en 1999, Jonathan *et al.* mostraron, tras un ensayo de inoculación artificial, que la leguminosa *Arachis pintoii* no era hospedero de distintas especies de



*Meloidogyne* Goeldi 1892 (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*) ni de *Rotylenchulus reniformis* Lindford y Oliveira 1940.

Antes de experimentar, y quizás aconsejar el empleo de *Arachis pintoi* como posible planta de cobertura en plantaciones de banano, quisimos comprobar su comportamiento frente a los nematodos del banano en Martinica. Se efectuó un ensayo de inoculaciones controladas de las principales especies presentes (*Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Hoplolaimus seinhorsti*, *Meloidogyne incognita*) así como de *Meloidogyne mayaguensis*, una especie muy patógena en Martinica aunque aún no haya sido observada en banano, en cámara climática en el laboratorio de nematología del IRD como preliminar antes de cualquier experimentación en campo.

### Materiales y métodos

Las semillas de *Arachis pintoi* cv. Amarillo procedentes de Costa Rica fueron inoculadas por recubrimiento en el momento de la siembra con su bacteria simbiótica *Rhizobium* sp. Estas semillas fueron puestas en cultivo en tubos de cultivo de PVC de 237 cm<sup>3</sup> llenos de tierra estéril (esterilización al vapor durante 1 hora a 100°C). El substrato era de tipo andosol volcánico, de pH 6.2, con un 7.3% de materia orgánica y una capacidad de intercambio catiónico de 10.3 meq por 100 g de suelo. La experimentación se efectuó en cámara climática a razón de ocho repeticiones por tratamiento con un termoperíodo de 27-22°C ± 1°C, un fotoperíodo de 14 horas de luz, un riego diario y la aplicación semanal de una solución fertilizante de Hoagland. Cuatro semanas después de la siembra y desarrollo del maní, las cinco especies de nematodos previamente criadas en laboratorio (*R. similis*, *P. coffeae*, *H. seinhorsti*, *M. incognita* y *M. mayaguensis*) fueron inoculadas individualmente a razón de 400 individuos por planta. Se comprobó la infestación del sistema radical 45 días después tras extracción de los nematodos de las raíces mediante nebulización (Seinhorst 1950). Las densidades de nematodos se expresaron en número de nematodos por sistema radical y por gramo de raíz seca (luego de pasar por la estufa a 60°C durante 24 horas).

### Resultados y discusión

Los resultados de esta experimentación (Tabla 1) muestran que en 45 días, sólo tres especies de nematodos se mantuvieron: *R. similis*, *H. seinhorsti* y *P. coffeae*. La inoculación de las distintas especies de nematodos no produjo efecto tanto en el crecimiento de las partes aéreas como radicales del maní que, por lo tanto, se revela, en este corto período de tiempo, como tolerante a los ataques de estos nematodos.



Figure 1. Sistema radical de *Arachis pintoi*.

*Arachis pintoi* no fue capaz de mantener y multiplicar las dos especies de *Meloidogyne*, *M. incognita* y *M. mayaguensis*. Este resultado confirma y completa en lo que concierne a *M. mayaguensis*, los resultados anteriores sobre la capacidad de este maní para no ser hospedero de las principales especies de nematodos agalladores, exceptuando *M. hapla* (Jonathan *et al.* 1999).

*Arachis pintoi* es, por el contrario, hospedero de las tres especies restantes y, según los criterios que se aplican a las malezas en plantaciones (Quénéhervé *et al.* 2002), se puede considerar que es mal hospedero de *R. similis* pero muy buen hospedero de *H. seinhorsti* y de *P. coffeae*. La capacidad de hospedero de *Arachis pintoi* a *R. similis*, ya observada (Araya 1996), se ve confirmada y se observa también algo nuevo: su alta susceptibilidad a *P. coffeae* y a *H. seinhorsti*, dos especies de nematodos cuya patogenicidad en banano está demostrada en uno (*P. coffeae*) y es probable en el otro.

Estos resultados deberán compararse con aquellos observados en campo en condiciones de infestación natural. En efecto, la pro-

ducción de raíces en *Arachis pintoi* es extremadamente escasa (relación parte aérea/parte de raíz aproximadamente del 7.5 en nuestra experimentación) y sería interesante cuantificar la capacidad real “reservorio” de esta planta en campo frente a los nematodos tal y como efectuó Araya en 1996. No obstante, ya se puede reflexionar sobre el aspecto “no hospedero” frente a *Meloidogyne* spp. y sobre todo frente a *M. mayaguensis*, y reconsiderar este cultivo en el marco de un barbecho limpiador (rehabilitación) y protector frente a estos nematodos antes de un cultivo sensible anual o perenne.

Desde hace muchos años, los agrónomos buscan plantas utilizables en barbecho (corta, media y larga duración) o en plantas de cobertura, capaces, entre otras cosas, de reducir la presión parasitaria (por ejemplo, los nematodos) y también de disminuir la de las malezas, mejorar la fertilidad del suelo y limitar la erosión (Ternisien y Melin 1989). En el Caribe, se escogieron dos plantas por su actividad contra los nematodos, con sus ventajas y e inconvenientes: la gramínea forrajera *Digitaria decumbens* y la leguminosa forrajera *Mucuna pruriens* cv. *utilis* de origen africano.

Cada una de estas plantas presenta un interés según el sistema de cultivo de que se trate. *D. decumbens* es interesante en sistemas de rotación a largo plazo que integren ganadería y cultivo de hortalizas en el campo, como los vertisoles del sur de Martinica. *M. pruriens*, ampliamente utilizada en el sudeste de los Estados Unidos y África, puede también tener un lugar en Martinica como cultivo intercalado corto así como en algunos sistemas hortícolas intensivos para controlar los nematodos y, especialmente, *Meloidogyne* spp. (Quénéhervé *et al.* 1998).

Esta tercera planta, *Arachis pintoi*, recientemente introducida por el CIRAD-FLHOR en Martinica, parece presentar algunas ventajas pero posee también inconvenientes:

- Ventajas: semillas comercializadas, propagación por semilla o vegetativa; planta no hospedera de varias especies de nematodos incluido *Meloidogyne* spp.;

Tabla 1. Resultados de los conteos de nematodos y pesados de plantas de *A. pintoi* 45 días después de inoculación.

	No./g raíz	Raíces (mg)	Parte aérea (mg)	Calidad de hospedero <sup>1</sup>
Testigo	-	260 ± 10	1470 ± 140	-
<i>Hoplolaimus seinhorsti</i>	382 ± 132	240 ± 40	1880 ± 110	***
<i>Pratylenchus coffeae</i>	2918 ± 447	240 ± 30	1630 ± 350	***
<i>Radopholus similis</i>	112 ± 95	250 ± 50	1820 ± 50	*
<i>Meloidogyne mayaguensis</i>	0	240 ± 60	1600 ± 300	NH
<i>Meloidogyne incognita</i>	0	270 ± 30	2010 ± 180	NH
ANOVA		NS	NS	

<sup>1</sup> Muy buen hospedero = \*\*\*; Buen hospedero = \*\*; Mal hospedero = \*; No hospedero = NH



compatible como planta de cobertura; aporte de nitrógeno (aproximadamente 60 kg/ha/año).

- Inconvenientes: plantas hospederas de graves nematodos endoparásitos migratorios, como *R. similis* y *P. coffeae*; instalación lenta; necesidad de inocular la bacteria específica asociada.

La introducción y la utilización de *Arachis pintoi* como planta de cobertura en plantaciones podría pues efectuarse bajo algunas condiciones:

- En ausencia de los nematodos *R. similis* y *P. coffeae*, lo que limita su utilización directamente después de banano u otro cultivo infestado por *P. coffeae* (ñame, malanga);
- Tras rotación de cultivos, pero en presencia de *Meloidogyne* spp., con el fin de reducir el potencial infestante de estos nematodos agalladores antes de la resiembra con vitroplantas de banano.

Esta planta podría también tener su sitio en Martinica y las Antillas en otros agrosistemas distintos que aún no se han experimentado:

- En huertas de frutales, como los cítricos pero, sobre todo, para los guayabos que

sufren graves ataques de *M. mayaguensis* en las Antillas (Quénéhervé *et al.* 2001);

- En cultivo de hortalizas como planta de barbecho y planta de cobertura asociada ■.

#### Bibliografía

- Araya M. 1996. Capacidad hospedante de *Arachis pintoi* a *Radopholus similis*. CORBANA 21: 19-24.
- Cook B.G., R.G. Williams & G.P.M. Wilson. 1990. *Arachis pintoi* Krap et Greg. nom. nud (pinto peanut) cv. Amarillo. Tropical Grasslands 24: 124-125.
- Jonathan E.J., K.R. Barker & T.B. Sutton. 1999. Estado de hospederos del maní (cacahuete) silvestre *Arachis pintoi* para nematodos noduladores de las raíces y reniformes. INFOMUSA 8(2): 9-10.
- Kerridge P.C. 1993. Biology and agronomy of forage *Arachis*. International Center for Tropical Agriculture (CIAT), Colombia.
- Marban-Mendoza N., M.B. Dicklow & B. Zuckerman. 1992. Control of *Meloidogyne incognita* on tomato by two leguminous plants. Fundam. Appl. Nematol. 15: 97-100.
- Quénéhervé P., P. Topart & B. Martiny. 1998. *Mucuna pruriens* and other rotational crops for control of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* in vegetables in poly-tunnels in Martinique. Nematropica 28: 19-30.

Quénéhervé P., Y. Bertin & A. Kermarrec. 2002. *Meloidogyne mayaguensis*: a root knot nematode causing severe decline of guava trees in the Caribbean (Abstr.). African Plant Protection (*en prensa*).

Quénéhervé P., C. Chabrier, A. Auwerkerken, P. Topart, B. Martiny & S. Marie-Luce. 2002. Status of weeds as reservoirs of nematodes in banana fields in Martinique. Nematropica (*some-tido a publicación*).

Seinhorst J.W. 1950. De betekenis van de toestand van de grond voor het optreden van aanstasting door het stengelaattje (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn) Filipjev). Tijdschr. Plziekt. 5: 291-349.

Ternisien E. & Ph. Melin. 1989. Etude des rotations culturales en bananeraie. Première partie : bilan des cultures de rotation. Fruits 44: 373-383.

Vargas A. 1998. Banana (*Musa AAA*) and plantain (*Musa AAB*) cultivation in the presence and absence of a green cover crop (*Arachis pintoi* CIAT-18748). CORBANA 22: 23-39.

Patrick Quénéhervé trabaja en el Institut de Recherche pour le Développement (IRD, ex ORSTOM), BP 8006, 97259 Fort-de-France Cedex, Martinica; Yves Bertin y Christian Chabrier en el CIRAD-FLHOR, BP 153, 94202 Fort-de-France Cedex, Martinica.

## Dinámica del boro en un suelo cultivado con plátano (*Musa AAB* cv. Dominico hartón) en el Quindío, Colombia

M. M. Bolaños Benavides  
y A. García Alzate

El boro (B) es el único elemento no metálico de los seis micronutrientos esenciales; tiene una valencia constante de +3, y el más pequeño radio iónico. Predomina en las rocas sedimentarias. En las rocas ígneas es más abundante en los granitos, bajo la forma de borosilicatos, siendo la turmalina (3 a 4% de boro) el mineral más común. Se encuentra en el suelo en cuatro estados: a) formando parte de la estructura cristalina de los minerales; b) adsorbido o retenido por los coloides del suelo; c) como anión en la solución del suelo y d) asociado a la materia orgánica (Bonilla *et al.* 1994).

El contenido de boro total en los suelos varía de 2 a 200 ppm, del cual la mayor parte no es asimilable por las plantas. En relación con otros micronutrientos, el boro presenta algunas peculiaridades, pues en la

solución del suelo siempre se encuentra combinado con el oxígeno, comportándose, como anión (borato) en todas las reacciones. El anión borato presenta una alta movilidad, lo cual permite que se pierda fácilmente por lixiviación. Se puede considerar que el boro disponible en los suelos pertenece a un ciclo, donde una pequeña cantidad proviene de la turmalina y una gran cantidad de la materia orgánica.

La materia orgánica es descompuesta por los microorganismos y libera el boro disponible a la solución del suelo, en donde es absorbido por las plantas; una parte puede ser lavada por el agua de infiltración y una pequeña parte puede ser fijada o retenida por las arcillas. (Berger y Pratt, citados por Bonilla *et al.* 1994).

Dentro de las múltiples funciones que desempeña el boro en el metabolismo vegetal, se encuentran las siguientes: afecta, entre otros, los procesos de florecencia y fructificación, la germinación del grano de

polen, la división celular, la síntesis de la pared celular, el metabolismo del nitrógeno, de los carbohidratos y de las sustancias pécticas. Con respecto a estas sustancias, Rajaratnam y Lowry (1974) reportan que su concentración puede incrementarse en plantas deficientes en boro.

Otra función del boro es la absorción de agua por el protoplasma y la absorción de sales minerales. Se dice que la función principal del boro es ayudar al movimiento de las moléculas de azúcares altamente polares a través de la pared celular. El boro es un constituyente de las membranas y es inmóvil en la planta, de modo que cualquier deficiencia de este elemento es inmediatamente reflejada por la alteración del metabolismo de los carbohidratos (que se acumulan en las hojas). Esta condición podría ser la causa de casi todas las demás funciones atribuidas a él (Gómez y Leguizamón 1975). A pesar del notable avance que ha experimentado el estudio de la nutrición mineral, el papel del

**Tabla 1.** Métodos de análisis químico de suelos.

Determinación	Métodos de análisis
pH	Potenciómetro, relación 1:2.5
Al (acidez intercambiable)	KCl 1N
MO	Walkley – Black
P (ppm)	Bray II
Bases intercambiables	Acetato de amonio normal (1N) y neutro (pH 7)

boro en el metabolismo de las plantas, plantea aún muchos interrogantes.

Actualmente en la región cafetera central de Colombia, muchos cultivos de plátano presentan síntomas que se asocian con deficiencias de boro. Según León *et al.* se habían reportado en 1985 diez casos de deficiencia de boro en el país. Con el presente trabajo se pretendió tener una base importante para afrontar con más claridad el problema mencionado anteriormente. El objetivo propuesto fue determinar la importancia del boro en el cultivo de plátano (*Musa* AAB cv. Dominico hartón), en el Quindío y estudiar su dinámica durante diez años, en un suelo fertilizado con elementos mayores.

### Materiales y métodos

El estudio se efectuó en un lote ubicado en la Estación experimental El Agrado, municipio de Montenegro, departamento del Quindío, Colombia. La estación se encuentra a 1320 msnm, con una precipitación de 2000 mm promedio anual, temperatura media anual de 22°C y una humedad relativa de 76%.

Según la clasificación de Holdridge su ecosistema corresponde a bosque húmedo premontano (bh-PM). Los suelos son derivados de cenizas volcánicas (andisoles), tienen fertilidad natural media, son de textura media a gruesa, con baja capacidad de retención de humedad, y son lixiviables y susceptibles a la erosión.

Para el estudio se tomaron los análisis de suelos desde el 2 de mayo de 1990 hasta el 2 de marzo del año 2000. Las muestras de suelo se obtuvieron cada dos años, tomándose cinco repeticiones. Fueron analizados los datos de precipitación correspondientes al periodo en el cual se efectuó el estudio.

En las muestras colectadas se determinó el pH, materia orgánica, calcio de intercambio, fósforo (P), magnesio (Mg), potasio (K), y boro (B). Los métodos de análisis utilizados se nombran en la Tabla 1. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de correlación, y de esta forma se observó la relación existente entre: boro – peso del racimo (producción ciclo por ciclo), boro – potasio, boro – calcio, boro – porcentaje de materia orgánica del suelo, y boro-pH.

**Tabla 2.** Variación de las propiedades químicas del suelo bajo estudio (1990 – 2000).

Año	Cambios en la fertilidad del suelo						
	pH	MO (%)	K (meq/100 g)	Ca (meq/100 g)	Mg (meq/100 g)	P (ppm)	B (ppm)
1990	6.08	3.79	0.95	5.2	0.93	22.0	0.40
1993	5.18	3.66	0.69	4.4	1.03	71.6	0.12
1995	5.72	3.72	1.22	2.8	0.64	34.6	0.19
1997	5.78	4.8	1.30	3.8	0.94	61.0	0.06
2000	5.10	4.8	1.79	6.0	0.60	29.0	0.01

También se analizaron las relaciones existentes entre Ca/Mg, Mg/K, Ca/K, (Ca+Mg)/K.

### Resultados y discusión

A partir de los datos obtenidos de los análisis de suelos, se realizó un promedio de las cinco repeticiones, observándose una variación a través de los años como lo muestra la Tabla 2.

#### Contenido de boro

Como se observa en los resultados del análisis químico del suelo realizados durante los últimos 10 años, el contenido de boro ha disminuido considerablemente de niveles adecuados para el cultivo del plátano, según Buriticá (1985) de 0.4 ppm de boro hasta 0.01 ppm del elemento, valor en el cual se presentarían deficiencias. Sin embargo se debe considerar el ciclo edáfico del boro, el cual determina su concentración en la solución del suelo y por consiguiente su disponibilidad para ser absorbido por las plantas (Mengel 1980).

#### Relación entre pH y contenido de boro

Como se observa en la Tabla 3, el boro muestra una correlación estrecha y directa respecto al pH, debido a que este se encuentra en un rango óptimo para la absorción de boro; ya que, la fijación del microelemento por los hidróxidos de Fe y Al, como también por parte de las arcillas aumenta con el pH, siendo máxima con un pH entre 8 y 9 y esta es mínima cuando el pH es cercano a 5 (Lora 1994). Según Domínguez (1988) el aumento del pH disminuye la disponibilidad del boro pero esto no se manifiesta más que a partir de un pH de 6, que representa un valor extremo en este suelo experimental.

Según Marschner (1986), la disponibilidad de boro para las plantas decrece con el incremento del pH del suelo, lo cual sucede en suelos calcáreos o en suelos con altos contenidos de arcillas, presumiblemente como resultado de la formación y absorción del  $B(OH)_4^-$ .

De acuerdo con los análisis químicos del suelo estudiado, el valor del pH (5.1 – 6.08) oscila dentro de un rango adecuado para la aprovechabilidad del micronutriente. Esto explica que los síntomas de deficiencia de boro solo se han manifestado en los últimos

años. Las razones por las cuales se correlaciona el contenido de boro con el pH, se fundamentan en que este:

- Infiere profundamente en muchos procesos biológicos del suelo,
- Afecta la disponibilidad de micronutrientes,
- Altera la absorción de un elemento a través de su efecto sobre la actividad microbial,
- Genera cambios en la habilidad de las raíces para absorber o transportar los iones una vez absorbidos,
- Produce variaciones en la estabilidad de complejos orgánicos solubles e insolubles,
- Cambia la solubilidad de iones antagónicos y altera las condiciones de la rizosfera.

#### Relación entre nutrimentos

Los resultados obtenidos muestran también una correlación estrecha e inversa en cuanto al K con respecto al boro (Tabla 3), esto es explicable ya que el contenido de K, con el transcurrir de los años, ha llegado a niveles mayores de 0.30 meq/100g de suelo, que según Gómez y Leguizamón (1975), puede provocar deficiencias de boro.

La interacción potasio-boro no parece seguir una regla general. Revé y Shive (1944) citados por Domínguez (1998) demostraron que, en un medio rico en boro, la absorción de boro aumentaba con el enriquecimiento del suelo en K, pero por el contrario en presencia de niveles bajos de boro en el medio, la deficiencia de boro se agrava con el aumento de K. El sentido de la interacción K y boro parece depender de la riqueza de boro en la solución del suelo. La tendencia en este estudio mostró que las aplicaciones crecientes de K provocan una ligera reducción de la disponibilidad de boro.

**Tabla 3.** Correlaciones entre boro edáfico, pH, K, Ca, P y peso del racimo (PR) en kg.

	Correlaciones
pH – B	0.82
K – B	-1.00
Ca – B	0.80
P – B	-0.86
PR – B	1.00

Cuando el boro interacciona con otros elementos, se debe considerar la posibilidad de desbalances nutricionales en el suelo, dado que conlleva a antagonismos que afectan directamente a la planta, ya que uno o varios elementos no estarían disponibles para la misma. Tal es el caso del potasio que es absorbido en cantidades menores cuando el contenido de boro es muy bajo.

En cuanto al calcio, sus niveles se incrementan cuando el boro es deficiente. En el suelo bajo estudio, no se encuentra alta disponibilidad de Ca, esto podría favorecer la absorción de boro. Sin embargo, la interacción calcio-boro ha sido estudiada en las concentraciones del medio de crecimiento y en la relación Ca/boro en la planta. Revé y Shive (1944) citados por Domínguez (1988), indicaron que altas concentraciones de calcio agravaban los síntomas de deficiencia de boro en tomate. La toxicidad de boro en medio demasiado rico en este, puede por otra parte ser disminuida aumentando las cantidades de calcio del medio. Es posible que por todo lo anterior, las deficiencias de boro en el cultivo de plátano estudiado, solo se han presentado en estos últimos años (1999-2000), aún cuando los niveles bajos de este elemento se han encontrado desde el año 1993.

La Tabla 3 muestra una correlación inversa del P con respecto al boro. Según estudios realizados por Robertson y Lougman (1974), se demostró que se produce una disminución clara en la absorción de fósforo en plantas deficientes en boro. Este concepto se basa en el papel del boro como estimulante de la utilización de la glucosa 1-fosfato. Lo anterior indica que mientras haya bajos niveles de boro, el P que se encuentre en el suelo será de asimilación muy lenta, provocando acumulación progresiva del elemento (P) en el suelo.

Según las relaciones hechas entre los diferentes cationes (Tabla 4) y su posterior comparación con sus niveles críticos, en ningún caso se observa deficiencia de K, lo cual es explicable por las grandes cantidades de fertilizantes potásicos que se han aplicado a través de los años, como también por el reci-

**Tabla 4.** Relaciones catiónicas en el suelo experimental (1990 – 2000).

Relación	1990	1993	1995	1999	2000
Mg/K	1.58	1.93	0.87	0.73	1.00
Ca/Mg	5.72	4.14	5.00	4.88	5.00
Ca/K	8.97	7.96	5.37	3.58	6.66
(Ca+Mg)/K	10.50	9.88	6.26	4.33	7.66

claje que tiene este elemento en los residuos de cosecha del plátano. Según Belalcázar (1991), el cultivo del plátano extrae en mayor porcentaje elementos como potasio (76.02%) y calcio (13.62%), seguido por nitrógeno, magnesio y fósforo. De estos los que en mayor porcentaje se exportan son nitrógeno (25.55%) seguido por magnesio (20.09%) y fósforo (19.80%), mientras que los que se reincorporan o reciclan en mayor cantidad son calcio (94.47%) y potasio (89.77%).

Con referencia al magnesio, entre las causas que posiblemente originaron que el suelo objeto de estudio fuera deficiente en este macronutriente, están las relaciones inapropiadas con las otras bases del suelo, potasio principalmente (Tabla 4).

La relación Mg/K se encuentra desbalanceada, mostrando una deficiencia de Mg. Por lo tanto los niveles altos de K actúan de manera antagónica con el Mg, lo cual conlleva a una absorción baja de este elemento. Las pérdidas de magnesio en suelos son mayores cuando se agregan fertilizantes potásicos. Muchos autores consideran que un suelo es pobre en magnesio cuando tiene menos de 1.0 meq/100g, mientras otros lo califican así, cuando es inferior a 1.5 y aún 2.0 meq/100g. (Suárez y Carrillo 1984).

La fertilización intensiva y continuada con K, empleada en la zona, posiblemente contribuyó a la deficiencia de Mg, propiciando un desbalance en la relación Mg/K y en consecuencia inhibición en la absorción del Mg. Cabe anotar que en la zona donde se realizó este estudio, es frecuente encontrar cultivos que manifiestan síntomas de deficiencia de magnesio. De acuerdo con Fried y Dean (1952), las deficiencias nutricionales gene-

radas por la condición de desequilibrio, se pueden remediar con un plan de fertilización balanceado.

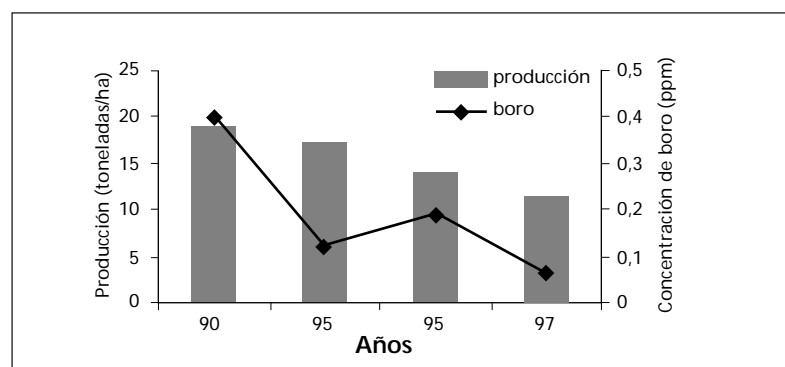
#### Materia orgánica y boro en el suelo

De acuerdo con los resultados de este estudio no existe correlación de la materia orgánica con respecto al boro, sin embargo, es de resaltar que diversos autores (Gómez y Leguizamón 1975) afirman que en los suelos minerales ricos en materia orgánica rara vez se observan deficiencias de boro, por lo que la materia orgánica del suelo es una gran fuente de boro. De la misma forma Berger y Truog (1945), citados por Domínguez (1988), obtuvieron una correlación positiva entre boro asimilable (boro soluble en agua) y el contenido de materia orgánica del suelo. Y más adelante Olson y Berger (1946), citados por Domínguez (1988), demostraron que la mineralización de la materia orgánica conducía a una liberación de boro asimilable.

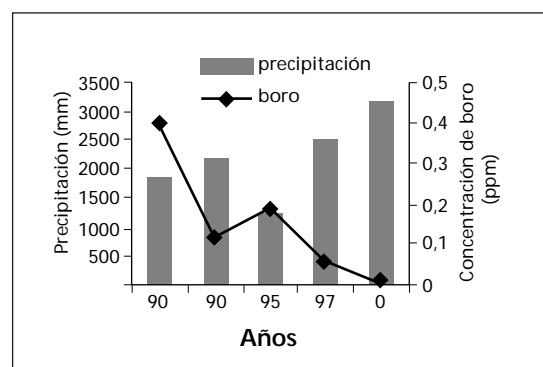
Por otra parte, el boro absorbido a los coloides orgánicos e inorgánicos del suelo, constituye una reserva para mantener la concentración de boro en la solución; esto ayuda a suplir la demanda por parte de los cultivos y reduce las pérdidas por lavado. Además, en suelos con mayor contenido de materia orgánica hay mayor concentración de boro, ya que una fracción importante del boro edáfico proviene de la materia orgánica del suelo.

#### Producción de plátano y boro edáfico

Se encontró una correlación estrecha y directa en cuanto a la producción con respecto al boro (Tabla 3). Esto se puede explicar por la degradación química del suelo, como lo muestra la Tabla 2. La pérdida gra-



**Figura 1.** Producción de plátano con respecto al contenido de boro en el suelo.



**Figura 2.** Contenido de boro edáfico vs precipitación.



dual del micronutriente boro afecta drásticamente el llenado del fruto (Figura 1) a tal punto que los dedos se deforman, maduran prematuramente y su tamaño se reduce, por lo cual la producción disminuye y se dificulta su mercadeo. En consecuencia es evidente la merma de la capacidad productiva del cultivo de plátano. La disminución en los rendimientos también puede asociarse con la regulación en la absorción y translocación del boro por las plantas, que es más limitada, en comparación con otros minerales.

Así mismo, la baja cantidad y calidad de la producción puede ser causada porque ante una deficiencia de boro, el crecimiento de los ápices se detiene, ya que se impide la elongación de las células (Lovatt *et al.* 1981, Robertson y Loughman 1974b) y su división (Cohen y Lepper 1977).

Según Leguizamón (1975), en muchos casos, los colinos afectados no alcanzan a llegar a la producción y si esto ocurre, se producen racimos pequeños y deformes.

De lo anterior se concluye que el boro es un nutriente fundamental para una buena producción, tanto en calidad de la fruta como en cantidad de la misma.

#### Precipitación y boro

El contenido de boro, tiende a disminuir debido a las altas precipitaciones que se han presentado en el área bajo estudio como se muestra en la Figura 2; esto, ligado a la textura franco-arenosa y a que el anión borato presenta cierta movilidad, permitió que se incrementara la tasa de lixiviación del boro. Por tal razón es necesaria la realización de aplicaciones más fraccionadas del nutriente.

Este resultado concuerda con Marschner (1986) quien plantea que bajo condiciones de alta precipitación el boro es lavado como  $B(OH)_3^-$ .

#### El boro en la fisiología de la planta

Un aspecto general de la deficiencia de boro, es el mal desarrollo de los tejidos meristemáticos, tanto de las extremidades de las raicillas como de los brotes. En caso de deficiencia de boro, las dificultades para el desarrollo son los primeros síntomas (Domínguez 1988). Este detenimiento del crecimiento de las puntas de las raíces posiblemente pueda contribuir a uno de los principales problemas del cultivo del plátano, como lo es el volcamiento de la planta. Primavessi (2000) afirma que la adición de boro ayuda al crecimiento de las raíces, e indica que si estas continúan en la capa con materia orgánica y no quieren penetrar en el suelo es por que no hay suficiente boro.

Las deficiencias de boro en las plantas no son identificadas fácilmente, excepto por análisis foliar o del suelo. Esto es relevante en el cultivo del plátano, ya que el micronu-

trimento juega un papel clave en transporte de azúcares, gracias a la transformación de complejos boro-azúcares (Marschner 1986) y por lo tanto en el llenado de los frutos; entonces, su deficiencia incide directamente sobre la calidad y cantidad de la cosecha de plátano.

#### Conclusiones

- El boro es un nutrimento fundamental para obtener rendimientos óptimos en el cultivo de plátano, así como calidad y cantidad de fruta. Esto es confirmado con la correlación entre peso del racimo y boro, la cual fue de 1.
- La disponibilidad de boro en la solución del suelo se encuentra íntimamente ligada a las precipitaciones y a la textura franco-arenosa del suelo ya que el anión borato presenta cierta movilidad.
- En el suelo experimental, desde 1990 hasta 2000 a medida que aumentó el contenido de potasio en el suelo, disminuyó el contenido de boro, y por consiguiente los rendimientos del cultivo experimental de plátano. Esto puede asociarse con la reiterada fertilización potásica que recibió el suelo.

#### Recomendación

Es necesario conducir otras investigaciones para precisar la recomendación en la fertilización con boro en los sistemas de cultivo de plátano, con relación a los contenidos de boro foliar y con base en diferentes niveles críticos de extracción del anión borato.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen al Comité de Cafeteros del Quindío, por el apoyo económico para la realización de los análisis de suelos, base sobre la cual se realizó el presente estudio, al Dr Fabio Aranzazu H., investigador de Corpoica, Regional 9, a Huberto Morales Osorno y Luz Dary Celis García, auxiliares de investigación, Corpoica, Regional 9. ■

#### Bibliografía

- Belalcázar C.S., C.A. Salazar M., G. Cayón S., J.E. Lozada Z., L.E. Castillo & J.A. Valencia M. 1991. Manejo de plantaciones. Pp. 147-214 *in* El cultivo del plátano en el trópico. Manual de Asistencia Técnica No. 50. Instituto Colombiano Agropecuario, Colombia.
- Bonilla C.R., A. García, L.E. Castillo & Ch.F. Salazar. 1994. Boro y zinc: dos elementos limitantes en Colombia. ICA Programa de Suelos, Colombia.
- Buriticá C.P. 1985. Situación del plátano en Colombia y el sistema de producción de tecnología para su cultivo. Rev. ICA – Informa (Colombia) 13: 24-31.
- Cohen M.S. & Lepper R. Jr. 1977. Effect of boron on cell elongation and division in squash roots. *Plant Physiol.* 59: 884-887.

- Domínguez A. 1988. El boro. Pp. 155-181 *in* Los microelementos en agricultura (A. Loué, ed.). Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Fried M. & L. Dean. 1952. A concept concerning the measurement of available soil nutrients. *Soil Science* 73:263-271.
- Gómez A. & J. Leguizamón. 1975. Importancia del boro en las plantas. Cenicafé (Colombia). Avance técnico No.43.
- Leguizamón J. 1975. Deficiencia de boro en cultivos de plátano en el Valle del Cauca. Cenicafé (Colombia). Avance técnico No. 39.
- León L.A., A.S. López & P.L.G. Vlek. 1985. Micronutrient problems in tropical Latin America. Pp. 95-129 *in* Micronutrients in tropical foods (P.L.G. Vlek, ed.). Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publ., Países Bajos.
- Lora S., R. 1994. Factores que afectan la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Pp. 29-55 *in* Fertilidad de suelos: diagnóstico y control (F. Silva M., ed.). Soc. Col. Ciencia del Suelo (SCCS).
- Lovatt C.J., L.S. Albert & G.C. Tremblay. 1981. Synthesis, salvage and catabolism of uridine nucleotides in boron-deficient squash roots. *Plant Physiol.* 68:1389-1394.
- Marschner H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. San Diego CA Academic Press. 674pp.
- Mengel U.S. 1980. Borax plant food. Borate Meeting, Lafayette, Ind.
- Primavessi A. 2000. Manejo ecológico del suelo. Presentación al Simposio "Biología de Suelos Tropicales", 14-18 agosto 2000, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
- Rajaratnam J.A. & J.B. Lowry. 1974. The role of boron in the oil-palm (*Elaeis guineensis*). *Ann. Bot. (London) (N.S.)* 38: 193-200.
- Robertson G.A. & B.C. Loughman. 1974a. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytol.* 73: 291-298.
- Robertson G.A. & B.C. Loughman. 1974b. Response to boron deficiency: a comparison with responses produced by chemical methods of retarding root elongation. *New Phytol.* 73: 821-832.
- Suárez S & I.F. Carrillo. 1984. Comportamiento de tres fertilizantes potásicos en un *dystrandep* típico. Cenicafé (Colombia) 35(2): 31-39.
- Martha M. Bolaños Benavides** es bióloga, investigadora en CORPOICA. Avenida Bolívar Sector Regivit 28 Norte. A.A. 1807, Armenia, Colombia.  
E-mail: corpoarm@armenia.multi.net.co  
y **Alexander García Alzate** estudiante de pregrado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Agronomía. Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia. E-mail: alexandergarcia1@latinmail.com

# Evaluación de características agronómicas en clones híbridos de plátanos (*Musa* spp.)

P. Orellana Pérez, I. Bermúdez Caraballosa, L. García Rodríguez y N. Veitía Rodríguez

Los plátanos constituyen una importante fuente alimenticia para la población latinoamericana y las de algunos países africanos. Los clones de plátanos tipo 'Horn' tradicionalmente más cultivados, han sido fuertemente afectados por la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), lo cual ha reducido notablemente la oferta de este producto en los mercados locales y de exportación. Esta es la principal enfermedad que amenaza la producción de esta fuente de alimentos y divisas (Jacome 1998). El hecho de que el cultivo de los plátanos se hace generalmente en pequeñas fincas, a veces en regiones montañosas y muy a menudo asociado a otros cultivos hace difícil el control químico de la enfermedad. Las afectaciones no sólo en el volumen de producción, sino en la calidad del producto hacen que los niveles actuales de producción no satisfagan la creciente demanda en algunos mercados locales y para la exportación.

En la década de los 90, los primeros híbridos de plátano con resistencia a Sigatoka negra y características comerciales desarrollados por en la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), ofrecieron una esperanza para poder introducir nuevos clones en la producción comercial y recuperar los niveles de producción con menos costos.

Debido a su constitución genética en la cual han participado algunos clones del tipo 'French' de porte alto, los nuevos híbridos de plátano requieren ser estudiados para su caracterización morfológica y comportamiento agronómico con vistas a su explotación comercial.

En el presente trabajo se exponen los resultados de la evaluación de híbridos FHIA para varios caracteres agronómicos en la región central de Cuba.

## Materiales y métodos

Los estudios se realizaron a partir de vitroplantas micropropagadas según la metodología propuesta por Orellana (1994), realizándose las plantaciones en las empresa de cultivos varios "La Cuba" en la provincia de Ciego de Avila.

Se plantaron 50 plantas de cada clon híbrido en dos surcos separados a tres metros entre planta e igual distancia entre

surcos. A partir del inicio de la floración se evaluaron 20 plantas en cada clon para los siguientes caracteres:

- Altura de la planta
- Número de hojas funcionales (con más del 75 % de área verde) al inicio de la floración (NHFF)
- Número de hojas con manchas típicas de Sigatoka negra (estado 5 según la escala de Stover modificada por Gauhl (1984) al inicio de la floración (NHMF)
- Número de hojas funcionales (con más de 75 % de área verde) a la cosecha (NHFC)
- Número de hojas con manchas de Sigatoka negra a la cosecha (NHMC)
- Número de manos por racimo
- Longitud y diámetro del dedo central de las primera y penúltima manos
- Días a la maduración desde la cosecha (segunda mano con grado de maduración 1, según la escala de los 'Descriptores para el banano' (IPGRI-INIBAP/CIRAD 1996).
- Ciclo vegetativo en días desde siembra a floración y hasta la cosecha.

Con los resultados de las evaluaciones del número de hojas funcionales y con lesiones típicas de Sigatoka negra se elaboraron dos fórmulas para determinar indicadores de la reducción de área funcional: el Índice de Reducción de Hojas Funcionales (IRHF) y el Índice Relativo de Infección por Sigatoka negra (IRI) como indicador de la afectación por la enfermedad; este último, en dependencia del número de hojas funcionales y con manchas típicas en las dos etapas, inicio de floración y cosecha del racimo.

Formulas desarrolladas:

- $IRHF = NHFF/NHFC$
- $IRI = IRHF \times NHMC/NHFC$   
 $= NHFF \times NHMC/(NHFC)^2$

Debido a que en la práctica productiva de Cuba, sólo se realiza un ciclo de producción, las evaluaciones se realizaron sólo con la planta madre.

## Resultados y discusión

Los resultados indicaron que con excepción de 'FHIA-19', que alcanzó el menor peso del racimo, el resto de los clones no difieren para este carácter. En todos los clones, el mayor peso del racimo se concentra en las primeras cuatro manos (59.71% del peso total), mientras que el clon "FHIA-19" alcanzó el mayor peso en este indicador, con el 71%, lo que se justifica al observar la longitud y grosor de los dedos en la primera mano (Tabla 1). La concentración del mayor

peso del racimo en las primeras manos es característico de los plátanos, lo cual ratifica que en estos clones híbridos que desarrollan más de ocho manos por racimo se puedan eliminar las manos finales del mismo, posibilitando así el mayor desarrollo en longitud y diámetro de los dedos, aspecto este de gran importancia para competir con los plátanos tipo 'Horn'. En el resto de los caracteres del racimo no se observaron diferencias entre los clones. Arcila *et al.* (2000) recomiendan dejar cinco manos y realizar el desmane a los 20 días después de iniciada la floración.

Un aspecto importante a destacar es que los clones de mayor intervalo entre cosecha y maduración en condiciones naturales fueron "FHIA-20" y "FHIA-22" con 11 días, mientras que "FHIA-21" sólo tardó 8 días. Este comportamiento indica que los dos primeros presentan ventajas para el mercadeo local y para la exportación a distancias relativamente cortas.

Con respecto al comportamiento frente a la Sigatoka negra, el IRHF nos indica que "FHIA-04" que llegó a cosecha con sólo 1.3 hojas funcionales (IRHF = 9.31), fue el clon que presentó la mayor reducción de área foliar en el proceso del llenado de los dedos en el racimo, lo que provocó un insuficiente llenado de los mismos. El resto de los clones presentaron valores inferiores y similares entre sí (Tabla 2). En estos clones el número de hojas funcionales en el momento de la cosecha no fue inferior a cuatro, lo cual permitió completar el llenado de los dedos.

Los resultados indican que "FHIA-04" fue también el más afectado por la Sigatoka negra con un IRI igual a 9.31 debido a que todas las hojas funcionales presentaban manchas típicas de la enfermedad, denotando un rápido incremento del desarrollo de la enfermedad después de la floración. A tiempo de cosecha, "FHIA-20" y "FHIA-22" tenían más de dos hojas funcionales no afectadas por el patógeno y presentaron los menores valores de IRI, 1.38 y 1.40 respectivamente. "FHIA-05", "FHIA-19" y "FHIA-21", aunque con valores comparativamente superiores, presentaron buen comportamiento ante la enfermedad, no obstante todas sus hojas funcionales en el momento de la cosecha mostraban lesiones típicas de Sigatoka negra. Los resultados confirman que el tiempo de desarrollo de la enfermedad en el clon "FHIA-04" es muy inferior al resto de los clones, lo que fue reportado por Jones (1994).

**Tabla 1.** Características del racimo y rendimiento agrícola en los clones estudiados.

Clon	Peso del racimo (kg.)	Peso de las primeras 4 manos (kg.)	% del peso total del racimo	Número de manos por racimo	Longitud del dedo (cm)		Diámetro del dedo (mm)		Días de cosecha a maduración
					1ra	Pma	1ra	Pma	
FHIA-04	20.3 a	12.8	63	8.5	21.4	14.8	39.3	32.4	8
FHIA-05	21.5 a	13.5	63	8.6	20.8	15.5	39.0	33.5	8
FHIA-19	16.8 b	12.0	71	8.0	22.0	13.8	40.2	30.0	9
FHIA-20	20.6 a	12.1	59	9.7	19.0	14.0	39.8	32.0	11
FHIA-21	21.3 a	13.1	62	8.7	21.1	14.8	38.7	31.5	7
FHIA-22	22.2 a	14.0	61	8.6	20.0	14.0	41.0	31.0	11

(a, b): Medias de valores con letras no coincidentes, difieren entre sí, según la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $P \leq 0.05$ )

1ra: Dedo central de la primera mano; Pma: Dedo central de la penúltima mano.

Los resultados evidencian la factibilidad de utilizar el IRHF como expresión de la reducción del área foliar durante el proceso del llenado de los dedos y el IRI, como expresión del tiempo de desarrollo de la enfermedad en función de la afectación del área foliar dada por el número de hojas funcionales y hojas manchadas al momento de la cosecha, relación que siempre ha sido difícil de cuantificar numéricamente.

Según Ortiz y Vuylsteke (1994), citados por Craenen (1998), se requieren al menos ocho hojas funcionales durante todo el ciclo e igual número sin manchas antes de la floración para garantizar un buen rendimiento.

“FHIA-20” presentó el menor ciclo vegetativo desde la plantación a la cosecha con 481 días, mientras que en el resto de los clones este osciló entre 493 y 518 días a la cosecha.

### Conclusiones

- Los híbridos “FHIA-20” y “FHIA-22” presentan un buen comportamiento en su potencial productivo con el mayor periodo de tiempo entre la cosecha y maduración. El clon “FHIA-20”, además, presentó el ciclo vegetativo más corto.
- “FHIA-05”, “FHIA-19” y “FHIA-21” presentan también un buen potencial de rendimiento. Sin embargo, el índice relativo de infección nos indica que llegan a la cosecha con afectaciones por Sigatoka negra en todas sus hojas funcionales, lo cual en condiciones extremas de infección puede tener incidencia sobre el rendimiento.
- Los indicadores índice de reducción de hojas funcionales (IRHF) e índice relativo de infección (IRI) propuestos en este trabajo, parecen indicadores adecuados para comparar la reducción de área foliar activa y el periodo de desarrollo de la Sigatoka negra en el periodo de floración a cosecha entre diferentes clones de plátano. ■

### Bibliografía

Arcila M.I., J.A. Valencia & S. Belalcázar. 2000. Efecto del desmane sobre la calidad y la producción del híbrido de plátano FHIA-21. Pp. 71-78 in Postcosecha y agroindustria del plátano en el eje cafetero de Colombia. (D.G. Cayón, G. Giraldo, eds). CORPOICA. Universidad del Quindío,

**Tabla 2.** Respuesta de los clones a las afectaciones por Sigatoka negra.

Clon	En la floración		En la cosecha		IRHF	IRI
	NHFF	NHMF	NHFC	NHMC		
FHIA-04	12.1	3.13	1.3	1.3	9.31	9.31
FHIA-05	10.2	3.80	4.0	4.0	2.55	2.55
FHIA-19	9.0	4.0	4.0	4.0	2.25	2.25
FHIA-20	12.7	4.0	5.6	3.4	2.27	1.38
FHIA-21	11.5	4.8	4.5	4.5	2.56	2.56
FHIA-22	12.5	4.6	5.5	3.4	2.27	1.40

NHFF: Número de hojas funcionales a la floración; NHMF: Número de hojas manchadas a la floración; NHFC: Número de hojas funcionales a la cosecha; NHMC: Número de hojas manchadas a la cosecha; IRHF: Índice de reducción de hojas funcionales; IRI: Índice relativo de infección.

ASIPLAT, Comité Departamental de Cafeteros del Quindío, Colciencias. Fudesco, Armenia, Colombia.

Craenen K. 1998. Black Sigatoka disease of banana and plantain: a reference manual. IITA, Ibadan, Nigeria. 60pp.

Gauhl F. 1994. Epidemiology and ecology of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on plantain and banana in Costa Rica. INIBAP. Montpellier, Francia. 120pp.

IPGRI-INIBAP/CIRAD. 1996. Descriptores para el banano (*Musa* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italia/International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, Francia/Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Montpellier, Francia. 55pp.

Jacome L. 1998. Sigatoka negra, la situación en América Latina y el Caribe. Pp. 18-23 in

Memorias Primer Simposio Internacional sobre Sigatoka Negra (M.M. Robles *et al.* compil.). 8-10 de julio 1998, Manzanillo, México. SAGAR, INIFAP, INIBAP, Universidad de Colima, IICA.

Jones D.R. 1994. International *Musa* Testing Programme Phase I. Pp. 12-20 in The improvement and testing of *Musa*: a global partnership. (D.R. Jones, ed.). Proceedings of the first global conference of the International *Musa* Testing Programme held at FHIA, Honduras 27-30 April 1994. INIBAP, Montpellier, Francia.

Orellana P.P. 1994. Tecnología para la micropropagación *in vitro* de clones de *Musa* spp. Tesis en opción del Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Instituto de Biotecnología de Las Plantas. Universidad Central de Las Villas, Cuba. 120pp.

Los autores trabajan en el Instituto de Biotecnología de Plantas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

### Cultivo de tejidos

### Propagación masiva

## Alternativas para la propagación *in vitro* del cultivar híbrido FHIA-20

L. García Águila, B. Pérez Mederos, Z. Sarría Hernández, J. Clavero García

En la actualidad, diversos cultivares de musáceas son propagados usando la técnica de cultivo *in vitro* vía organogénesis directa, a través de yemas axilares

(Vasil 1994). Esta técnica constituye la base de la propagación masiva de plátanos y bananos, con actual vigencia en muchos países para propagar y distribuir en forma comercial y a gran escala plantas libres de enfermedades (Afza *et al.* 1996).

El genotipo es un parámetro conocido por influir en la eficiencia de la propagación *in*



*in vitro* y por lo tanto al incorporar a los programas productivos nuevas variedades o clones híbridos se requiere de modificaciones en la tecnología de micropropagación de este género. Banerjee *et al.* (1986) (citados por Afza *et al.* 1996) encontraron diferencias considerables entre la formación de brotes en diferentes clones, hecho que parece estar correlacionado con la presencia de uno o dos genomas B.

La propagación *in vitro* del cultivar híbrido FHIA-20 (AAAB) se reveló difícil. Se observó una conversión en plantas de los ápices durante la fase de iniciación así como brotes con crecimiento en forma de rosetas y con la presencia de estructuras bulbosas de color blanco en la fase de multiplicación, lo que constituyó un aspecto negativo en el incremento del coeficiente de multiplicación. Partiendo de esta problemática y teniendo en cuenta la necesidad de propagar con eficiencia el cultivar FHIA-20 durante el proceso de propagación *in vitro*, se hizo necesaria la búsqueda de alternativas para el manejo de los ápices en la fase de iniciación y de los brotes axilares (explantos) en la fase de multiplicación.

### Materiales y métodos

Para el estudio se seleccionaron plantas jóvenes que se encontraban creciendo en invernaderos con una altura promedio de 25.6 cm (Figura 1). Los procedimientos utilizados para la introducción al laboratorio del material vegetal, donde se incluye manipulación de las plantas, desinfección de los comos, medios de cultivos de iniciación y de multiplicación, así como las condiciones de cultivo, fueron los establecidos por Orellana (1994).

Las condiciones generales para el crecimiento de los cultivos se efectuaron a una temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  en cámaras de luz natural. En todos los casos, los ápices y los brotes se colocaron en los medios de cultivo con la base hacia abajo.

#### Influencia del tamaño de los ápices y el estado físico del medio de cultivo en la fase de iniciación

El estudio se realizó con la finalidad de establecer las condiciones de manejo y crecimiento de los ápices en la fase de iniciación. Para ello, se estudiaron los siguientes tratamientos (Figura 2):

1. Ápices de  $0.5 \text{ cm}^2$  cultivados en medio líquido (testigo).
2. Ápices de  $0.5 \text{ cm}^2$  cultivados en medio semi-sólido.
3. Ápices de  $1.0 \text{ cm}^2$  seccionado a la mitad y cultivados en medio líquido.
4. Ápices de  $1.0 \text{ cm}^2$  seccionado a la mitad y cultivados en medio semi-sólido.

A los 20 días de iniciado el cultivo las variables evaluadas fueron:

- Porcentaje de regeneración de los ápices.
- Porcentaje de contaminación de los ápices.
- Porcentaje de mortalidad de los ápices.
- Número de brotes por ápice.

Se establecieron 20 repeticiones por tratamiento y el procedimiento estadístico utilizado para el análisis de los datos en porcentajes fue la comparación de proporciones ANDEVAP. El análisis de la variable "número de brotes por ápices" se efectuó a través de un análisis de varianza simple y la comparación de las medias se realizó por Tukey a 0.05%.

Se utilizaron tubos de ensayo de  $14.5 \times 2.0 \text{ cm}$  con 10 ml de medio de cultivo. Para los medios de cultivo en estado líquido se utilizó un soporte de papel de filtro en forma de puente donde se colocaron los ápices. En el caso de los medios semi-sólidos se adicionaron  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  del gelificante Gellan gum (Spectrum®).

Las plantas obtenidas en la fase de iniciación fueron transferidas a medios de cultivo de multiplicación, para lo cual se individualizaron y decapitaron. Se observó que el crecimiento de los brotes en esta fase se presentaba en forma de pequeñas rosetas y con la presencia de estructuras bulbosas de color blanco. Este comportamiento de los brotes de FHIA-20 en la fase de multiplicación trajo como consecuencia la reducción de los coeficientes de multiplicación (brotes obtenidos/brotes iniciales).

#### Efecto de las dosis de

#### 6-bencilaminopurina y el tipo

#### de manejo sobre el crecimiento de

#### los brotes en la fase de multiplicación

Con el objetivo de solucionar la problemática presentada en el crecimiento de los brotes durante la fase de multiplicación se estudió la dosis de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  de 6-bencilaminopurina (BAP), usando como control la dosis de  $4 \text{ mg.L}^{-1}$  propuesta por Orellana (1994), ambas dosis complementadas con dos tipos de manejo de brotes.

**Manejo 1.** Los brotes son individualizados, decapitados a una altura de 0.5 cm y seccionados a la mitad.

**Manejo 2.** Los brotes menores de 1 cm se dejaron en grupos de dos ó unidos a la planta madre cuando sea el caso y no se efectuará el decapitado. Mientras que brotes mayores de 1 cm serán individualizados, decapitados a esta altura y seccionados a la mitad cuando el pseudotallo está formado por más de tres hojas.

De esta forma quedan conformado cuatro tratamientos:

1. Medios de cultivo de multiplicación con  $4 \text{ mg.L}^{-1}$  y el manejo 1 de los brotes (testigo).
2. Medios de cultivo de multiplicación con  $4 \text{ mg.L}^{-1}$  y el manejo 2 de los brotes.

3. Medios de cultivo de multiplicación con  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  y el manejo 1 de los brotes.

4. Medios de cultivo de multiplicación con  $2 \text{ mg.L}^{-1}$  y el manejo 2 de los brotes.

Las variables evaluadas fueron el número de brotes por explante inicial y el porcentaje de brotes con crecimiento en rosetas. Las evaluaciones se realizaron después de tres subcultivos cada 21 días, donde las condiciones de cultivo se desarrollaron en cámaras de cultivo de luz natural a una temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Se inocularon cinco explantes por frascos de 250 ml de capacidad, que contenían 30 ml de medio de cultivo semi-sólido ( $2 \text{ mg.L}^{-1}$  de Gellan gum (Spectrum®) y se establecieron 10 repeticiones por tratamiento. Los datos se procesaron a través de un análisis de varianza multifactorial y la comparación de las medias se efectuó por Tukey. Los datos en porcentajes se analizaron de forma similar al experimento anterior.

## Resultados y discusión

#### Influencia del tamaño de los ápices y el estado físico del medio de cultivo en la fase de iniciación

La utilización en la fase de iniciación de ápices de  $1 \text{ cm}^2$ , seccionados a la mitad y colocados en medio de cultivo semi-sólido, proporcionó un 85% de regeneración a los 20 días de iniciado el cultivo *in vitro*. Se observó en cada una de las secciones de ápices la presencia de brotes axilares, los cuales garantizaron mayor número de explantes a la fase de multiplicación, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a los restantes tratamientos (Tabla 1).

La técnica de decapitar el domo apical es necesaria para la inducción de nuevos brotes a partir de yemas axilares que normalmente están suprimidas por la dominancia apical (Ma y Shi (1972) y Swamy *et al.* (1983) (citados por Afza *et al.* 1996)). Pérez *et al.* (1998) señalan la importancia del incremento del coeficiente de multiplicación durante la propagación *in vitro* de plántanos debido a que, por cada unidad de aumento en este indicador, disminuyen los costos aproximadamente en un 10%.

En el estudio solamente se observó mortalidad en los ápices seccionados y cultivados en medio de cultivo líquido, lo cual pudo estar dado porque el corte efectuado a los ápices proporcionó secciones muy pequeñas para ser cultivadas en medios líquidos (Tabla 1). Según Orellana (1998) existen diferencias en el crecimiento de los tejidos en dependencia del estado físico del medio de cultivo; el manejo no es el mismo cuando se utilizan medios de cultivo sólidos y líquidos.

La incidencia de contaminantes en esta fase no mostró diferencias significativas en



Figura 1. Plantas jóvenes del clon FHIA-20 utilizadas para la introducción al laboratorio.

los tratamientos estudiados. Sin embargo, varios autores señalan la influencia del tamaño del explante inicial en la incidencia de contaminantes, y reportan que en la medida que el tejido es más pequeño y nos acercamos al meristemo apical, las poblaciones de microorganismos disminuyen (García y Noa 1998, Leifert *et al.* 1994).

**Efecto de las dosis de 6-BAP y el tipo de manejo sobre el crecimiento de los brotes en la fase de multiplicación**  
Con la reducción de la citoquinina en los medios de cultivo de multiplicación comenzó la diferenciación de los brotes en plantas, desapareciendo paulatinamente el crecimiento en rosetas en la medida que se efectuaron los tres subcultivos en la dosis de 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. El manejo o cortes en esta fase unido a la reducción de la citoquinina favoreció la respuesta biológica de las plantas y trajo como resultado mayor número de brotes por explante inicial cuando se utilizó el manejo 2 (Tabla 2). Estos brotes cuando se transfirieron a medios de cultivo de enraizamiento no presentaron dificultad en su crecimiento y alcanzaron la altura, el grosor y el número de hojas necesarios para su transferencia a la fase de aclimatación.

Por el contrario, en los tratamientos con 4 mg.L<sup>-1</sup> de esta hormona se continuó observando el crecimiento en rosetas independientemente del manejo realizado a los brotes, aunque el mayor porcentaje se presentó cuando se utilizó el manejo tradicional donde los brotes son individualizados, decapitados a una altura de 0.5 cm y seccionados a la mitad. Al parecer este manejo agudiza la presencia de este tipo de crecimiento en el clon FHIA-20, ya que existió una tendencia a disminuir la presencia de rosetas cuando se utilizó la variante de manejo 2 en los brotes (Tabla 2).

Proporcionar un balance apropiado entre auxinas y citoquininas en el medio de cultivo es necesario para el desarrollo de los cultivos *in vitro*, así como tener en cuenta las concentraciones endógenas de estas hormonas presentes en los diferentes tipos de explantes y especies (Jiménez 1998). Algunas especies son cultivadas sin adición de ningún regulador externo, probable-

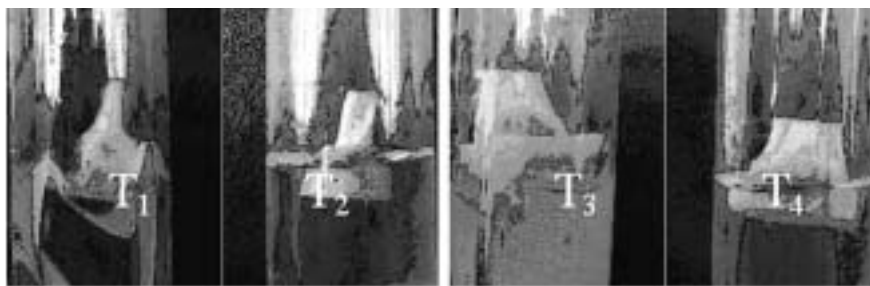


Figura 2. Tratamientos estudiados en la fase de iniciación *in vitro*.

Tabla 1. Comportamiento de los ápices en la fase de iniciación a los 20 días de cultivo *in vitro*.

Tratamientos	Regeneración de los ápices (%)	Número de brotes/ápice	Contaminación (%)	Mortalidad (%)
1 (Testigo)	40.0 b	0.25 c	15 a	0.0 b
2	40.0 b	1.10 b	20 a	0.0 b
3	35.0 b	0.00 c	15 a	40.0 a
4	85.0 a	2.42 a	15 a	0.0 b

\*Letras iguales en una columna no difieren estadísticamente para  $p < 0.05\%$ .

#### Tratamientos

1. Ápices de 0.5 cm<sup>2</sup> cultivados en medio líquido (testigo).
2. Ápices de 0.5 cm<sup>2</sup> cultivados en medio semi-sólido.
3. Ápices de 1.0 cm<sup>2</sup> seccionado a la mitad y cultivados en medio líquido.
4. Ápices de 1.0 cm<sup>2</sup> seccionado a la mitad y cultivados en medio semi-sólido.

Tabla 2. Comportamiento del crecimiento de los brotes en la fase de multiplicación.

Tratamientos	Número de brotes por explante	Brotes con crecimiento en rosetas (%)
1 (Testigo)	1.24 b	44.0 a
2	2.10 b	24.0 b
3	2.20 b	6.00 c
4	4.70 a	2.00 c

\*Letras iguales en una columna no difieren estadísticamente para  $p < 0.05\%$ .

#### Tratamientos

1. Medios de cultivo de multiplicación con 4.0 mg.L<sup>-1</sup> y el manejo I de los brotes (testigo).
2. Medios de cultivo de multiplicación con 4.0 mg.L<sup>-1</sup> y el manejo II de los brotes.
3. Medios de cultivo de multiplicación con 2.0 mg.L<sup>-1</sup> y el manejo I de los brotes.
4. Medios de cultivo de multiplicación con 2.0 mg.L<sup>-1</sup> y el manejo II de los brotes.

mente debido a que existe suficiente cantidad endógena de hormonas.

#### Conclusiones

Los resultados obtenidos en el trabajo posibilitan la propagación *in vitro* del cultivar híbrido FHIA-20 con un incremento notable en la eficiencia del proceso de propagación vía organogénesis dado por el incremento en el número de brotes.

Es necesario en la fase de iniciación establecer ápices de 1 cm<sup>2</sup> seccionados a la mitad y cultivados en medios semi-sólido, de esta forma el 85% regeneran plantas a los 20 días de iniciado el cultivo. La fase de multiplicación requiere de una reducción de la dosis de citoquinina a 2 mg.L<sup>-1</sup> en sus medios de cultivo y un manejo de los brotes que consiste en la individualización de brotes definidos y no de los menores de 1 cm, los cuales se mantienen en grupos de dos ó unidos a la planta madre. Los brotes con altura de 1.5 a 3.0 cm y

con más de tres hojas pueden ser decapitados a una altura de 1.0 cm y seccionados en dos mitades cuando el pseudotallo esté integrado por más de tres hojas. De esta forma se reduce el crecimiento en rosetas en un 2% y se presentan como promedio 4.7 brotes por explantes en la fase de multiplicación. ■

#### Bibliografía

- Afza R., M. Van Duren, R. Morpurgo & F.J. Novak. 1996. Banana tissue culture and its prospective use in the developing countries. Pp. 58-70 *in* Plant Tissue Culture (A.S. Islam, ed.). Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. Calcutta.
- García L. & J.C. Noa. 1998. Obtención de plantas libres de patógenos. Pp. 135-148 *in* Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología (J.N. Pérez Ponce, ed.). Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas, Santa Clara, Cuba.
- Jiménez E. 1998. Generalidades del cultivo *in vitro*. Pp. 13-22 *in* Propagación y mejora genética de

plantas por biotecnología (J.N. Pérez Ponce, ed.). Capítulo 8. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas, Santa Clara, Cuba.

Orellana P. 1994. Tecnología para la propagación *in vitro* de clones de *Musa* spp. Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central de las Villas. 104pp.

Orellana P. 1998. Propagación vía organogénesis. Pp. 151-176 *in* Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología (J.N. Pérez Ponce, ed.).

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas, Santa Clara, Cuba.

Pérez Ponce J.N., E. Jiménez & D. Agramonte. 1998. Aumento de la eficiencia en la micropropagación. Pp. 179-190 *in* Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología (J.N. Pérez Ponce, ed.). Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas, Santa Clara, Cuba.

Leifert C., C. Morris & W.M. Waites. 1994. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue

culture and field-grown plants: reasons for contamination problems *in vitro*. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(2): 139-183.

Vasil I. 1994. Automation in plant propagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 39(2): 105-109.

Los autores trabajan en el Instituto de Biotecnología de la Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuani Km. 5<sup>1/2</sup>. CP 54830. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.  
E-mail: legarcia@uclv.edu.cu

## Tasa de multiplicación y potencial de regeneración de embriones somáticos de una suspensión celular de banano (*Musa* AAA cv. "Gran enano")

S.L. Lerma, P. Acuña, A.S. Riveros  
y J.A. Sandoval

El cultivo de banano y plátano se encuentra ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, el estimado de la producción es del orden de 88 millones de toneladas al año con una área calculada de siembra de 10 millones de hectáreas. Este cultivo forma parte de la dieta alimenticia de más de 400 millones de personas y se ubica en el cuarto renglón en la categoría de productos alimenticios de gran demanda después del arroz, el trigo y la leche (FAO 2001).

Dado el interés que suscita el cultivo de banano, grandes esfuerzos en investigación se han orientado a mejorar y controlar su propagación masiva mediante técnicas biotecnológicas como la embriogénesis somática, donde se han descrito tres procedimientos utilizando tejidos vegetativos como fragmentos de cormo y bases foliares (Novak *et al.* 1989, Ganapathi *et al.* 1999), cultivos de meristemas en proliferación (Dhed'a *et al.* 1991, Dhed'a 1992, Schoofs 1997, Schoofs *et al.* 1998) y flores masculinas y femeninas inmaduras (Escalant *et al.* 1994, Grapin *et al.* 1996).

El establecimiento de suspensiones celulares de embriogénesis somática y el hallazgo de factores y momentos de sincronía metabólica de las células en suspensión representan aspectos claves para la aplicación de métodos como la micropropagación masiva de materiales de importancia económica siguiendo técnicas de inmersión temporal (Escalant *et al.* 1994, Gómez-Kosky *et al.*

2000), como también la utilización en programas de mejoramiento genético por inducción de mutaciones, estudios de selección *in vitro* mediante toxinas de hongos o extractos de origen vegetal y transformación genética vía bombardeo de partículas. No obstante las investigaciones desarrolladas en varios laboratorios del mundo, se ha observado que aún se dificulta el mantenimiento eficiente de las suspensiones celulares. El tiempo prolongado para el establecimiento de suspensiones celulares en banano, libres de contaminantes bacteriales, de alteraciones por oxidaciones y eventuales ataques micóticos, ha traído algunas dificultades para su mantenimiento (Schoofs *et al.* 1999). Los objetivos del presente trabajo son determinar las condiciones experimentales óptimas para el establecimiento, la multiplicación de una suspensión celular y la regeneración de embriones somáticos mediante la utilización de fuentes de carbono y reguladores de crecimiento.

### Materiales y métodos

Mantenimiento de suspensiones celulares y homogenización de cultivos  
El material vegetal que se uso para dar origen a la suspensiones celulares fueron flores masculinas inmaduras de *Musa* AAA cv. "Gran enano" que se colocaron sobre medios de inducción M1 [sales de Murashige & Skoog (1962) - MS, 1 mg/L de biotina, ANA y AIA, 4 mg/L de 2.4-D, 6 g/L de agarosa, 30 g/L de sacarosa con pH de 5.71] propuesto por Grapin *et al.* (1998), para la formación de callo. El tejido embriogénico friable obtenido fue llevado a cultivo en el medio de suspensión celular M2 [sales MS, 100 mg/L glutamina y extracto de malta,

1 mg/L de 2.4-D, 45 g/L de sacarosa con pH de 5.3], hasta lograr su establecimiento. Esta técnica de embriogénesis somática fue desarrollada inicialmente por Escalant *et al.* (1994) y actualmente esta siendo implementada en el Laboratorio de Biotecnología de CORBANA para este mismo clon (Acuña y Sandoval 2000).

A partir de esta suspensión inicial se obtuvieron nuevas réplicas en la fase de mantenimiento en el medio M2 utilizando 35 ml de medio M2 fresco y 13 ml de medio M2 viejo (medio M2 en el cual fue mantenida la suspensión en el ciclo anterior), inoculado con 2 ml de células para un volumen total de 50 ml por erlenmeyer. Estas suspensiones fueron sometidas a cuatro tratamientos: T0: 45 g de sacarosa; T1: 45 g de sacarosa + 100 mg/L mio-inositol; T2: 30 g de sacarosa + 100 mg/L de mio-inositol; T3: 15 g de sacarosa + 100 mg/L mio-inositol, con 10 réplicas cada tratamiento (Figura 1).

Se realizaron 4 subcultivos de 14 días de incubación cada uno, según lo propuesto por Escalant *et al.* (1994). El número de células y el porcentaje de viabilidad de las suspensiones se evaluó a los 0, 7 y 14 días con la ayuda de un hemacitómetro. Se tomaron 3 réplicas por cada tratamiento, realizando 5 conteos por cada uno de ellos para un total de 15 lecturas por tratamiento. Además, cada 15 días se midió el aumento del volumen celular por el método de sedimentación (SVC) propuesto por Schoofs (1997) y compactación del volumen celular (PCV) utilizado por Reinert y Yeoman (1982). Además se emplearon 4 replicas adicionales (2 en medio inoculado y 2 en medio no inoculado) para el monitoreo del pH, las mediciones se realizaron al inicio y al final de cada subcultivo.



Con el fin de evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento en la calidad de la suspensión celular en el medio M2, se seleccionó el tratamiento que presentó una mayor tasa de multiplicación y porcentaje de viabilidad de las células, durante los primeros 4 subcultivos en la fase de mantenimiento. Para este estudio al medio M2 seleccionado se le adiciona: A1 = 0.5 mg/L de 2.4-D, A2 = 1 mg/L de 2.4-D y A3 = 2 mg/L de 2.4-D. El material fue manipulado de forma similar a los tratamientos con diferentes concentraciones de sacarosa. Para efectos de evaluación se manejaron los mismos parámetros que en la fase de mantenimiento de las suspensiones celulares mencionadas anteriormente. También, se valoró la morfología de las células, agregados o masivos y, se obtuvieron fotografías con microscopio óptico y electrónico.

### Regeneración de embriones somáticos

Se evaluó la viabilidad del proceso a través de la obtención de embriones, en medios de cultivo de Schenk y Hildebrandt (1972) designados como M3 modificado con 10 mg/L de biotina, 100 mg/L de glutamina y extracto de malta, 230mg/L de prolina, 1 mg/L ANA, Zeatina y 2-IP, 10 g/L lactosa, 45 g/L de sacarosa con pH 5.3. El medio M3 fue distribuido en platos Petri y en su superficie se colocó papel filtro estéril. Sobre este medio se inoculó alicuotas de 1 ml de células de los tratamientos de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento. Se determinó el tipo de material regenerado realizándose tres evaluaciones por cada plato Petri evaluando las regiones donde la distribución de la suspensión fue mas homogénea. Todos los cultivos se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura a 27°, 80% de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 horas.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos en las variables de pH, volumen de células, número de células y porcentaje de viabilidad, en el mantenimiento de las suspensiones celulares y homogenización de cultivos fueron analizados bajo un esquema de un modelo lineal y procesados en el programa SAS (1990), mediante análisis de varianzas. Los resultados que presentaron heterogeneidad de varianzas se homogenizaron con la transformación de raíz cuadrada.

### Resultados y discusión

Efecto de diferentes concentraciones de sacarosa y sacarosa + mio-inositol sobre el mantenimiento de suspensiones celulares y homogenización de cultivos  
Los resultados sobre el aumento del número de células presentados en la Figura 2 indican

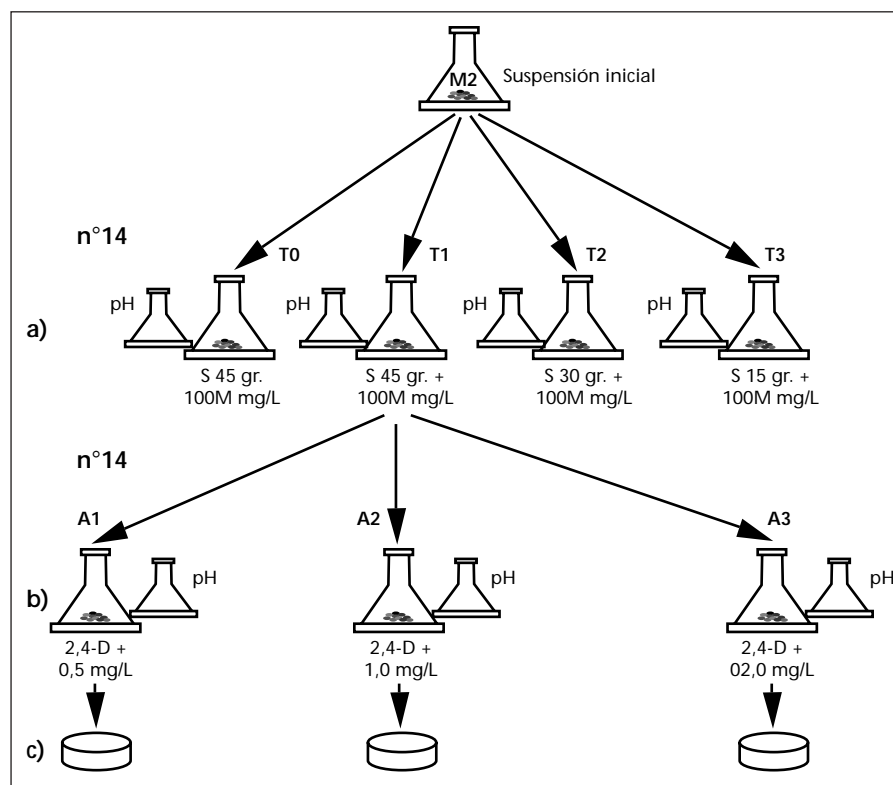


Figura 1. Esquema general del proceso utilizado para el estudio de una suspensión celular de banano (cultivar "Gran enano"). a) Experimento No. 1. M2: medio de suspensión celular; S: sacarosa; M: mioinositol; T: tratamiento; n°: replicas. b) Experimento No. 2. Diferentes concentraciones de 2.4-D. c) Evaluación de formación de embriones.

que la dosis de 30g de sacarosa ofrece suficiente suministro de carbono a la suspensión puesto que no difiere notablemente del comportamiento de la suspensión mantenida con 45g de sacarosa. En general la adición de mio-inositol (T1-T2) no afectó el comportamiento de las células, mostrando tendencias a la estabilización (relación de T1 y T2 con T0) en el subcultivo 4.

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de viabilidad entre los tratamientos con y sin mio-inositol, T1 y T0 respectivamente. Tampoco hubo diferencias entre las evaluaciones realizadas a los 7 y 14 días ni de interacción entre subcultivos y evaluaciones ( $P = 0.1574$ ).

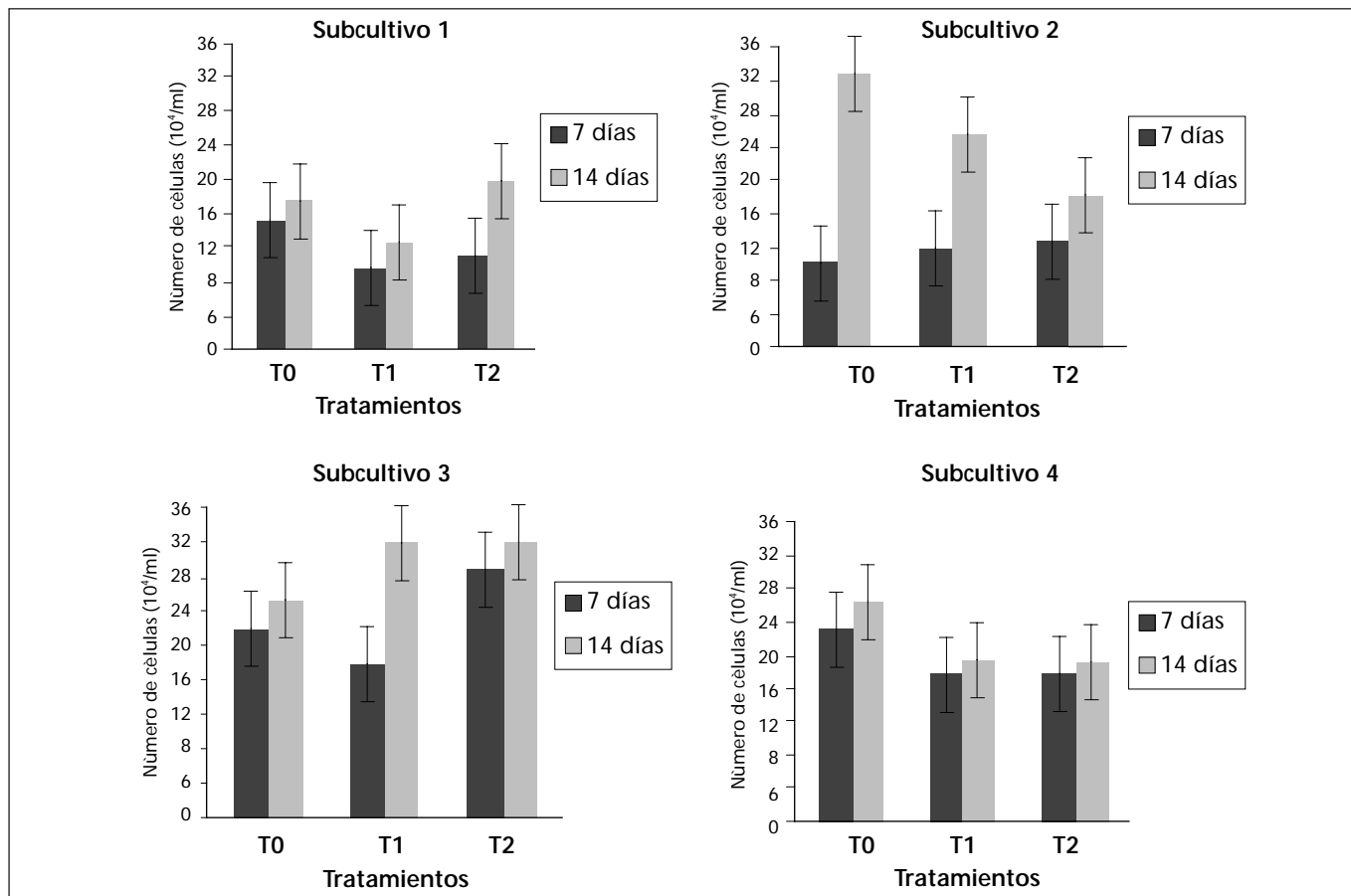
Con respecto al comportamiento de esta variable con los tratamientos con mio-inositol y diferente concentración de sacarosa (T1 y T2), se encontró que las diferencias de estos tratamientos en los cuatro subcultivos dependieron del tratamiento ( $P = 0.0040$ ). Estas diferencias en el comportamiento de distintas líneas celulares del mismo clon pueden ser una característica intrínseca del material (Schoofs *et al.* 1999), situación que motiva a desarrollar esfuerzos para mejorar estos procedimientos.

El tratamiento T3 (15 g sacarosa + mio-inositol) se eliminó por presentar una disminución progresiva de 5.18, 4.82 y 2.06 ml en los subcultivos 1, 2 y 3 respectivamente. El poco éxito en la proliferación celular puede atribuirse a la baja disponibilidad de azúcar

del medio frente a la demanda de las células en la fase G1 del ciclo celular o a los efectos de estrés osmótico provocados por el medio; pues se conoce bien que la sacarosa como fuente de carbono es un estabilizador en medios de cultivo (Takeuchi y Komamine 1982, Vardi *et al.* 1982, Smith *et al.* 1984).

La diferencia en el volumen celular entre los tratamientos T0, T1 y T2 ( $P = 0.02602$ ) fueron muy leves en los subcultivos 1 y 2 (Figura 3a y b) pero se acentuaron en los subcultivos 3 y 4 (Figura 3c y d), en los cuales la diferencia entre los tratamientos T0 y T1 puede atribuirse al efecto del mio-inositol. Los subcultivos 2, 3 y 4 del T1 (con mio-inositol) produjeron un volumen de células promedio superior de 0.67 ml ( $P = 0.0188$ ), al alcanzado en los subcultivos homólogos en T0. Estos resultados concuerdan los reportados por otros investigadores en banano y otros cultivos, los datos reportados por Cronauer y Krikorian (1983) y Aftab *et al.* (1999) donde se ratifica la actividad estimuladora del mio-inositol en la mitosis y morfogénesis de las células vegetales.

La diferencia promedio de los cuatro subcultivos fue de 0.23 ml a favor del tratamiento T1. Así el tratamiento de mejor respuesta fue el manejado con 45 g de sacarosa y 100 mg/L de mio-inositol. También, se puede decir que el volumen en el subcultivo 1 fue de 5.95 ml y en el subcultivo 4 fue de 7.59 ml con un aumento promedio de 0.65 ml por cada subcultivo. Los subcultivos (Figura 3e)



**Figura 2.** Número de células obtenidas con tres tratamientos de medios de multiplicación de suspensiones celulares de banano (*Musa AAA cv. "Gran enano"*). Medias de tratamientos de 4 subcultivos  $n = 3$ . T0: 45 g de sacarosa, T1: 45 g de sacarosa + mio-inositol, T2: 30 g de sacarosa + mio-inositol. Barras de error son errores estándar.

mostraron una correlación positiva entre el número de subcultivos y el volumen de células donde a medida que aumenta la cantidad de subcultivos, el volumen de células se incrementa sensiblemente, alcanzando estabilidad en el cuarto subcultivo.

Una vez combinados los 35 ml de medio fresco con 13 ml de medio viejo, el pH se estabilizó en 4.74. Durante los 14 días de cultivo, los medios no inoculados mantuvieron su pH en rangos de 4.1 a 4.2 y los medios inoculados mantuvieron un rango de 4.4 a 4.6 (datos no mostrados). En las suspensiones celulares, el pH dependió del tiempo, el tratamiento y la interacción tiempo por tratamiento ( $P = 0.0001$ ); comportamientos similares fueron obtenidos por Skirvin *et al.* (1986). Estos mismos autores proponen que la acidificación de los medios puede deberse al intercambio de iones entre las células vegetales y el medio de cultivo, creando un pH óptimo para el normal funcionamiento de la pared celular.

#### Respuesta de la suspensión a diferentes concentraciones de 2.4-D

Los datos obtenidos en el análisis de las variables, número de células y porcentaje de viabilidad en medios con diferentes concentraciones de 2.4-D, no mostraron diferencias marcadas en su comportamiento. Los trata-

mientos A1, A2 y A3, en cuanto al número de células, presentaron promedios durante los cuatro subcultivos de 7.9, 6.0 y 7.0, con porcentajes de viabilidad de 59, 62 y 59%, respectivamente.

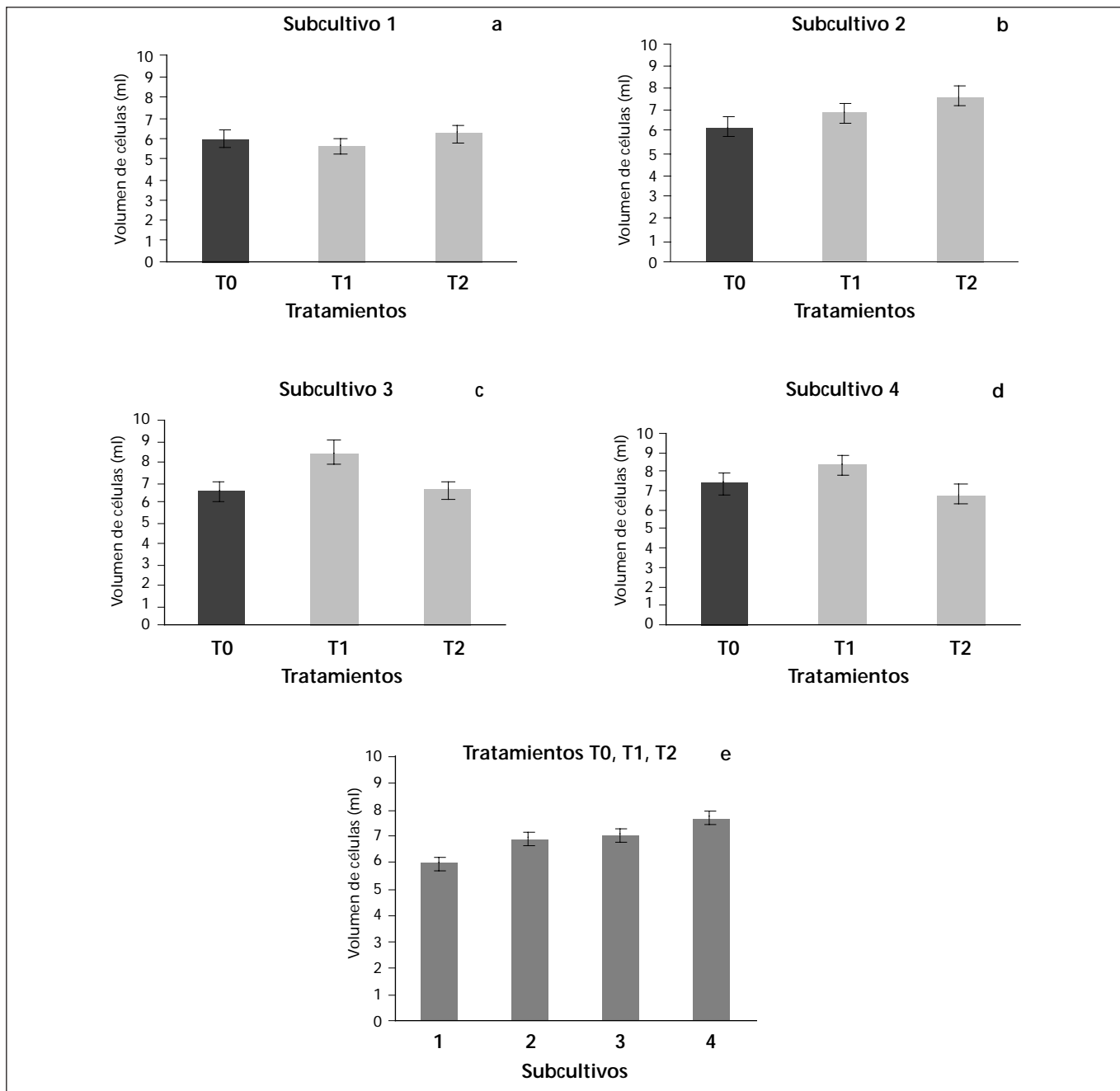
Cuando se analizó el volumen celular con concentraciones variables de 2.4-D (Figura 4) se encontró que el tratamiento más óptimo para el mantenimiento de la suspensión celular fue el A1 (1 mg/L de 2.4-D), con una media de 7.6 ml y con volúmenes máximos de 8.8 ml de células en el subcultivo 3. La dosis de 2 mg/L se mostró óptima para estandarizar el volumen celular de varios subcultivos, parámetro útil para realizar estudios del ciclo y metabolismo celular y otros relacionados con poblaciones celulares sincronizadas.

Los resultados del volumen celular al finalizar el subcultivo 4 medido por el método PCV muestran que todos los tratamientos durante los 14 días de incubación incrementaron progresivamente el volumen sin fluctuaciones drásticas y que el volumen celular se duplicó al sexto día, cuando las células experimentan una división celular activa que se traduce en un incremento en el volumen de las células (Figura 5). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Bieberach (1995) para diferentes tipos de clones de musáceas.

Con respecto a la utilización y la dosis de 2.4-D, los resultados aquí expresados, amplían la información sobre el efecto de este regulador de crecimiento en el proceso embriogénico y las concentraciones requeridas en diferentes especies vegetales. Lazzeri *et al.* (1987) reportan la importancia de las auxinas en la regulación de la embriogénesis somática de soja con buena producción de embriones somáticos, mostrándose más activo el 2.4-D actuando solo que en combinación del ácido  $\alpha$ -naftaleno.

La morfología de las células en suspensión fue observada con 20 y 40X en microscopio de luz. Los preparados mostraron agregados celulares y células individuales (Figuras 6a y 6b), esto coincide con lo planteado por Grapin (1996) quien reporta que en suspensiones de "French sobre" se observan agregados que alcanzan del 70 al 80% del volumen de la suspensión, datos que son muy similares a los encontrados en este trabajo. Los agregados presentaron células preembriogénicas (Figura 6c) con tabiques o placas celulares propias de la última etapa mitótica, células vacías o en proceso de diferenciación.

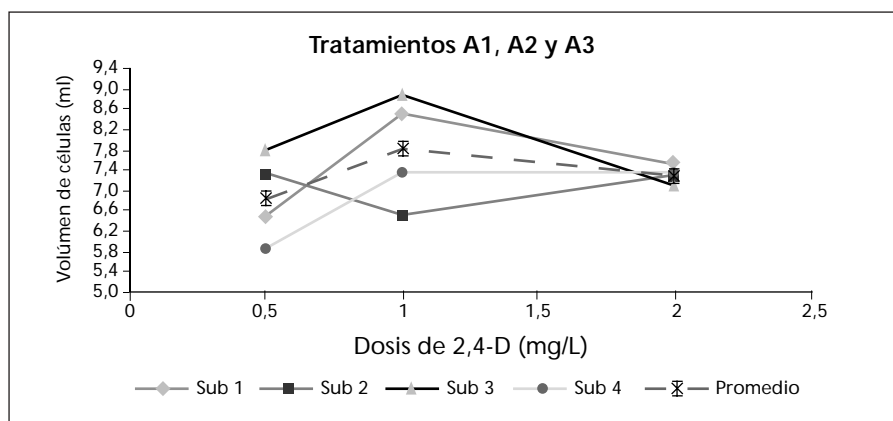
Las células individuales presentaron forma redondeada, citoplasma denso y núcleo bien definido que pueden considerarse protoplastos o células iniciales con



**Figura 3.** Volúmenes de células en los medios de multiplicación de suspensiones celulares de banana (*Musa AAA* cv. "Gran enano"). a: medias de tratamientos en subcultivo 1 ( $n = 10$ ); b: medias de tratamiento en subcultivo 2 ( $n = 9$ ); c: medias tratamientos en subcultivo 3 ( $n = 9$ ); d: medias de tratamientos en subcultivo 4 ( $n = 6$ ); e: medias de subcultivos de los tratamientos 0, 1, 2 ( $n = 23$ ). T0: 45 g de sacarosa, T1: 45 g de sacarosa + mio-inositol, T2: 30 g de sacarosa + mio-inositol, T3: 15 g de sacarosa + mio-inositol. Barras de error son errores estándar.

paredes primarias características de células no diferenciadas y con ciclo celular activo. Este resultado se comparte con los hallazgos de Bieberach (1995) quien reporta, para suspensiones celulares de los cultivares "Dominico", "Gran enano" y "Gros Michel", la presencia de células con idénticas características morfológicas y de otro lado, Sannasgala (1989) quien también registra proembriones constituidos por cuerpos proteicos y almidón.

Estas características antes mencionadas son consideradas como un factor indicativo de la condición embriogénica de la suspensión celular (Williams y Maheswaran 1986). Algunas células individuales tomaron forma alargada con espacios vacíos en su cito-



**Figura 4.** Volúmenes de células en los medios de multiplicación de suspensiones celulares de banana (*Musa AAA* cv. "Gran enano"). Medias de los tratamientos (A1, A2 y A3) con 2,4-D en los subcultivos 1, 2, 3, 4. Barras de error son errores estándar.



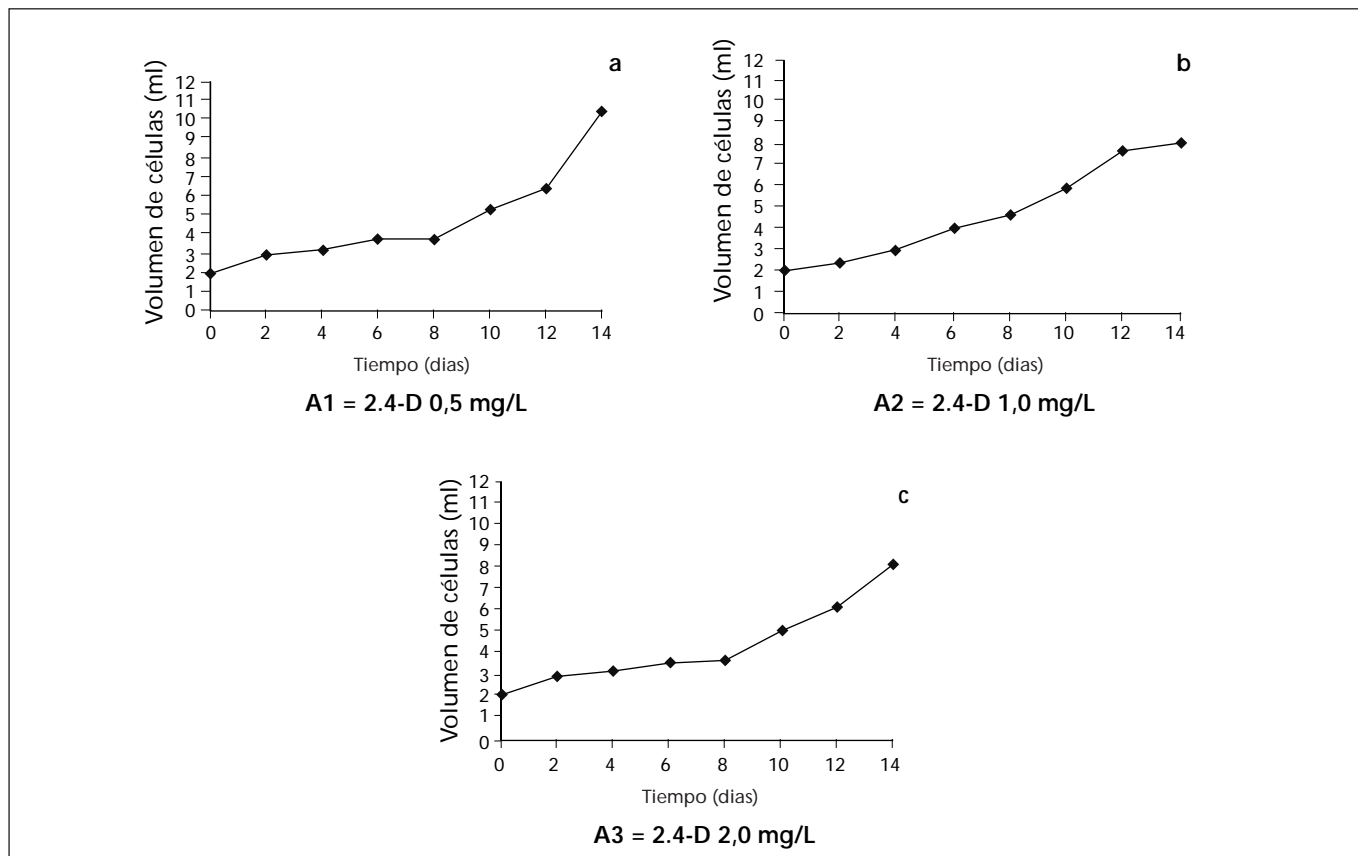


Figura 5. Incremento del volumen de células ("Packed Cell Volume" PCV) de una suspensión de banano (*Musa* AAA cv. "Gran enano") a diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento. a, b, c: medias de tratamientos ( $n = 10$ ) en el subcultivo 4.

plasma, son células no viables en las suspensiones debido a que han formado su pared secundaria.

Con micrografías electrónicas de barrido se observaron células redondeadas de 50 a 80  $\mu\text{m}$  de diámetro con paredes rugosas, de ornamentación irregular rodeadas de mucosa de polisacáridos (Figuras 7a y 7b).

Regeneración de embriones somáticos Mezclas de muestras celulares sometidas a los tratamientos con reguladores de crecimiento fueron inoculadas en medio semisólido M3 para el crecimiento de embriones y mantenidas durante 55 días. A los 22 días de sembradas comenzó a observarse el crecimiento de embriones sin síntomas de oxida-

dación. Se detectó la presencia de pequeños agregados de 1  $\text{cm}^2$  con embriones globulares en forma de corazón y en forma de torpedo. Los embriones se seleccionaron para posterior regeneración de plantas (Figura 8a). Un total de 200 embriones tipo torpedo se inocularon en 8 cajas Petri con 25 embriones cada uno. Después de 20 días, se obtuvo un porcentaje de germinación del 63% y a los 41 días las plantas mostraron características morfológicas normales. Los porcentajes de germinación de embriones somáticos en el género *Musa* reportados oscilan entre 0.45% y 80% en varios genotipos y en diferentes medios de cultivo (Bieberach 1995, Escalant *et al.* 1995, Côte *et al.* 1996, Schoofs 1997, Grapin *et al.* 1998). La Figura 8b, evidencia los resultados con respecto al potencial de regeneración de embriones somáticos a partir de suspensiones celulares, pero ha sido Escalant *et al.* (1994) quienes han reportado los más altos porcentajes de germinación utilizando los sistemas de inmersión temporal y en otros cultivares de banano.

### Conclusiones

Con el presente trabajo se logró la estandarización de un protocolo para la obtención de embriones de *Musa* AAA cv. "Gran enano" a partir de suspensiones celulares, utilizando reguladores de crecimiento. La suspensión celular inicial se mantuvo viable con 45 g de sacarosa + 100 mg/L de mio-inositol; el pH

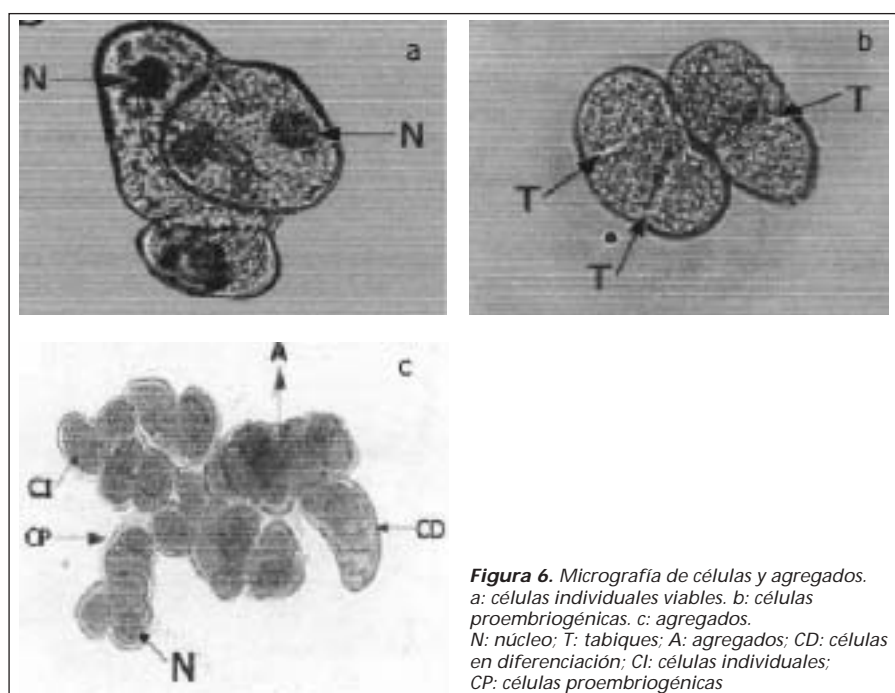
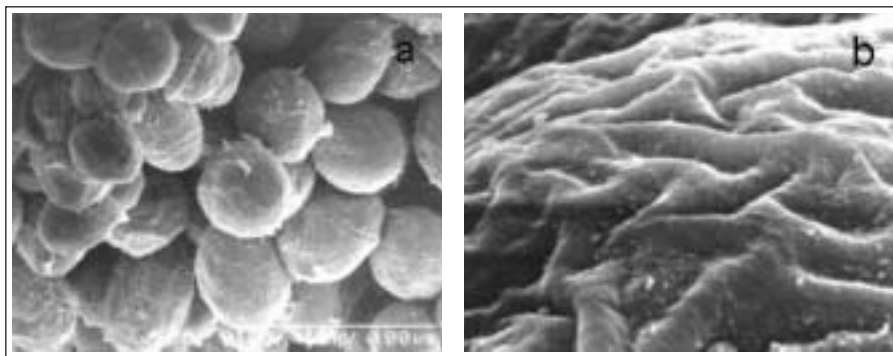
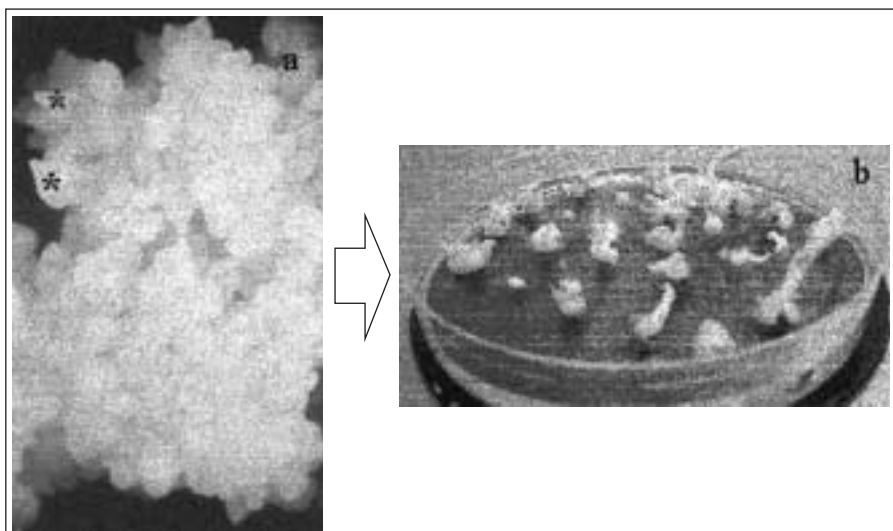


Figura 6. Micrografía de células y agregados. a: células individuales viables. b: células proembriónicas. c: agregados. N: núcleo; T: tabiques; A: agregados; CD: células en diferenciación; Cl: células individuales; CP: células proembriónicas



**Figura 7.** Micrografía con microscopio electrónico de barrido. a: células viables. b: superficie externa de una célula.



**Figura 8.** Formación de embriones de banana *Musa* AAA, cv. "Gran enano" en medio M3. a) Agregado embriogénico de 55 días. Los (\*) señalan embriones tipo torpedo. b) Germinación de embriones creciendo en medio M3.

inicial fue de 4.74; cuatro subcultivos, de 14 días cada uno, mostraron capacidad para mantener un volumen celular y número de células con buen porcentaje de viabilidad. La dosis óptima de reguladores de crecimiento para la eficiencia del proceso fue de 1 mg/L de 2.4-D como hormona exógena. Las observaciones morfológicas revelaron que el procedimiento permitió el desarrollo de células viables que progresan fácilmente hacia la formación de embriones. La germinación de embriones convalidó la totalidad de la metodología y de las dosis empleadas.

### Reconocimiento

Los autores quieren agradecer a la Unidad de Biotecnología de la Corporación Bananera Nacional (CORBANA) de Costa Rica por permitir la realización de la parte experimental y a la Universidad de Costa Rica donde se realizaron las fotografías de microscopía que se presentan en este artículo.

*Nota: Parte de la Tesis de Biología de Sandra Liliana Lerma presentada ante la Facultad de Ciencias, Universidad del Tolima, Abril 2001. Ibagué, Tolima, Colombia.*

### Bibliografía

- Acuña P. & J. Sandoval. 2000. Embriogénesis somática en banano (cv. "Gran enano") a partir de flores masculinas. Pp. 20- 22 *in* Informe Anual. Dirección de Investigaciones CORBANA, San José, Costa Rica.
- Aftab F. & J. Iqbal. 1999. Plant regeneration from protoplasts derived from cell suspension of adventive somatic embryos in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid cv. CoL-54 and cv. CP-43/33). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 56(3): 155-162.
- Bieberach C. 1995. Embriogénesis somática y regeneración de plantas en cultivares de *Musa* spp. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 84pp.
- Cronauer-Mitra S. & A.D. Krikorian. 1983. Somatic embryos from cultured tissues of triploid plantains (*Musa* ABB) *Plant Cell Reports* (2): 289-291.
- Côte F., R. Domergue, S. Monmarson, J. Schwendiman, C. Teisson & J.V. Escalant. 1996. Embryogenic cell suspensions from the male flowerers of *Musa* AAA cv. Grand Naine. *Physiologia Plantarum* 97: 285-290.
- Dhed'a D., F. Dumortier & B. Panis. 1991. Plant regeneration in cell suspension cultures of the cooking bananas cv. Bluggoe (*Musa* spp. ABB group). *Fruits* 46: 125-135.
- Dhed'a D. 1992. Culture de suspensions cellulaires embryogéniques et régénération en plantules par embryogénèse somatique chez le bananier plan-

tain (*Musa* spp.) PhD Thesis KULeuven, Belgica. 171pp.

- Escalant J.V., C. Teisson & F. Côte. 1994. Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (*Musa* spp.). *In Vitro Plant Cell. and Dev. Biol.* 30: 181-186.
- Escalant J.V., C. Bieberach, L.E. Pocasangre, L. del S. Espinoza, R.G. Kosky, J.L. Ortiz & C. Teisson. 1995. Regeneration through somatic embryogenesis from male flowers of banana and plantain: 1. Amplification by temporary immersion. (Resumen). *in* Simposio CIRAD/CATIE. Mejoramiento genético y desarrollo de los cultivos tropicales. Resúmenes. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 54pp.
- FAO. 1999?. Boletín Trimestral FAO de Estadísticas. 12(3-4)
- Ganapathi T.R., N. Higgs, J. Van Eck, P. Balint-Kurti & G.D.May. 1999. Transformation and regeneration of the banana cultivar "Rasthali" (AAB). P. 34 *in* Abstracts of the International symposium on the molecular and cellular biology of banana, 22-25/03/1999, Cornell University, Ithaca, NY, USA. Boyce Thompson Institute for Plant Research, Inc., Ithaca.
- Gómez-Kosky R., T. Gilliard., L.A. Barranco & M. Reyes. 2000. Embriogénesis somática en medios líquidos. Maduración y aumento de la germinación en el cultivar híbrido FHIA-18 (AAAB). *INFOMUSA* 9(1): 12-16.
- Grapin A., J. Schwendiman & C. Teisson. 1996. Somatic embryogenesis in plantain banana. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 32: 13-15.
- Grapin A., J-L. Ortiz, R. Domergue, J. Babeau, S. Monmarson, J.V. Escalant, C. Teisson & F. Côte. 1998. Obtención de callos embriogénicos, iniciación y regeneración de suspensiones celulares embriogénicas a partir de flores inmaduras masculinas y femeninas de *Musa*. *INFOMUSA* 7(1): 13-15.
- Lazzeri P., D Hildebrand & G. Collins. 1987. Soybean somatic embryogenesis. Effects of hormones and culture manipulations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 10: 197-208.
- Murashige T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Novak F.J., R. Afza, D.M. Van, D.M. Perea, B.V. Conger & X. Tang. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of dessert (AA and AAA) and cooking (ABB) bananas (*Musa* spp.) *Bio/Technology* 7: 154-159.
- Reinert J. & M.M. Yeoman. 1982. *Plant cell and tissue culture. A laboratory manual.* Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- Sannasgala K. 1989. *In vitro* somatic embryogenesis in *Musa*. PhD Thesis, KULeuven, Belgica. 189pp.
- SAS Institute. 1990. SAS/STAT User's Guide. Version 6.4. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Schenk R.U. & A.C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199-204.

Schoofs H. 1997. The origin of embryogenic cells in *Musa*. Disertaciones de Agricultura. KULeuven, Belgica. 258pp. + anexos.

Schoofs H., B. Panis & R. Swennen. 1998. Competence of scalps for somatic embryogenesis in *Musa*. Acta Horticulturae 490: 475-483. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International symposium on banana in the subtropics. ISHS.

Schoofs H., B. Panis, H. Strosse, A. Moyo, J. Lopez, N. Roux, J. Colezel & R. Swennen. 1999. Cuellos de botella en la generación y mantenimiento de las suspensiones celulares morfológicas de banano y la regeneración de las plantas vía embriogénesis somática a partir de ellas. INFOMUSA 8 (2): 3-7.

Skirvin R.M., M.C. Chu, M.L. Mann, H. Young, J.G. Sullivan & T.W. Fermanian. 1986. Stability of

tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time, and cultured plant material. Plant Cell Reports 5: 292-294.

Smith M.A.L., J.P. Palta & B.H. Mc Cown. 1984. The measurement of isotonicity and maintenance of osmotic balance in plant protoplast manipulations. Plant Sci. Let. 33: 249-258.

Takeuchi Y. & A. Komamine. 1982. Effects of culture conditions on cell division and composition of regenerated cell walls in *Vinca rosea* protoplasts. Plant Cell Physiol. 23: 249-255.

Vardi A., P. Spiegel-Roy & E. Galum. 1982. Plant regeneration from *Citrus* protoplasts: variability in methodological requirements among cultivars and species. Theor. Appl. Genet. 62:171-176.

Williams E. G. & G. Maheswaran. 1986. Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated

behaviour of cells as an embryonic group. Annals of Botany 57: 443-462.

Sandra Liliana Lerma trabaja en el Laboratorio de Protección de Plantas, Departamento de Biología, Universidad del Tolima, Ibagué (Tolima), Colombia, e-mail: sali286@hotmail.com; Pablo Acuña es Asesor en Biotecnología Vegetal, Guápiles, Costa Rica, e-mail: pacuna09@Latinmail.com; Alba Stella Riveros es Investigadora Asociada en el marco del Convenio Universidad del Tolima-CATIE, Unidad de Fitoprotección, CATIE, Turrialba, Costa Rica, e-mail: asrivero@catie.ac.cr y Jorge Arturo Sandoval es Subdirector de Investigaciones en CORBANA, Guápiles, Costa Rica, e-mail: jsandoval@corbana.co.cr.

Variedades mejoradas

Asociaciones para distribución en Nicaragua

## Introducción y multiplicación de bananos y plátanos mejorados en Nicaragua y su distribución a los agricultores

K. Dens, M. Vargas, G. Matton,  
S. Coessens, I. Van den Houwe  
y R. Swennen

### Bananos y plátanos en Nicaragua

A diferencia de la mayoría de los otros países centroamericanos, la producción de bananos y plátanos en Nicaragua es baja (Tabla 1). Las principales zonas productoras de bananos y plátanos se encuentran en el área costera del Océano Pacífico. El banano de postre Cavendish (*Musa* cv. AAA) se cultiva para la exportación en la región de Chinandega (noroeste) en un área estimada de 2000 ha, mientras que el plátano para el consumo local se cultiva en la región de Rivas (al sur de Managua) en unas 13 000 ha. Para muchos pequeños y medianos productores en Rivas, el plátano es el cultivo más importante. Los bananos Gros Michel (*Musa* cv. AAA), Bluggoe (*Musa* cv. ABB) y Silk (*Musa* cv. AAB) se cultivan en todo el país, principalmente por pequeños agricultores en sus patios traseros. En las regiones más altas de Nicaragua Central, con altitudes de hasta 1300 metros sobre el nivel del mar, los bananos se cultivan en combinación con café o cacao. Los bananos y plátanos son también importantes para las personas en la costa Atlántica. Los bananos Pelipita (*Musa* cv. ABB) y Red (*Musa* cv. AAA) también se encuentran en algunas regiones de Nicaragua.

El plátano (*Musa* cv. AAB) goza de mayor preferencia ya que es un cultivo comercial atractivo. Las variedades locales más comunes son los plátanos Falso cuerno con un promedio de solo 25 dedos. El precio del plátano en el mercado local es mucho más alto que el precio de otros bananos (Gros Michel, Bluggoe, Silk), debido a que tiene dedos de mayor tamaño y una vida verde más larga. El Cavendish entra en el mercado local como banano de rechazo de las plantaciones de exportación. Su precio es aún más bajo que el del Gros Michel. Durante los últimos cinco años los precios del plátano siguieron en aumento, lo que refleja alta demanda y suministro insuficiente de bananos y plátanos causado por prácticas de cultivo pobres, sequía y plagas y enfermedades.

Las plagas y enfermedades representan los problemas principales; la Sigatoka negra (Mourichon *et al.* 1997) y el material vegetal contaminado por picudos negros (Gold y Messiaen 2000) son las principales

limitaciones que afectan a los pequeños productores de plátanos. Otro problema importante, especialmente en la región de León-Chinandega, es la distribución desigual de la precipitación anual. Sin riego, los rendimientos de los bananos y plátanos se reducen debido a una estación seca muy larga.

### Creando efectos multiplicadores

El objetivo de la intervención es contribuir a la seguridad alimentaria y calidad de los alimentos de los agricultores con escasos recursos económicos apoyando el cultivo de los bananos y plátanos. La inseguridad alimentaria es muy alta en Nicaragua y la cantidad de personas desnutridas aumentó de 1.2 millones en 1991 a 1.4 millones en 1998 (FAO 2001). El proyecto se enfoca en la región de León-Chinandega (Figura 1), donde viven los agricultores más pobres y donde los bananos y plátanos podrían formar parte de los sistemas agrícolas más

Tabla 1. Datos de producción, exportación y consumo sobre el banano y plátano en cinco países centroamericanos.

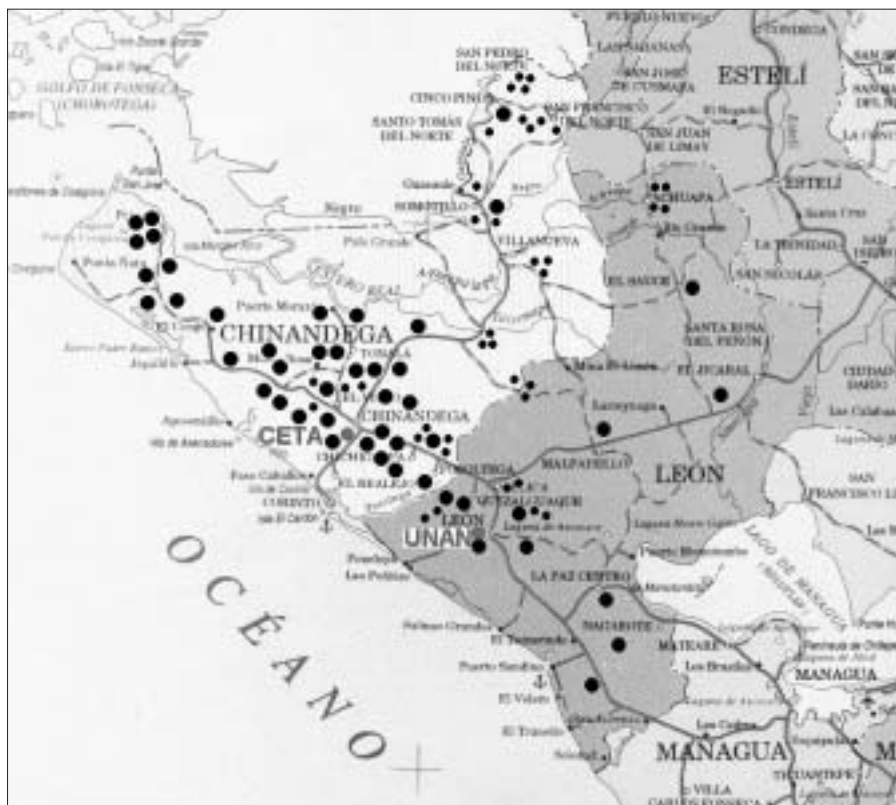
	Población en 1999 (millones)	Producción en 2000 (toneladas métricas)	Exportación en 1999 (toneladas métricas)	Consumo en 1999 (kg/cap/año)
Guatemala	10.8	802 545	576 900	4.5
Honduras	6.1	702 578	155 200	63.9
Nicaragua	4.8	13 636	37 846	14.5
Costa Rica	3.8	2 790 000	2 557 000	29.5
Panamá	2.8	918 382	596 900	43.7

Fuente: FAO en el sitio en Internet de INIBAP ([http://www.inibap.org/network/statistics\\_es.htm](http://www.inibap.org/network/statistics_es.htm))





Figura 1. Área operacional del proyecto que muestra la ubicación de los campos de demostración en la región de León-Chinandega. ● representa 10 campos de los agricultores; ● representa 25 patios traseros.



diversificados, ahora cuando el monocultivo del algodón ha desaparecido.

En 1996, la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN), con base en León, y la Oficina Flamenca para Ayuda al Desarrollo y Asistencia Técnica (VVOB) empezaron su intervención con asistencia técnica de la Universidad Católica de Lovaina (KULeuven). El germoplasma mejorado provino de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) y el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) a través del Centro de Tránsito de INIBAP (Diekmann y Putter 1996). La compañía Bananic apoyó esta intervención cubriendo los costos operacionales del laboratorio y de las actividades en el campo.

Las facilidades para el cultivo de tejidos se establecieron en la UNAN con el fin de producir variedades de banano y plátano de alto valor. Las variedades seleccionadas se evalúan en la finca experimental de la

UNAN antes de distribuirlas a los pequeños agricultores (Tabla 2). Los agricultores locales las dividen en cuatro categorías principales de acuerdo a la comparación con el Bluggoe, el plátano Falso cuerno conocido localmente, Gros Michel y Silk. Después de la cosecha, los agricultores realizan pruebas de palatabilidad. El personal de extensión del proyecto enseña técnicas relevantes de cultivo y de multiplicación en el campo. Se establecieron asociaciones con unas 20 organizaciones nacionales e internacionales que operan en Nicaragua (Tabla 3), con el fin de acelerar la distribución de plantas y tecnologías mejoradas, y obtener una retroalimentación máxima de los agricultores.

#### Logros

El proyecto empezó a mediados de 1996. Plántulas enraizadas fueron enviadas por la KULeuven para su aclimatación en un

pequeño vivero en la finca de UNAN en León, localizada a unos pocos kilómetros del centro de la ciudad de León. Estas plantas fueron utilizadas para las primeras parcelas de pruebas en la finca universitaria.

El laboratorio de cultivo de tejidos de la UNAN se construyó en 1997. Las técnicas de cultivo de tejidos que fueron transferidas de la KULeuven a la UNAN, produjeron plántulas para extender los campos experimentales de la finca universitaria. En cooperación con el Centro de Enseñanza Técnica Agropecuaria (CETA), se organizaron talleres en seis comunidades de Chinandega.

En 1998, se desarrollaron cinco folletos al estilo de dibujos animados para distribuirlos a los agricultores participantes (Figura 2). En la finca experimental de la UNAN se estableció una colección de campo que contenía, tanto variedades introducidas, como las variedades cultivadas localmente (40 en total), y se evaluaron 2 parcelas de 36 plantas de cada variedad (Tabla 2).

En 1999, dos técnicos nicaragüenses entrenados del laboratorio de cultivo de tejidos produjeron 6500 plantas. Ciento cuarenta nuevas parcelas experimentales fueron sembradas en la región noroeste de Nicaragua, principalmente en Chinandega debido a la cooperación con CETA y una mayor actividad agrícola en esta región.

En 2000, 20 000 plantas fueron distribuidas a 370 nuevos agricultores, incluyendo también a los agricultores en la región de León (Figura 1). Diez mil plántulas fueron importadas de la KULeuven para acelerar la distribución de nuevas variedades. OXFAM-Bélgica contrató a la UNAN para distribuir 25 000 plantas de variedades superiores a unas 1000 familias que fueron reubicadas después del huracán Mitch, en octubre de 1998 y quienes necesitaban el material vegetal nuevo con urgencia. Por lo tanto, el área del vivero se extendió a 700 m<sup>2</sup>.

En 2001, unos pocos campos experimentales también fueron sembrados en Rivas, en la región central de Nicaragua y en la región de la costa Atlántica, donde agricultores seleccionados recibieron plantas *in vitro* de banano y plátano.

La cantidad de plantas producidas y distribuidas por el laboratorio de cultivo de tejidos de la UNAN aumentó de 2000 en 1998 a 15 000 en 2001. La cantidad de agricultores participantes también aumentó considerablemente: de 40 al inicio del proyecto en 1998, a un total de 820, quienes han recibido variedades mejoradas y participado en el proyecto en 2001. Durante el año 2001, el material de plantación fue vendido a los institutos cooperadores los que distribuyeron las plantas a sus propios programas de desarrollo.

Un total de 2757 agricultores fueron capacitados en diferentes talleres y se distribuyeron unos 1500 folletos sobre la selección y

**Tabla 2.** Características de la cosecha de 23 variedades obtenidas de los campos experimentales durante sus primero y segundo ciclos (C1-2) y tercer y cuarto ciclos (C3-4) de producción. Las variedades están agrupadas de acuerdo a la preferencia de los consumidores.

Nombre	Número ITC	Genoma	Altura de la planta (cm)		Peso del racimo (kg)		No. de manos	No. de dedos
			C1-2	C3-4	C1-2	C3-4	C3-4	C3-4
<b>Bananos de cocción</b>								
<i>Cuadrado1 (Bluggoe)</i>		ABB	310	356	19.5	20.5	6.5	102
FHIA-03	0506	AABB	305	381	29.3	42.1	13.2	204
Pelipita	0396	ABB	420	392	22.9	23.8	10.0	152
Cardaba	0394	ABB	344	-	11.3	-	*7.1	*90
Saba	1138	ABB	375	-	25.2	-	*8.8	*131
<b>Plátanos</b>								
<i>Cuerno1 (Falso cuerno)</i>	AAB	283	400	9.1	11.7	7.4	39	
TMPx 1621	1205	AAAB	-	352	-	15.8	6.0	88
TMPx 4479 (PITA 17)	1293	AAAB	325	361	12.7	14.8	6.3	89
TMPx 7002	1272	AAAB	-	325	-	14.6	6.0	80
TMPx 7152 (PITA 14)	1294	AAAB	299	350	16.8	13.5	6.2	78
TMBx 5295 (BITA 2)	1297	AABB	-	396	-	16.8	10.6	101
<b>Bananos de postre</b>								
<i>Patriota1 (Gros Michel)</i>		AAA	286	355	20.5	22.1	10.0	161
FHIA-01	0504	AAAB	254	342	26.4	30.2	10.5	162
FHIA-02	0505	AAAB	238	300	15.9	18.2	10.0	143
FHIA-17	1264	AAAA	334	-	37.5	-	*12.5	*213
FHIA-23	1265	AAAA	339	-	20.1	-	*10.3	*159
<b>Bananos de postre</b>								
<i>Rosa1 (Silk)</i>		AAB	332	358	17.0	18.6	8.5	151
Pisang ceylan	0650	AAB	-	382	-	24.5	14.4	193
Yangambi km5	1123	AAA	259	339	15.4	19.5	9.9	171
TMBx 1378 (BITA 3)	1296	ABBB	382	418	20.5	22.0	10.7	151
Pisang mas	0653	AA	329	361	6.6	9.5	9.8	147
AA cv. Rose	0712	AA	265	289	6.9	11.1	12.3	199
Pisang lidi	0395	AA	267	306	5.0	8.6	7.4	125

1 variedades locales; \* datos del ciclo 1-2; - datos no disponibles.

**Tabla 3.** Socios nacionales e internacionales involucrados en el proyecto.

Nombre	Descripción
<b>Institutos que coordinan y ejecutan el proyecto</b>	
INIBAP	Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano
KULeuven	Universidad Católica de Lovaina
UNAN	Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
<b>Organizaciones involucradas en la distribución de las plantas</b>	
<b>ONG de Nicaragua</b>	
ALISTAR	Fundación para el Desarrollo Comunitario
ATC	Asociación de Trabajadores del Campo
BLOQUE	Asociación Evangelista para la Educación de los Agricultores
CIPRES	Centro de Investigación y Promoción para el Desarrollo Rural y Social
SGJRH	Asociación de Garmendía Jirón con Responsabilidad Limitada
UNAG	Unión Nacional de Agricultores y Ganaderos
UNAPA	Unión Nacional Agropecuaria de Productores Asociados
Xochilt Acalt	Asociación Femenina de Malpaisillo
<b>Organizaciones gubernamentales</b>	
CETA	Centro de Enseñanza Técnica y Agropecuaria
INTA	Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria
MAG-FOR	Ministerio de Agricultura, Ganadería y Forestales
<b>Organizaciones internacionales</b>	
CARE	ONG norteamericana
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
CLUSA (USAID)	Liga Cooperativa de los EEUU
EU	Proyecto de la Unión Europea León-Chinandega
FAO	Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
OXFAM-Solidarity	<i>Oxford Committee for Famine Relief</i> - Bélgica
SI	Solidaridad Internacional - España
<b>Compañías privadas</b>	
BANANIC	Compañía para la comercialización de bananos de Nicaragua
SETAGRO	Servicios Técnicos Agropecuarios de Occidente

preparación del campo y el material vegetal. Los talleres para los agricultores fueron organizados en colaboración con las ONG locales, organizaciones gubernamentales e internacionales, los cuales aumentaron el contacto con los agricultores drásticamente (Tabla 3). El proyecto también incluyó la organización de talleres regionales y nacionales para los trabajadores de extensión. Se desarrollaron seis folletos nuevos sobre el control de plagas y enfermedades. Se puso a disponibilidad un catálogo de nuevas accesiones siguiendo el formato de *Musalogue* (Daniells *et al.* 2001).

Se mantienen estrechos contactos con los agricultores quienes cultivan nuevas variedades (Figura 3) con el fin de evaluar su reacción y mejorar la eficacia de la intervención. Se realizan entrevistas para determinar la tasa de aceptación de las nuevas variedades y para identificar las razones subyacentes, por ejemplo, la apariencia, sabor, cultivo como cultivo comercial o cultivo alimentario, etc. (Tabla 4). Hasta la fecha, la variedad más popular es FHIA-03, debido a que posee resistencia a la sequía y tiene racimos grandes comparables con el banano local de cocción Bluggoe. Se organizan sesiones de degustación regularmente y las variedades nuevas se preparan de acuerdo a las costumbres nicaragüenses pre-valetientes, es decir, plátanos verdes y maduros fritos, rodajas de plátano, plátano verde y maduro cocinado y banano como postre. Se les invita a las personas a comparar las frutas nuevas con las frutas locales (plátano Falso cuerno, Bluggoe o Silk). Los primeros resultados confirman la aceptabilidad de la mayoría de las variedades, y también muestran que las pruebas de palatabilidad son absolutamente necesarias ya que los consumidores pueden determinar sus aspectos visuales (Tabla 5).

### Planes para el futuro

Actualmente, el laboratorio tiene la capacidad para producir 50 000 plantas *in vitro* por año. Se hacen planes para aumentar más la capacidad de producción con el fin de asegurar la sostenibilidad del laboratorio de cultivo de tejidos vendiendo el material vegetal. Los pequeños agricultores recibirán el material vegetal a precios subsidiados mientras que los productores comerciales tendrán que pagar un precio más alto.

Las variedades de banano de mayor aceptación se producirán en grandes cantidades, así como otros cultivos alimentarios para los cuales existe una demanda en Nicaragua.

El trabajo de distribución y extensión será coordinado de manera creciente por las organizaciones y ONG locales. Para facilitar esta coordinación, en el año 2001 el personal de UNAN/VVOB participó en la fundación de una red nacional de *Musa*, MUSANIC.



Figura 2. Folletos de extensión distribuidos a los agricultores.

Se realizó un estudio de base sobre la situación socioeconómica de los agricultores colaboradores con el fin de poder medir el impacto del proyecto dentro de unos pocos años. ■

### Bibliografía

- Daniells J., C. Jenny, D. Karamura & K. Tomekpe. 2001. *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm. Diversity in the genus Musa*. INIBAP, Montpellier, Francia.
- Diekmann M. & C.A.J. Putter. 1996. FAO/IPGRI Technical guidelines for the safe movement of germplasm. No. 15. *Musa* (2a edición). Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma/Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia.
- FAO. 2001. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2001. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. (Disponible en línea a: [http://www.fao.org/SOF/sofi/index\\_es.htm](http://www.fao.org/SOF/sofi/index_es.htm)).
- Gold C. & S. Messiaen. 2000. El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*. Enfermedades de *Musa* – Hoja divulgativa, Montpellier, Francia.
- Mourichon X., J. Carlier & E. Fouré. 1997. Enfermedades de Sigatoka: Raya negra de la hoja (Sigatoka negra), enfermedad de Sigatoka (Sigatoka amarilla). Enfermedades de *Musa* – Hoja divulgativa No. 8. INIBAP, Montpellier, Francia.



Figura 3. Agricultor que cultiva plátanos FHIA-03 en su patio trasero en la región de León.

Tabla 4. Variedades más preferidas y razones (N=80).

Variedad	Razón más importante
Plátano Falso cuerno* (Cuerno)	Mercado
FHIA-03	Resistencia a la sequía, tamaño del racimo
TMBx 5295	Buen sabor
Bluggoe* (Cuadrado)	Resistencia a la sequía, firmeza de la fruta, sabor
TMBx 1378	Forma de la fruta, sabor
Pelipita	Firmeza de la fruta, sabor

\* variedades locales.

Tabla 5. Aceptabilidad del sabor de la fruta y aspecto visual (N=80).

Variedad	Sabor de la fruta			Aspecto visual de la fruta	
	Modo de preparación	Comparado con	% mejor o el mismo	Comparado con	% mejor o el mismo
FHIA-03	Maduro	Bluggoe	95	Gros Michel	44
FHIA-01	Maduro	Gros Michel	62	Bluggoe	68
Pisang lidi	Maduro	Silk	37	Silk	13
TMBx 1378	Maduro	Silk	99		
TMBx 5295	Maduro frito	Falso cuerno	86	Falso cuerno	57
TMBx 5295	Verde frito	Falso cuerno	67		
TMPx 4479	Maduro frito	Falso cuerno	75		
TMPx 4479	Verde frito	Falso cuerno	85	Falso cuerno	49
Pelipita	Verde frito	Falso cuerno	80	Falso cuerno	12
Pelipita	Maduro frito	Falso cuerno	37		
Pisang ceylan	Maduro	Silk	72	Silk	91

Koen Dens, G. Matton y S. Coessens trabajan como cooperantes de VVOB en la UNAN; M. Vargas es Jefe de Proyecto de *Musa* de la UNAN, Laboratorio de Cultivo de Tejidos; Iglesia la Merced 1/2 C al N; Facultad de Ciencias, UNAN-León, Nicaragua; correo electrónico: [viro@unanleon.edu.ni](mailto:viro@unanleon.edu.ni); <http://www.unanleon.edu.ni/~viro/>;

Ines Van den Houwe es oficial de conservación de germoplasma en el Centro de Tránsito de INIBAP, Kasteelpark Arenberg 13 - 3001 Lovaina, Bélgica. Correo electrónico: [Ines.Vandenhoutte@agr.kuleuven.ac.be](mailto:Ines.Vandenhoutte@agr.kuleuven.ac.be) y Rony Swennen, Jefe del Laboratorio de Mejoramiento de Cultivos Tropicales, Universidad Católica de Lovaina, Kasteelpark Arenberg 13 - 3001 Lovaina, Bélgica. Correo electrónico: [Rony.Swennen@agr.kuleuven.ac.be](mailto:Rony.Swennen@agr.kuleuven.ac.be); <http://www.agr.kuleuven.ac.be/dtp/tro/home.htm>



# Utilización de la técnica RAPD para la identificación y clasificación de algunos cultivares de banano en Vietnam

Nguyen Xuan Thu, Le Thi Lan Oanh  
y Ho Huu Nhi

El banano es una planta frutícola importante en los países tropicales. El banano se origina de *Musa acuminata* (AA) y *Musa balbisiana* (BB). Se reconocen diez grupos de cultivares con niveles de ploidía que varían de diploides ( $2n = 2x = 22$ ) a tetraploides ( $2n = 4x = 44$ ), así como diferentes genomas. Se conoce la existencia de las siguientes configuraciones genómicas: diploides AA, BB y AB; triploides AAA, AAB, ABB; y tetraploides AAAA, AAAB, AABB, ABBB (Simmonds y Weatherup 1990). Por lo tanto, existe una amplia variedad de sistemas de clasificación e identificación para el banano. Hasta la fecha, la clasificación e identificación tradicionales se basaban solo sobre la morfología y características cuantitativas. Recientemente, se empezaron a utilizar marcadores moleculares para estudiar la diversidad de las plantas, animales y microorganismos.

La técnica de ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (*random amplified polymorphic DNA*, RAPD), que utiliza amplificación de reacción en cadena de polimerasa (PCR) con iniciadores individuales de la secuencia nucleotídica arbitraria, fue desarrollada por Williams *et al.* (1990) y Welsh y McClelland (1990) para producir marcadores moleculares para el análisis genético. Se mostró que el RAPD es útil en la impresión de huellas genéticas (Yang y Quiros 1993, Orozco-Catstillo *et al.* 1994, Lanham *et al.* 1995). En este estudio, hemos utilizado RAPD para identificar y clasificar algunos cultivares de banano.

## Materiales y métodos

### Materiales

En este estudio, seis cultivares de banano indígenas de Vietnam (Tabla 1) fueron cribados con respecto a los marcadores de RAPD obtenidos en el *Institute of Agricultural Genetics* (Vietnam).

### Aislamiento de ADN

El ADN fue aislado de las hojas de banano utilizando el método de Murray y Thompson (1980) con algunas modificaciones. Cuatro gramos de material foliar fresco fueron moli-

dos en nitrógeno líquido en presencia de arena de cuarzo. El tejido foliar en forma de polvo fue almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante dos horas. Se añadieron diez mililitros de la solución búfer de extracción [1,5% de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB); 100 mM de Tris-HCl (pH 8); 20mM de ácido etilenediaminetetraacético (EDTA) (pH 8); 1.4 mM NaCl; 0.2% de mercaptoetanol] calentada a  $65^{\circ}\text{C}$  y luego la mezcla fue incubada a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 30 min. La mezcla fue sacudida ligeramente con 1.5 de volumen de cloroformo: isoamilo (24:1) por 20 min. a temperatura ambiente. El sedimento se removió mediante la centrifugación a 3000 rpm por 20 min. El ADN fue precipitado añadiendo 0.8 de volumen de propanol congelado (o 1.5 de volumen de 96% etanol). El gránulo fue lavado 2-3 veces en etanol al 70%. Al final, el ADN se disolvió nuevamente en un volumen mínimo de TE (de unos 200 ml).

### Amplificación de ADN

Para amplificar el ADN se utilizaron doce iniciadores de *Operon Technologies*, cada uno diez bases de largo (Tabla 2). La PCR se realizó en reacciones de 25 ml que contenían 20 ng de matriz (ADN genómico), 200 mM de cada dNTP, 2.5 unidades de Taq-polimerasa, 15 ng de iniciadores, 10 mM de Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM de KCl, 1.5 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 0.001% (w/v) de gelatina y 20 ml de aceite mineral como recubrimiento. Se realizaron cuarenta y cinco ciclos de amplificación, cada uno consistiendo de  $94^{\circ}\text{C}$  por 30 s,  $36^{\circ}\text{C}$  por 1 min.,  $72^{\circ}\text{C}$  por 2 min. Los productos fueron analizados mediante la electroforesis en geles de agarosa a 1.1% a 100 V por 3 horas, teñidos con bromuro de etidio a 0.01% y fotografiados bajo la luz ultravioleta.

### Análisis de datos

- Los coeficientes de similitud entre los cultivares se calcularon utilizando la fórmula de Nei y Li (1979):

$$S_{ij} = \frac{2 N_{ij}}{(N_i + N_j)}$$

donde:  $N_{ij}$  = número de bandas en común entre los cultivares  $i$  y  $j$ , y  $N_i$  y  $N_j$  = número de bandas para los cultivares  $i$  y  $j$ , respectivamente.

- El dendograma de los cultivares estudiados se produjo utilizando un programa de computadora NTsyspc 2.0.

## Resultados y discusión

### RAPD-PCR

Se utilizaron doce iniciadores para amplificar el ADN genómico del banano. Nueve de ellos fueron amplificados para obtener productos múltiples de amplificación de la PCR (Figura 1: ejemplo con el iniciador H08), mientras que otros tres iniciadores (G6, Y14, Y15) no se utilizaron.

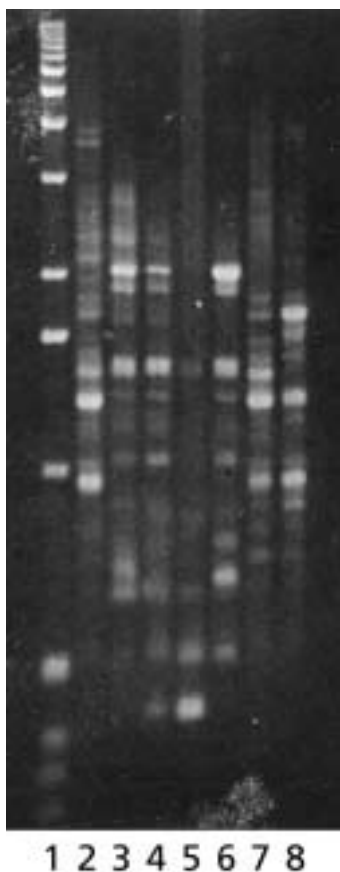
Se obtuvieron dos tipos de bandas: bandas monomórficas que se encontraban presentes en todos los cultivares y bandas polimórficas que se encontraban presentes o ausentes de manera asincrónica en todos los cultivares. Nueve iniciadores fueron amplificados en 79 bandas, de las cuales 67 bandas (84.81%) resultaron polimórficas y 12 bandas (15.19%) monomórficas. La alta proporción de bandas polimórficas se debió al origen muy diferente de los cultivares estudiados. Dos iniciadores (D07, G14) amplificaron solo 5 bandas, mientras que el H07 amplificó 17 bandas. El tamaño de las bandas varió de 360 Kb a 3200 Kb.

### Similitud genética

La fórmula de Nei y Li permitió calcular coeficientes de similitud entre los cultivares basándose en los datos de RAPD. Los coeficientes de similitud reflejaron las relaciones entre los cultivares. Los coeficientes de similitud entre los cultivares originales de *M. acuminata* variaron entre 0.764-0.826, mientras que los cultivares originales de *M. balbisiana* variaron entre 0.696-0.835 (Tabla 3). Los cultivares pertenecientes a los dos grupos tuvieron coeficientes de similitud bajos, que variaron entre 0.317 y 0.461.

Tabla 1. Cultivares y genotipos empleados en el estudio.

	Cultivar	Genotipo		Cultivar	Genotipo
1	Chuoi Tieu Xanh	AAA ( $2n = 3x = 33$ )	4	Chuoi Tay	ABB ( $2n = 3x = 33$ )
2	Chuoi Tieu Hong	AAA ( $2n = 3x = 33$ )	5	Chuoi La	ABB ( $2n = 3x = 33$ )
3	Chuoi Ngu	AA ( $2n = 2x = 22$ )	6	Chuoi Hot	BB ( $2n = 2x = 22$ )



**Figura 1.** Resultados de la RAPD-PCR con el iniciador H08.  
1: Escala 1Kb; 2: Chuoi Tay; 3: Chuoi Tieu Xanh; 4: Chuoi Tieu Xanh; 5: Chuoi Ngu; 6: Chuoi Tieu Hong; 7: Chuoi La; 8: Chuoi Hot.

### Marcadores RAPD específicos de los cultivares

Los marcadores RAPD específicos son bandas que solo se encuentran presentes en un cultivar. En este estudio, hemos encontrado 12 marcadores específicos para 4 cultivares (Tabla 4). Estos resultados sugieren que los RAPD pueden ser utilizados para la selección de las razas de banano en la agricultura.

### Arbol filogenético de los cultivares de banano

Basándose en los datos de RAPD, se construyó un árbol filogenético de los cultivares de banano utilizando el programa NTsyspc 2.0. El árbol filogenético tiene dos ramas: los cultivares se originan de *M. acuminata* en una rama, y los cultivares que se originan de *M. balbisiana* en la otra (Figura 2). Estos resultados concuerdan con el análisis citológico de estos cultivares de banano.

### Reconocimiento

Los autores agradecen al *Program of Fundamental Researches* por apoyar esta investigación, e Inge Van den Bergh por revisar este artículo. ■

### Bibliografía

Lanham P.G., R.M. Brennan, C. Hackett & R.J. McNicol. 1995. RAPD fingerprinting of blackcurrant (*Ribes nigrum*L.) cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 90: 166-172.

**Tabla 2.** Iniciadores utilizados en el estudio.

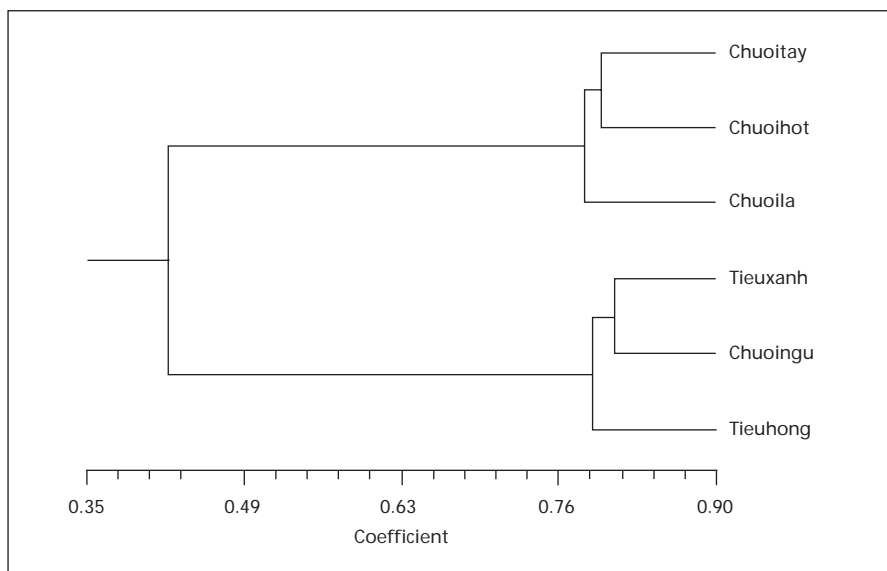
Iniciador	Secuencia nucleotídica	Iniciador	Secuencia nucleotídica
AA10	5'AGACGGCTCC 3'	H07	5'CTGCATCGTG 3'
AA14	5'AACGGGCCAA 3'	H08	5'GAAACACCCC 3'
B17	5'AGGAACGAG 3'	U01	5'ACGGACGTCA 3'
D07	5'TTGGCACGGG 3'	Y14	5'GGTCGATCTG 3'
G06	5'GTGCCTAACC 3'	Y15	5'AGTCGCCCTT 3'
G14	5'GGATGAGACC 3'	Y18	5'GTGGAGTCAG 3'

**Tabla 3.** Coeficientes de similitud entre los cultivares de banano calculados mediante la fórmula de Nei y Li.

Cultivar	Tay	Hot	La	Tieu Xanh	Tieu Hong	Ngu
Tay	1.00					
Hot	0.826	1.00				
La	0.764	0.829	1.00			
Tieu Xanh	0.577	0.461	0.586	1.00		
Tieu Hong	0.500	0.373	0.489	0.835	1.00	
Ngu	0.477	0.317	0.422	0.782	0.696	1.00

**Tabla 4.** Marcadores específicos de algunos cultivares de banano estudiados.

Chuoi La	Chuoi Hot	Chuoi Ngu	Tieu Hong
AA10-950	H07-500	H07-900	H07-800
	H07-1270		H07-400
	U01-1400		U01-700
			Y18-800



**Figura 2.** Dendrograma de los cultivares de banano producida utilizando el programa de computadora NTsyspc 2.0

Murray M.G. & W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8: 4321- 4325.

Nei M. & W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetical variation in term of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5267-5273.

Orozco-Catstillo C., K.J. Chalmers, R. Waugh & W. Powell. 1994. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 87: 934-940.

Simmonds N.W. & S.T.C. Weatherup. 1990. Numerical taxonomy of the cultivated bananas. *Tropical Agriculture* 67: 90-92.

Welsh J. & M. McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18(24):7213-7218.

Williams J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.

Yang X. & C. Quiros. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 86:205- 212.

Nguyen Xuan Thu y Le Thi Lan Oanh trabajan en el *Institute of Biotechnology (IBT), National Centre for Natural Science and Technology of Vietnam (NCST)*, Hoang Quoc Viet Street, Cau Giay, Ha Noi, Vietnam. Correo electrónico: pb-ibt@hn.vnn.vn; Ho Huu Nhi trabaja en el *Vietnam Agricultural Science Institute (VASI)*, Van Dien, Ha Noi, Vietnam. Correo electrónico: nhiviovasi@fpt.vn

# Patrones de consumo y gasto de los consumidores de bananos y plátanos en Nsukka Urban, Nigeria

A.R. Ajayi y M.O. Aneke

**E**n Nigeria, los bananos y plátanos siempre han sido alimentos básicos tradicionales muy importantes para la población, tanto urbana, como rural. Ellos sirven como fuente de ingresos para los pequeños agricultores quienes los producen en fincas compuestas, fincas con cultivos mixtos y pequeñas fincas con monocultivos (Baiyeri 1996, Ajayi y Baiyeri 1999).

Nsukka Urban es muy poblado. Tiene un gran mercado que funciona diariamente. Hombres, mujeres y jóvenes en Nsukka Urban y comunidades vecinas convergen en el mercado para comprar y vender. En el mercado se venden diversos productos agrícolas como bananos, plátanos, vegetales, pimienta, mango, aceite de palma, otras frutas, miel, ñame, ganado etc. En esta área, los bananos y plátanos se cultivan en fincas compuestas y se intercalan con otros cultivos. Cada uno de los productores de banano o plátano en el área tiene menos de 50 puestos de venta y la mayoría de ellos cultivan más el banano que el plátano (Baiyeri y Ajayi 2000). Sin embargo, la comercialización de los bananos y plátanos se realiza principalmente por mujeres, especialmente en Nsukka Urban, el campus universitario y las comunidades vecinas. La venta de los bananos y plátanos proporciona medios de sustento para muchas familias en el área.

En vista de las contribuciones significativas de los bananos y plátanos a la economía, la salud y el bienestar nutricional de las familias rurales y urbanas en Nigeria, es muy importante que continuamente se realicen esfuerzos para mejorar los patrones de su comercialización y consumo. Al planificar un programa nacional de mejoramiento de la comercialización y consumo de los bananos y plátanos, se necesitarán datos basados en los patrones de consumo y gastos de sus consumidores. El papel de la Extensión Agrícola (EA) en la recopilación de los datos, planeamiento, implementación, monitoreo y evaluación de un programa semejante no puede ser sobreestimado. La EA es un proceso primario a través del cual las familias pueden aprender las razones del cambio, el valor del cambio, los resultados que pueden ser logrados, el proceso a través del cual el cambio es logrado y

las incertidumbres inherentes al cambio (Williams 1978).

Los patrones de gastos de las familias en Nigeria varían de lugar a lugar. Aparte de los ingresos de las familias, los factores como la preferencia por un producto particular por un miembro de la familia, la calidad y cantidad del producto vendido, el ambiente en el cual el producto fue procesado y vendido y el precio relativo de los productos, también influyen sobre los patrones de gastos de las familias (Anyanwu 1985).

El patrón de consumo de alimentos, en un sentido amplio, significa no solo lo que las personas comen o consumen, sino también las cantidades, así como las formas en que estos alimentos son consumidos (Dury *et al.* 1999). De acuerdo a Olagoke (1989), los patrones de consumo de los alimentos varían de un lugar a otro debido a factores como el tamaño de la familia, los niveles de educación de los miembros de la familia, los precios relativos de los productos alimenticios, el ambiente en el cual viven los consumidores, los valores sociales ligados a algunos productos alimenticios, los valores nutritivos de los productos alimenticios, el tipo o estado de trabajo que desempeñan los miembros de la familia, gustos y preferencias de la familia, la estación o período del año, y la cultura o religión de los miembros de la familia.

El estudio se diseñó para evaluar los patrones de consumo y gastos de los consumidores de bananos y plátanos en Nsukka Urban en el Estado de Enugu, Nigeria. Específicamente, el estudio fue diseñado para:

1. determinar los patrones de consumo de los bananos y plátanos entre las familias en Nsukka Urban;
2. determinar los patrones de gastos de los consumidores de bananos y plátanos en Nsukka Urban;
3. determinar el papel de la toma de decisiones de los miembros de una familia en el consumo de bananos y plátanos en Nsukka Urban;
4. determinar los principales problemas que actúan en contra del eficaz consumo de bananos y plátanos en el área estudiada; y
5. delinear las implicaciones para un programa de extensión sobre la conservación, procesamiento, comercialización y consumo mejorados y eficaces de los bananos y plátanos en el área estudiada.

## Metodología

Nsukka Urban se encuentra en el centro del área del Gobierno Local de Nsukka, Estado de Enugu, Nigeria. Nsukka Urban ocupa un territorio de aproximadamente 45.38 km<sup>2</sup> (Oformata 1995). Se divide en las siguientes secciones (grupos): campus de la Universidad de Nigeria, Onuiyi, Odenigbo, Area Reservada por el Gobierno (GRA), Odenigwe, Ugwoye, Umuyo, Ngwuru, Owerre, Makashi e Isiakpu.

De los 11 grupos arriba mencionados, cinco fueron seleccionados a través de un muestreo aleatorio simple. De cada uno de los cinco grupos, se seleccionaron 12 familias, utilizando técnicas de conglomerados y de muestreo aleatorio simple. En fin, en el estudio fue involucrado un total de 60 familias, y se entrevistó el jefe de cada familia.

Se desarrolló y se utilizó un cuestionario estructurado para obtener información relevante de los consumidores de bananos y plátanos. Los datos recolectados fueron analizados a través del uso de la distribución porcentual y gráficos de barras.

## Resultados de la encuesta

Los patrones de consumo y gastos de los bananos y plátanos entre las familias en Nsukka Urban se presentan en las siguientes figuras y tablas:

### Tasa de consumo de bananos y plátanos

La Figura 1 muestra que la tasa de consumo de bananos es más alta que la del consumo de plátanos.

### Fuentes de bananos y plátanos para el consumo

La mayoría de los consumidores dependen del mercado para abastecerse de bananos y plátanos. Una porción muy pequeña de consumidores produce sus frutas regularmente (Figura 2).

### Período del día cuando principalmente se consumen los bananos y plátanos

En la Figura 3 está claro que las personas prefieren comer plátanos (hervidos, asados o fritos) en la mañana y en la noche, y el banano como un "tentempié" en la tarde.



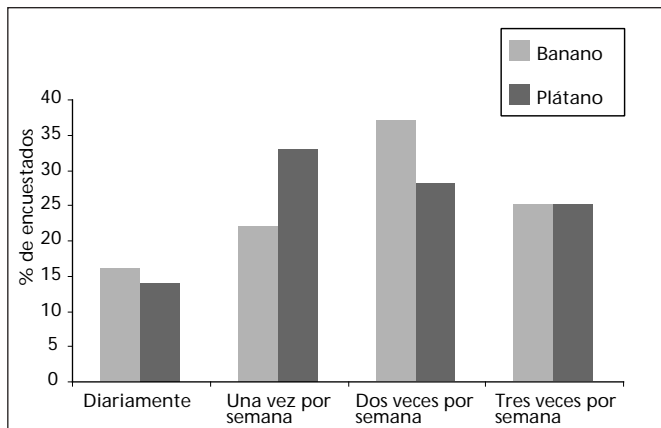


Figura 1. Frecuencia de consumo de bananos y plátanos.

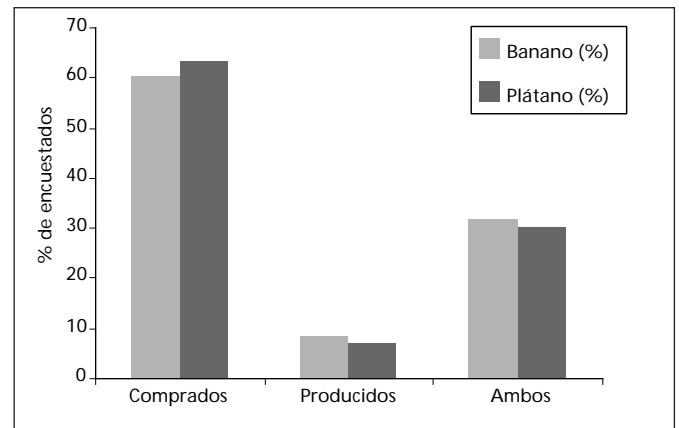


Figura 2. Distribución porcentual de los encuestados en base a su abastecimientos en banana y plátano.

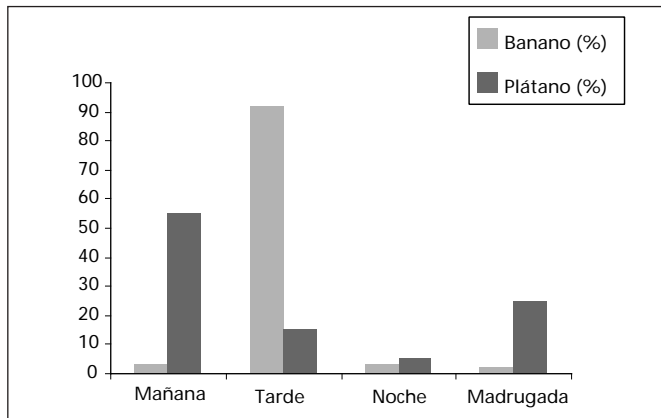


Figura 3. Distribución porcentual de los consumidores en base a la hora del día cuando los bananos y plátanos se consumen más.

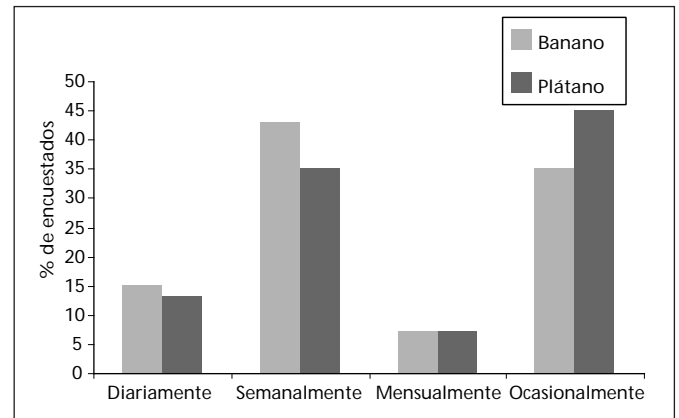


Figura 4. Porcentaje de gastos de los consumidores de bananos y plátanos.

Tabla 1. Formas de consumir el plátano entre las familias.

Forma de preparación	Desayuno (%)*	Almuerzo (%)*	Cena (%)*
Plátano frito + papa	28.5	4.3	1.7
Potaje de plátano	19.2	3.7	11.0
Plátano + frijoles	3.5	10.6	18.9
Plátano + arroz	2.3	9.6	21.1
Plátano hervido + caldo	15.1	5.3	13.3
Plátano majado + sopa	1.2	25.5	5.6
Plátano con ñame (majado)	4.7	10.6	17.8
Plátano asado	3.5	24.0	5.0
Plátano hervido	22.0	6.4	5.6

\*Respuestas múltiples.

### Formas comunes de platos de plátano entre las familias

Los encuestados preferían plátanos fritos para el desayuno. Para el almuerzo, los plátanos majados y asados son los más preferidos. Para la cena, se prefiere el plátano acompañado por el arroz, frijoles o ñame (Tabla 1).

### Porcentaje de gastos de los consumidores de bananos y plátanos

Es de notar que los plátanos son más caros que los bananos (N12<sup>1</sup> o N15 por dedo de plá-

tano y N5 por dedo de banana). Esto podría explicar porqué la mayoría de los consumidores compran los bananos con mayor regularidad que los plátanos (Figura 4).

### Proporción gastada para el consumo de bananos y plátanos con respecto al ingreso mensual

La mayoría de los encuestados (Figura 5) gastan sólo el 1% de sus ingresos para comprar bananos y plátanos. Los factores principales que determinan el porcentaje de sus ingresos mensuales gastado en la compra de bananos y plátanos son la disponibilidad del dinero, seguido muy de cerca por el interés

de la familia, y luego el precio de la fruta (Figura 6 – NB: se proporciona más de un factor).

### Formas en que los bananos y plátanos se compran en el mercado

Los bananos se compran principalmente maduros, mientras que los plátanos son preferidos verdes (Figura 7).

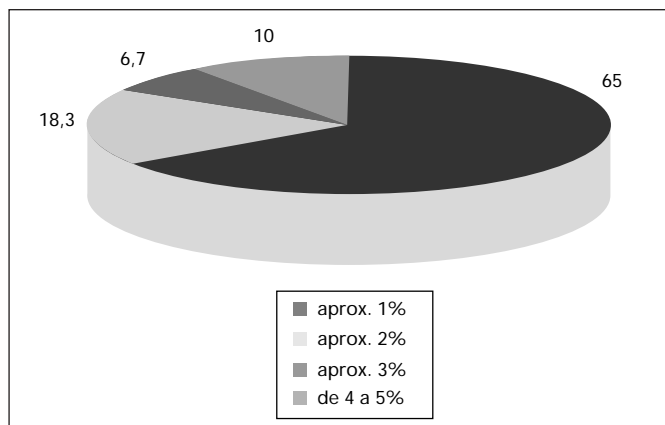
### Respuesta de las familias a los cambios de los precios de los bananos y plátanos

La Tabla 2 muestra que la mayoría de los encuestados no cambian sus hábitos en la compra de los bananos cuando los precios aumentan, pero compran más si los precios disminuyen. En el caso del plátano, más de la mitad de los encuestados comprarían menos plátanos si el precio aumentara y el 75% compraría más si el precio disminuyera.

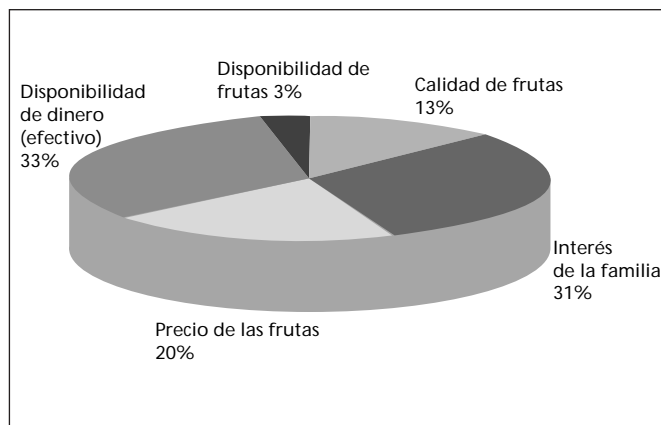
### Papel de la familia en la toma de decisiones en el proceso de consumo de bananos y plátanos

De acuerdo a la Tabla 3, las esposas son las que deciden con respecto a la compra y al proceso de consumo de los bananos y plátanos. Por otro lado, el esposo decide como se utilizan las cáscaras, mientras que los niños determinan el intervalo de compra y el período de almacenamiento.

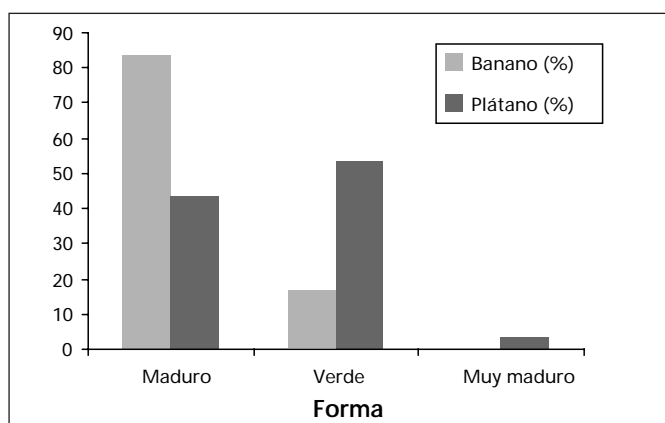
<sup>1</sup> 10 N (Naira Nigeriana) = 0.085 USD, marzo de 2002.



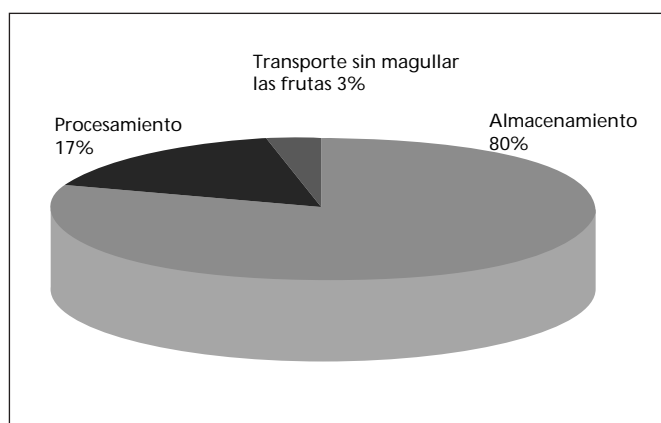
**Figura 5.** Distribución porcentual de los encuestados en base a la proporción (%) de sus ingresos mensuales gastada en el consumo de bananos y plátanos.



**Figura 6.** Distribución porcentual de los encuestados en base a los factores que determinan la proporción de sus ingresos mensuales, gastada para comprar bananos y plátanos.



**Figura 7.** Distribución porcentual de los encuestados en base a las formas en que los bananos y plátanos son comprados.



**Figura 8.** Principales problemas que afectan un buen consumo de bananos y plátanos.

**Tabla 2.** Distribución porcentual de los encuestados de acuerdo a sus respuestas a los cambios de precios de los bananos y plátanos.

Respuesta al cambio del precio	Aumento de precio de 10%		Disminución del precio de 10%	
	Banano (%)	Plátano (%)	Banano (%)	Plátano (%)
Compra la misma cantidad	75.0	41.7	25.0	20.0
Compra mayor cantidad	0.0	0.0	75.0	80.0
Compra menor cantidad	25.0	58.3	0.0	0.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

**Tabla 3.** Papel de las familias en la toma de decisiones en los procesos de consumo de bananos y plátanos.

Papel en la toma de decisiones	Banano			Plátano		
	H (%)	M (%)	N (%)	H (%)	M (%)	N (%)
Proporción de ingreso mensual	43.3	56.7	0.0	30.0	70.0	0.0
Cantidad adquirida	21.0	70.7	8.3	35.0	50.0	15.0
Forma en que las frutas son adquiridas	8.3	75.0	16.7	30.0	60.0	10.0
Procesamiento	0.0	85.5	14.5	10.0	64.6	25.4
Almacenamiento	0.0	75.3	24.7	0.0	86.2	13.8
Utilización de las cáscaras	50.0	11.7	38.3	70.0	4.7	25.3
Periodo de almacenamiento	16.7	25.0	58.3	11.7	21.7	66.6
Intervalo entre las compras	33.3	41.7	25.0	13.3	33.3	53.4
Calidad adquirida	18.0	82.0	0.0	27.0	73.0	0.0

H = Hombre, M = Mujer y N = Niños

### Principales problemas que afectan el buen consumo de los bananos y plátanos

Los encuestados identificaron los tres problemas principales que afectan el buen consumo de bananos y plátanos (Figura 8). Entre estos se encuentran los problemas de almacenamiento como los ataques de las plagas (ratas caseras e insectos), la maduración excesiva y formación de moho debido a las magulladuras; problemas de procesamiento como la falta de conocimientos tecnológicos, condiciones climatológicas desfavorables, ausencia de molinos de procesamiento y un pobre suministro de energía eléctrica o su ausencia, etc.; y transporte que no dañe las frutas. Chukwu (1996) observó que el almacenamiento inadecuado, la distribución insuficiente y la falta de técnicas de procesamiento dan como resultado grandes pérdidas de bananos y plátanos.

### Conclusiones

El análisis de estos resultados lleva a las siguientes conclusiones:

1. la tasa de consumo de los bananos es más alta que la de los plátanos;

2. una mayor proporción de los encuestados depende del mercado para su abastecimiento de bananos y plátanos;
3. los bananos se consumen principalmente en la tarde, mientras que los plátanos se consumen principalmente en la mañana;
4. los platos de plátano se preparan y se consumen en diferentes formas;
5. los plátanos son más caros que los bananos;
6. los principales factores que determinaron la proporción (%) gastada del ingreso mensual en bananos y plátanos, incluyen la disponibilidad de dinero en efectivo, interés de la familia, precio, calidad y disponibilidad de las frutas;
7. los bananos se compran principalmente en forma madura, mientras que los plátanos se compran principalmente verdes;
8. las familias respondieron de acuerdo a los cambios en los precios de los bananos y plátanos;
9. las esposas desempeñan un mayor papel en la toma de decisiones con respecto a la compra y consumo de bananos y plátanos, que sus esposos e hijos; y
10. los principales problemas que afectan el consumo efectivo de los bananos y plátanos en el área incluyen los problemas de almacenamiento, procesamiento y transporte.

**Implicaciones de los descubrimientos para un programa de extensión con respecto a una conservación, procesamiento, comercialización y consumo mejorados y eficientes de los bananos y plátanos**

1. Ya que la fluctuación del precio del mercado de los bananos y plátanos afecta los patrones de consumo de las familias, existe la necesidad de establecer una organización cooperativa de consumidores para la compra al por mayor y venta al por menor de las frutas. Los agentes de extensión capaces deberían ser asignados a cada una de estas organizaciones con el propósito de monitorear y evaluar las actividades de los miembros y proporcionar información relevante cuando es necesario.
2. Con el fin de asegurar la calidad de la preservación y utilización de los bananos y plátanos, el Proyecto Estatal de Desarrollo Agrícola (*State Agricultural Development Project*, ADP) debe organizar talleres para las mujeres comerciantes sobre la conservación, procesamiento y utilización eficaz de los bananos y plátanos.
3. El hecho de que una mayor proporción de los encuestados compraban los bananos y plátanos que necesitaban en los mercados y a vendedores ambulantes



En Nigeria, los plátanos 'Falso cuerno' son muy apreciados porque tienen dedos muy largos (Foto: R. Swennen, IITA).

muestra que deben existir canales de distribución y comercialización eficaces para mejorar el acceso de los consumidores a las frutas cuando las necesitan. De este modo, el ADP del Estado de Enugu debe desarrollar un programa de estrategia de manejo postcosecha, distribución y comercialización para los agricultores y vendedores.

4. Aunque las esposas podrían representar un objetivo especial (debido a su mayor papel en la toma de decisiones con respecto al consumo de los bananos y plátanos) para el ADP del Estado de Enugu con el fin de mejorar los patrones de consumo y gastos para los bananos y plátanos a través de actividades educacionales, la importancia de la familia como una unidad de trabajo en la práctica del programa de extensión no puede ser descuidada. Por lo tanto, todos los miembros de la familia deben estar involucrados intensivamente en cualquier programa de extensión diseñado para mejorar los patrones de consumo y gastos para los bananos y plátanos en el área de estudio. ■

**Bibliografía**

Ajayi A.R. & K.P. Baiyeri. 1999. Household decision-making role in backyard banana and plantain production in the Nsukka agroecological zone in southeastern Nigeria. Pp. 719-727 in *Bananas and Food Security. Les productions bananières: un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire* (C. Picq, E. Fouré and E.A. Frison, eds). Proceedings of an International symposium held in Douala, Cameroon, 10-14 November 1998.

Anyanwu C.U. 1985. An evaluation of the relationship between income level, expenditure and food consumption pattern in UNN. B. Agric. Research Project, Department of Agricultural Economics, University of Nigeria, Nsukka.

sumption pattern in UNN. B. Agric. Research Project, Department of Agricultural Economics, University of Nigeria, Nsukka.

Baiyeri K.P. 1996. Characterization, correlation, path-analysis and selection indices of *Musa* genotypes under different environments. A PhD Research Proposal, Department of Crop Science, University of Nigeria, Nsukka.

Baiyeri K. P. & A.R. Ajayi. 2000. Status and constraints of *Musa* spp. production in a sub-humid zone of Nigeria. Pp. 73-77 in *Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa* (K. Craenen, R. Ortiz, E. B. Karamura and D.R. Vuylsteke, eds). *Acta Horticulturae* 540.

Chukwu U.E. 1996. Effect of post-harvest injury on shelf-life and extrusion processing of *Musa* spp. fruits. A PhD Research Proposal, Department of Food Science, University of Ibadan, Ibadan, Oyo State, Nigeria.

Dury S., N. Bricas, J. Tchango Tchango & A. Bikoï. 1999. La consommation et les critères de qualité du plantain à Douala et à Yaoundé. Pp. 507-523 in *Bananas and Food Security. Les productions bananières: un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire* (C. Picq, E. Fouré and E.A. Frison, eds). Proceedings of an International symposium held in Douala, Cameroon, 10-14 November 1998.

Ofomata G.E. 1975. Nigeria in Maps. Eastern State Ethiope Publishing Company, Benin City, Nigeria.

Olagoke M.A. 1975. Food consumption patterns in the Obafemi Awolowo University. BA Research Project, Faculty of Agriculture, Ile-Ife, Osun State, Nigeria.

Williams S.K.T. 1978. Rural development in Nigeria. Obafemi Awolowo University Press, Ile-Ife, Osun State, Nigeria.

Los autores trabajan en el Departamento de Extensión Agrícola, Facultad de Agricultura, Universidad de Nigeria Nsukka. Tel.: +234 042 770815 o 771019, Fax: +234 02 770664; Correo electrónico: MISUNN@aol.com



# Caracterización molecular de las plantas enanas de banano (*Musa spp.*) utilizando AFLP

Katholieke Universiteit Leuven, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Botánica Aplicada, Laboratorio de Mejoramiento de Cultivos Tropicales, Lovaina, Bélgica  
Disertaciones de Agricultura No. 515, 2002

Iris Engelborghs



Las plantas de banano representan el cultivo frutícola más importante a escala mundial y muestran una gran variedad en formas y tamaños, de las cuales una es del tipo enano. A diferencia del tipo normal, la variante enana tiene un pseudotallo más corto y hojas más anchas. Debido a que estas plantas tienen la misma cantidad de hojas que la variante normal, su habilidad fotosintética no se reduce y, por lo tanto, el tamaño del racimo es casi idéntico. En adición, su altura reducida impide su volcamiento durante los huracanes tropicales. Estas características convierten la variante enana en una planta valiosa para los productores bananeros en los trópicos. Existen diferentes variedades enanas naturales que tienen una variante normal, pero este fenotipo a menudo también se puede obtener mediante el cultivo *in vitro*, por ejemplo, en una colección de germoplasma *in vitro* o durante una multiplicación rápida *in vitro*.

Vos *et al.* (1995) describieron la técnica de polimorfismos de los fragmentos de longitud restringida (*amplified fragment length polymorphism*, AFLP) como 'una técnica moderna y muy poderosa para la impresión de huellas genéticas de ADN de cualquier origen o complejidad'. Esta técnica de impresión de huellas genéticas de ADN se basa en una amplificación en cadena de polimerasa selectiva de los fragmentos de restricción de un ADN genómico totalmente digerido e involucra los siguientes tres pasos: (i) restricción de ADN y ligadura de los adaptadores oligonucleotídicos, (ii) amplificación selectiva de las series de fragmentos de restricción, y (iii) análisis en gel

de los fragmentos amplificados. Con este método, las series de los fragmentos de restricción se visualizan con la PCR (amplificación en cadena de polimerasa) sin conocer las secuencias nucleotídicas. El poder de esta técnica de impresión de huellas genéticas de ADN fue evaluada en unas cuantas especies, pero no en *Musa spp.* Por lo tanto, esta es la primera vez que la técnica fue optimizada para el banano. En adición, la técnica fue adaptada a la detección no radioactiva de los patrones de AFLP utilizando el método de detección más reciente. Los iniciadores marcados con fluoresceína fueron utilizados en las reacciones de amplificación en cadena de polimerasa permitiendo la separación basada en computadora y la detección en un gel de secuenciación.

En este estudio se realizó la evaluación de la eficacia de la técnica AFLP y sus variantes como la tres-endonucleasa-(TE)-AFLP, el cADN-AFLP y el polimorfismo amplificado sensible a la metilación (*methylation sensitive amplified polymorphism*, MSAP) para la caracterización y detección temprana del tipo enano utilizando una serie de pares de tipos enanos y normales de banano. Primero se utilizaron el tipo enano 'Curare enano' y su tipo anormal generado *in vitro* para la optimización de la técnica AFLP. Posteriormente, el análisis se extendió a tres variedades enanas que ocurren naturalmente, 'Cachaco enano', 'Figue rose naine' y 'Prata ana', cada una de las cuales tiene una variante normal denominada 'Cachaco', 'Figue rose' y 'Prata', respectivamente. En adición, se analizaron una variante enana extra 'Dwarf parfitt', una variante normal 'Cavendish' y una variante gigante 'Cavendish gigante'.

Se obtuvieron patrones diferenciales de AFLP, TE-AFLP, cADN-AFLP, cADN-TE-AFLP y MSAP y se observaron diferentes niveles de polimorfismos entre los tipos enanos y normales dependiendo de la técnica, de la combinación de los iniciadores y de la variedad. Para cada variedad, se pudo hacer una distinción entre el tipo normal y enano. Sin embargo, no se encontraron fragmentos enanos específicos comunes para todas las variedades enanas que es un indicio de (i) que los polimorfismos observados no están relacionados con el fenotipo, (ii) o que las diferentes variedades se originaron de

manera diferente, (iii) o que varios genes están involucrados en el proceso. Los fragmentos diferenciales fueron clonados y secuenciados. Se diseñaron los iniciadores a partir de las frecuencias obtenidas que luego fueron utilizados con el ADN genómico de la variedad respectiva para confirmar la naturaleza diferencial única de los fragmentos. Sin embargo, la especificidad fue perdida.

Además de los análisis descritos arriba a nivel del ADN, se realizaron algunos ensayos fisiológicos sobre parejas de plantas normales y enanas de banano. La relación entre el enanismo y el ácido giberélico (GA) está descrita para varias especies enanas mutantes, por ejemplo, el arroz y trigo, así como para algunas especies de *Musa*. Se describen dos categorías de tipos enanos, es decir, un grupo sensible o no al GA y un grupo deficiente de GA. La influencia del GA fue examinada en este estudio en el crecimiento *in vitro* de los pares enanos y normales de banano. La sensibilidad o su ausencia resultó depender de la variedad, sugiriendo que las diferentes variedades enanas se originaron de manera diferente y que otros mecanismos pueden estar involucrados distintos a la vía del GA. Al cultivarlas en ancimídol (un inhibidor de la síntesis de GA), el crecimiento *in vitro* de todas las variedades enanas examinadas fue inhibido lo que indica que estas plantas no tenían deficiencia de GA, y que la transducción de la señal después de la síntesis debió haber sido deteriorada.

Basándose en estos resultados podemos concluir, que la técnica AFLP permite una impresión rápida y temprana de huellas genéticas de estos tipos enanos particulares de banano, que el mecanismo detrás del enanismo es complejo y parece involucrar al ácido giberélico, metilación y demetilación... y que las variedades enanas analizadas en este experimento se originaron probablemente por mecanismos diferentes. ■

## Bibliografía

Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper & M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: 4407-4414.

# Estudio de la interacción entre los hongos micorriza arbusculares y nematodos fitoparásitos en *Musa* spp.

Katholieke Universiteit Leuven, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Botánica Aplicada, Laboratorio de Mejoramiento de Cultivos Tropicales, Lovaina, Bélgica  
Dissertationes de Agricultura No. 517, 2002

Annemie Elsen

Las plagas y enfermedades son las principales limitaciones para la producción de los bananos y plátanos. Los nematodos causan pérdidas de rendimiento en América Latina, África occidental y oriental y en Asia. Usualmente, los nematodos de los bananos se controlan con la ayuda de los nematicidas. Estos nematicidas no solo son muy costosos, sino también extremadamente tóxicos para otros organismos incluyendo a los usuarios, y contaminan el ambiente. Los hongos micorriza arbusculares (AMF) son los simbioses obligatorios que colonizan la corteza radical de manera biotrófica y desarrollan un micelio extraradical que ayuda a la planta a absorber agua y nutrientes minerales del suelo en intercambio del carbono como fuente de energía. En adición, los AMF aumentan la habilidad de la planta para controlar la propagación de los patógenos del suelo. En *Musa* la asociación ocurre naturalmente cuando las plantas son transplantadas al campo. La asociación de los AMF con los nematodos fitoparásitos y el efecto beneficioso de los simbioses de micorriza en el crecimiento de las plantas y resistencia o tolerancia a los nematodos obligaron a investigar el potencial de los AMF con el fin de limitar las pérdidas de los rendimientos debido a los nematodos.

En la primera parte de nuestro estudio, se investigaron la dependencia relativa de la micorriza (RMD) y la interacción entre los AMF y nematodos en cuatro genotipos de *Musa*, seleccionados por su respuesta conocida a los nematodos (es decir, 'Grande naine', 'Gros Michel', 'Pisang jari buaya' y 'Yangambi km5'). La producción de micorriza con *Glomus mosseae* (AMF) dio como resultado un crecimiento de la planta significativamente mejor, aún en presencia de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae*. No se observaron diferencias en el RMD entre los cuatro genotipos. *Glomus mosseae* pudo proteger a 'Grande naine' y 'Pisang jari buaya' contra *R. similis* y *P. coffeae*, ya que

la reproducción de los nematodos fue reducida. Solo en el caso de *R. similis* (población indonesia con un bajo poder patógeno), en 'Pisang jari buaya' no se observó su desaparición. Sin embargo, cuando la reproducción es muy baja (debido a una capacidad reproductora muy baja de la población de nematodos o a la respuesta de la planta hospedante resistente del genotipo examinado), la presencia de los AMF no tiene efectos sobre la reproducción de los nematodos. Los AMF redujeron la necrosis radical, causada por *P. coffeae*. Con respecto a *R. similis*, no se observó reducción alguna. Los nematodos redujeron la frecuencia de producción de micorriza, sin reducir la intensidad de asociación de la micorriza.

En la segunda parte, se estudiaron las interacciones entre el RMD y AMF y nematodos en los genotipos de *Musa* que tenían morfología radical diferente. Se examinaron la influencia de los AMF sobre el sistema radical y la influencia del sistema radical alterado sobre la reproducción de los nematodos. La producción de micorriza con *G. mosseae* dio como resultado un crecimiento de la planta significativamente mejorado, aún en presencia de *P. coffeae*. El efecto de los AMF sobre el sistema radical fue relacionado con el RMD del genotipo. Los genotipos de *Musa* con un RMD bajo no experimentarán cambios en la ramificación de su sistema radical en respuesta a la producción de micorriza. Pero en los genotipos con un RMD alto, el sistema radical será más ramificado. Hemos mostrado que *P. coffeae* también afecta al sistema radical, reduciendo la ramificación. El efecto de los AMF sobre la reproducción de nematodos no estaba muy claro. La densidad de la población de nematodos tenía tendencia a reducirse, pero no fue muy significativa en el experimento con 'Obino l'ewai'. Parece que en el sistema radical la disminución de la ramificación causada por los nematodos fue balanceada por el aumento de la ramificación causada por los AMF. Por lo tanto, la aplicación de los AMF podría ser utilizada como una estrategia para disminuir la susceptibilidad a los nematodos.

En la tercera parte de nuestro estudio, las interacciones entre los AMF y los nematodos fueron estudiadas bajo condiciones *in vitro*. En primer lugar, se establecieron los cultivos asépticos de nematodos utilizando el callo de alfalfa como tejido hospedante. Hasta ahora, la falta de sistemas de cultivo completamente estériles limitaron los estudios *in vitro* de los nematodos y hospedantes y los estudios de las interacciones entre los nematodos y AMF. En segundo lugar, se desarrollaron tres sistemas modelo: raíces de *Daucus carota* transformadas con la ayuda de Ri T-ADN, plantas de *Musa in vitro* y plantas de *Arabidopsis thaliana in vitro*.

Finalmente, las raíces transformadas de *D. carota* fueron utilizadas para estudiar la interacción entre los AMF y los nematodos bajo condiciones de esterilización. Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron el efecto supresor de los AMF sobre la reproducción de los nematodos. *Glomus intraradices* pudo suprimir a *R. similis*, *P. coffeae* y en un menor grado, a la población de *M. javanica* en las raíces. El desarrollo interno y externo de los AMF no fue afectado por la presencia de estos nematodos fitoparásitos.

Aunque este sistema *in vitro* tiene varias limitaciones, aún existen muchas razones legítimas para utilizar este sistema con el fin de estudiar las interacciones entre los AMF y los nematodos. Los AMF desarrollan los apresorios, arbuscúlos y vesículos en la corteza de las raíces, producen un micelio extraradical profuso y muchas esporas y completan su ciclo de vida *in vitro*. La colonización temprana ocurre de manera similar a como se da bajo condiciones *in vivo*. Los nematodos *R. similis* y *P. coffeae*, pueden infectar y reproducirse en las raíces y causar daños similares, tanto a las raíces *in vitro*, como a las raíces *in vivo*. En adición, los efectos de la interacción reflejan a aquellos observados *in vivo*. Aunque el sistema dixénico utilizado es artificial, podría representar una herramienta valiosa para el estudio de la interacción entre los AMF y nematodos, como complemento a los enfoques experimentales clásicos. ■

**Mundo****Evaluación y diseminación**

del germoplasma mejorado de *Musa* con la participación de los agricultores INIBAP es la agencia ejecutiva de un importante proyecto de cuatro años de duración del Fondo Común de Productos Básicos, que empezó en noviembre de 2001. El objetivo de este proyecto consiste, en contribuir al mejoramiento de la seguridad alimentaria y de los ingresos de los pequeños agricultores en los sistemas de producción basados en banano, a través de la distribución y evaluación de los híbridos mejorados de *Musa*, convenientes para el consumo y comercialización locales. El proyecto involucra a siete países, a saber, República Democrática de Congo, Ecuador, Guinea, Haití, Honduras, Nicaragua y Uganda.

El proyecto se implementará en dos fases. La primera fase incluye la multiplicación del material de plantación de al menos diez variedades mejoradas de *Musa* en cada país y la distribución de estas plantas a los agricultores para que realicen la evaluación en sus fincas. Al menos 150 agricultores por país participan en estos ensayos. La segunda fase consistirá de un apoyo financiero en forma de préstamos a los pequeños agricultores para permitirles adquirir el material de plantación e insumos esenciales para la producción de híbridos mejorados a una escala mayor. El proyecto también incluirá estudios de mercado para los híbridos mejorados y la capacitación de los agricultores en las técnicas mejoradas de producción, enfatizando en el manejo integrado de plagas y enfermedades. El resultado principal de este proyecto será el aumento de la producción de híbridos mejorados de *Musa* por parte de los pequeños agricultores. Estas variedades producirán mayores rendimientos y requerirán químicos para el control de plagas y enfermedades. En adición, se les ayudará a los agricultores y empresarios a establecer negocios relacionados con el banano (producción del material de plantación para la venta, etc.), contribuyendo de esta manera a aumentar el ingreso de las comunidades rurales. Los principales beneficiarios serán los pequeños productores de banano.

*Para obtener más información, por favor contactar a Suzanne Sharrock, coordinadora de proyecto, en la sede de INIBAP.*

**Africa**

El Tercer Simposio Internacional sobre el marchitamiento bacteriano tuvo lugar en Africa del Sur del 4 al 8 de febrero de 2002

Al 3r Simposio Internacional sobre el marchitamiento bacteriano asistieron 110 cien-

tíficos de todo el mundo, quienes presentaron más de 100 trabajos oralmente o en forma de carteles. Los aspectos discutidos fueron los siguientes: epidemiología, manejo de la enfermedad, mejoramiento y desarrollo de la resistencia a la enfermedad, respuesta del hospedante y desarrollo de la enfermedad, genética del patógeno, diversidad y diagnóstico.

Se reporta que el marchitamiento bacteriano causado por *Ralstonia solanacearum* representa una de las principales limitaciones para la producción de muchos cultivos importantes como la patata, tomate, cacahuete, banano, tabaco y jengibre. En muchos casos, la enfermedad causa pérdidas de rendimiento muy significativas.

Aún existe una gran brecha en el progreso de las investigaciones entre los países desarrollados y en vías de desarrollo. En los países desarrollados los científicos generalmente están más interesados en los aspectos moleculares del patógeno como la genética del patógeno, diversidad y diagnóstico. Con excepción del diagnóstico, otros aspectos estudiados no están relacionados directamente con el control de la enfermedad. Por lo tanto, la investigación que realizan sobre el control de la enfermedad los científicos de los países en vías de desarrollo, donde la enfermedad es más seria y está más propagada, debe ser fortalecida. Ya se realizó algún trabajo sobre el mejoramiento y desarrollo de la resistencia a la enfermedad y se obtuvieron buenos resultados para el cacahuete y la patata. Sin embargo, hasta ahora poco se ha hecho con respecto a muchos otros cultivos importantes como el banano y jengibre.

**Genética del patógeno**

En los estudios del genoma de *R. solanacearum* se alcanzó un progreso significativo. El patógeno tiene un cromosoma de 3,716,413 pares de base (bp) y un megaplásmido de 2,094,509 bp, que conjuntamente codifican más de 5000 proteínas. El cromosoma alberga a todos los genes esenciales, mientras que el megaplásmido está involucrado en la biosíntesis de varios aminoácidos, cofactores y la capacidad de adaptación al ambiente. Existen alrededor de 200 genes candidatos para el poder patógeno distribuidos, tanto en el cromosoma, como en el megaplásmido. Esta información es esencial para comprender la biodiversidad en *R. solanacearum* en relación con la especificidad del hospedante. Tradicionalmente, las cepas de *R. solanacearum* se agrupan en cinco razas basándose en el rango de hospedantes, y cinco biovariedades o biovars basándose en la oxidación de ciertas fuentes de carbón.

Se ha propuesto un nuevo esquema de clasificación basada en los análisis moleculares de *R. solanacearum*. Las cepas de

*R. solanacearum* se clasifican en cuatro filotipos, como el Filotipo I 'Asia' (incluye biovars 3 y 4, razas 1, 4 y 5), el filotipo II 'América' (biovars 1 y 2, razas 1, 2 y 3), el filotipo III 'Africa' (biovars 1, 2), y el filotipo IV 'Indonesia' (biovars 1, 2, *Pseudomonas syzygii*, y la bacteria de la enfermedad sanguínea - BDB). Esta clasificación muestra que las cepas de Indonesia, incluyendo *P. syzygii*, que causa la enfermedad de Sumatra del clavo de olor, y la BDB en banano, son separadas de las otras cepas.

**Detección**

Se han desarrollado varios equipos de diagnóstico especialmente para los propósitos de cuarentena y para el monitoreo del patógeno en los materiales vegetales infectados sintomáticos y latentes, el agua superficial, el suelo, el lavado de los vegetales y en los desechos de procesamiento. Los métodos utilizados son el aislamiento selectivo y enriquecimiento, bioensayo, inmunofluorescencia, serología y la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Para el uso en los países en vías de desarrollo, los métodos de serología como ELISA son más apropiados ya que son menos costosos.

El 4º Simposio se celebrará en 2007, posiblemente en el Reino Unido.

La Sociedad Americana de Fitopatología publicará los trabajos presentados en el Simposio.

*Para obtener más información sobre el Simposio, dirigirse al Dr. Supriadi, Research Institute for Spice and Medicinal Crops, Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111, Indonesia Fax: (0251) 327010.*

**Asia y el Pacífico**

*Musa acuminata* en el norte de Borneo Un informe preliminar sobre el estatuto de *Musa acuminata* en el norte de Borneo fue preparado recientemente por Markku Häkkinen y Edmond De Langhe. Este informe se basa en una encuesta sobre *Musa* en Sabah, Sarawak y Brunei realizada por el primer autor en agosto de 2001. Aunque el enfoque principal de la encuesta se concentró en la sección Callimusa, también se tomó una gran cantidad de fotografías de *Musa acuminata*. Con la experiencia de Edmond de Langhe, se hizo una identificación taxonómica tentativa de las plantas.

Las fotografías mostraron que todas las plantas exhibieron las características básicas de *M. acuminata*, con el brote masculino típico en forma de cima, la inflorescencia y el racimo en posición horizontal u oblicua y dedos más bien delgados. Las flores eran de color blanco cremoso, pero no se puede observar los detalles en las fotografías.

Los especímenes en cuestión se dividían en cuatro categorías principales:

- *M. acuminata* ssp. *microcarpa* o *truncata*



- *M. acuminata* de estado incierto
- Diploides AA comestibles
- Accesiones no clasificadas.

### ¿Un grupo de *microcarpa-truncata*?

El resultado más importante de la visita de Häkkinen al norte de Borneo, un área muy poco explorada anteriormente con respecto a los bananos silvestres, es la dominación de una población de *M. acuminata* silvestre con una combinación de las características típicas de las subespecies *microcarpa* y *truncata*. Es la primera vez que la ocurrencia de tipos de brotes masculinos de color amarillo verde es registrada como carácter para estas subespecies. Es posible que las dos supuestas subespecies puedan en realidad formar una gran población compuesta, y es necesario realizar más estudios de este material en un banco genético en el campo para confirmar el estado de las accesiones en este grupo.

### *M. acuminata* de estado incierto

Varias accesiones tenían como característica un brote masculino imbricado, moderada, o fuertemente y las brácteas de color rosado, rojo o púrpura. Los brotes masculinos con brácteas visiblemente imbricadas son característicos para las subespecies *siamea* y *burmannica*, pero no son esperados en las *acuminata* en las islas de Borneo o de Indonesia, con la excepción de Java. Es necesario realizar más investigaciones para confirmar si estos son diploides comestibles o en realidad son plantas verdaderamente silvestres.

### Diploides AA comestibles

Varias plantas fueron registradas como diploides AA comestibles. Entre estas se encuentran las plantas que ocupan grandes áreas a lo largo de las carreteras, como lo hicieron las plantas realmente silvestres. Ya que no había poblados en la proximidad, estas plantas pueden representar los vestigios de poblaciones humanas de tiempos remotos.

### Conclusiones

Los descubrimientos presentados en este informe son claramente de naturaleza preliminar y tentativa, ya que se basan solo en los estudios de las fotografías. Sin embargo, proporcionan una base para estudios posteriores que, como lo esperan los autores, serán estimulados por este informe.

*Las copias de este informe, incluyendo fotografías a color de todas las accesiones, están disponibles en formato PDF en el sitio de Internet de INIBAP (<http://www.inibap.org/publications/borneo.pdf>) o en forma impresa en la sede de INIBAP en Montpellier.*

### Estudio de la asociación entre

#### los nematodos y bananos en Vietnam

Inge Van den Bergh, Científico Asociado Visitante de VVOB/INIBAP, trabajaba en el Departamento de Agrobiotecnología del

Instituto de Ciencias Agropecuarias de Vietnam (*Vietnam Agricultural Science Institute*, VASI), Hanoi, Vietnam desde el mes de octubre de 1997 hasta diciembre de 2001 para realizar un estudio sobre la asociación entre los nematodos y bananos en Vietnam.

El proyecto fue financiado por el ACIAR (*Australian Centre for International Agricultural Research*), INIBAP y VVOB (*Flemish Association for Development Cooperation and Technical Assistance*).

El proyecto tenía dos objetivos principales:

1. fortalecimiento de la capacidad: para mejorar la infraestructura local para la investigación nematológica y capacitar a los científicos locales en el campo de la nematología;
2. investigación científica: para ampliar los conocimientos sobre los diversos aspectos de la asociación entre los nematodos y bananos en Vietnam, con el fin de mejorar la producción bananera local. Específicamente:
  - obtener un cuadro más detallado de la ocurrencia de diferentes especies de nematodos en los bananos en varias regiones de Vietnam;
  - ampliar el conocimiento sobre las dinámicas de las poblaciones, los daños y el potencial de pérdida de rendimientos de las especies de nematodos de bananos más importantes;
  - cribar el germoplasma vietnamita de *Musa* con respecto a la resistencia a las especies de nematodos más importantes.

### Actividades emprendidas y resultados logrados

#### Fortalecimiento de la capacidad

Se mejoró la infraestructura general de los laboratorios y se compraron varios equipos. Se estableció una conexión de Internet y correo electrónico con el fin de mejorar la comunicación entre los diferentes socios del proyecto y con otros nematólogos del mundo, y tener acceso a la información en la red mundial.

En el transcurso del proyecto, dos miembros del personal del Departamento de Agrobiotecnología del VASI asistieron a un curso internacional de postgrado en nematología en Bélgica. En este respecto:

Duong Thi Minh Nguyet sustentó su tesis de Maestría (MSc) intitulada: «Estudios *in vivo* e *in vitro* de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* asociados con el banano» en 1999 (Promotor: Prof. D. De Waele).

Nguyen Thi Tuyet sustentó su tesis de Maestría (MSc) intitulada: «Cribado *in vitro* e *in vivo* para detectar la resistencia a *Radopholus similis* en *Musa*» en 2000 (Promotor: Prof. D. De Waele).

### Investigación científica realizada por el Científico Asociado Visitante de VVOB/INIBAP

#### 1. Evaluación de la ocurrencia y distribución de los nematodos en las especies silvestres de *Musa* en el hábitat natural del norte de Vietnam

Se realizaron tres viajes de estudio al hábitat natural en el norte de Vietnam y se tomaron muestras de raíces de tres especies silvestres de banano. Con excepción del *R. similis*, se encontraron las especies de nematodos más importantes de *Musa*, a saber, *Meloidogyne* spp., *P. coffeae* y *Helicotylenchus multicinctus*. Esto indica que los suelos naturales en Vietnam están infestados con estas especies de nematodos y que las tres especies silvestres de banano son susceptibles a estas especies de nematodos.

#### 2. Evaluación de la ocurrencia y distribución de los nematodos en los cultivares de *Musa* en el norte y centro de Vietnam

Se realizaron cinco viajes de estudio a seis provincias en el norte y centro de Vietnam y se tomaron muestras de raíces de tres genotipos de banano cultivados comúnmente. Nuevamente, se encontraron *Meloidogyne* spp., *P. coffeae* y *H. multicinctus*, pero no *R. similis*. Los parámetros de los daños mostraron una clara relación con la presencia de ciertas especies de nematodos en las raíces. Por ejemplo, la formación de las agallas y nudos en las raíces fue correlacionado positivamente con varias especies de *Meloidogyne* en las raíces, mientras que la necrosis radical fue correlacionada positivamente con el nematodo *P. coffeae* encontrado en las raíces.

#### 3. Influencia de una población de *Pratylenchus coffeae* y de *Meloidogyne* spp. sobre el crecimiento de la planta y rendimiento del banano

Una parcela fue sembrada con más de 150 plantas de banano, de las cuales un tercio fue inoculado con *P. coffeae*, un tercio con *Meloidogyne* spp. y un tercio fue dejado libre de nematodos (plantas testigo). Los resultados preliminares mostraron que la infección con *P. coffeae* y *Meloidogyne* spp. puede reducir la altura de las plantas y la cantidad de hojas en la planta, en comparación con las plantas testigo libres de infección.

#### 4. Dinámicas de una población de *Pratylenchus coffeae* recolectada en *Musa* en el Norte de Vietnam

La reproducción de *P. coffeae* en los discos de zanahoria bajo condiciones *in vitro* podría ser descrita mediante la ecuación de Gompertz:  $\log(\text{nem} + 1) = 0.725 + 2.561 \exp[-\exp(1.742(5.044 - \text{tiempo}))]$ .

De un experimento en el invernadero, repetido mensualmente durante el período de un año, se pudo observar que la temperatura tiene un fuerte efecto sobre la tasa de reproducción de *P. coffeae* en bananos. Durante los meses de invierno, la reproduc-

ción fue muy baja, mientras que durante los meses de verano, la población aumentó significativamente. La magnitud de la necrosis radical siguió más o menos el mismo patrón.

Se estableció un experimento en el invernadero para evaluar la influencia del riego sobre la reproducción de *P. coffeae*. La escasez de agua tuvo un fuerte efecto negativo sobre el crecimiento de la planta, mientras que los nematodos aún podían reproducirse bien. La aplicación de una gran cantidad de agua redujo ligeramente el crecimiento general de la planta, pero los nematodos apenas podían reproducirse. Un volumen intermedio de agua fue el mejor para el crecimiento de la planta, pero también favoreció la reproducción de los nematodos.

Se examinó la reproducción de una población de *P. coffeae* en las plantas de banano en el campo por más de un año. De los resultados preliminares se pudo observar, que la temperatura y la precipitación ejercen un efecto sobre la tasa de reproducción de los nematodos.

#### 5. Cribado del germoplasma de *Musa vietnamita* con respecto a la resistencia a una población de *Pratylenchus coffeae* en el invernadero

Veinticuatro genotipos vietnamitas de banano fueron cribados con respecto a la resistencia a *P. coffeae* en el invernadero. Los genotipos más prometedores son 'Tieu xanh', 'Tieu mien nam', 'Com chua', 'Com lua', 'Man' y 'Ngu thoc'.

#### 6. Cribado del germoplasma de *Musa vietnamita* con respecto a la resistencia a *Meloidogyne spp.* en el invernadero

Veintidós genotipos vietnamitas de banano fueron cribados con respecto a la resistencia a *Meloidogyne spp.* en el invernadero. No se encontraron fuentes de resistencia.

#### 7. Cribado del germoplasma de *Musa vietnamita* con respecto a la resistencia a *Meloidogyne spp.* en el campo

Ocho genotipos vietnamitas de banano, 'FHIA-01', 'FHIA-02' y 'Yangambi km 5' fueron evaluados con respecto a su respuesta como planta hospedante a *Meloidogyne spp.* bajo condiciones de campo. Los genotipos 'FHIA-01', 'Ngu thoc', 'Tay' y 'Com lua' resultaron ser menos susceptibles a *Meloidogyne spp.* Los genotipos 'FHIA-01', 'Ben tre' y 'Bom' resultaron ser menos sensibles a la actividad de formación de los nudos de *Meloidogyne spp.* La cantidad de especímenes jóvenes recuperados de las raíces fue fuertemente influenciada por el clima. Durante la estación fría y seca, su cantidad disminuyó muy significativamente. La cantidad de hembras ponedoras de huevos en las raíces (ELF) fue mucho menos influenciada por las condiciones ambientales: hubo un estancamiento durante la estación fría y seca, pero no disminución. *Meloidogyne spp.* parecen pasar el invierno en estado de

huevo. La formación de agallas y nudos en las raíces y la cantidad de hembras ponedoras de huevos en las raíces pueden ser utilizadas como parámetros fáciles para estimar la infección de *Musa* con *Meloidogyne spp.* No se observaron efectos de los nematodos sobre el crecimiento de las plantas. La cantidad de nematodos en las raíces parece estar relacionada con la etapa fisiológica de las plantas. Las cantidades más altas de nematodos fueron encontradas durante la floración.

#### Investigaciones científicas realizadas por Duong Thi Minh Nguyet y Nguyen Thi Tuyet

Duong Thi Minh Nguyet empezó un programa de investigación sobre la ocurrencia de *Radopholus similis* en Vietnam y sus aspectos morfológicos y biológicos. Se llevaron a cabo dos encuestas en Tay Nguyen (Altiplanicies Occidentales) con el fin de registrar la ocurrencia de *R. similis* en café, durian, bananos, etc. Una población de *R. similis* fue recolectada de las raíces de zanahoria y está siendo mantenida en discos de zanahoria bajo condiciones in vitro. Ya que *R. similis* es aún un patógeno que requiere cuarentena en Vietnam, Duong Thi Minh Nguyet se fue a Bélgica por tres meses a estudiar la población recolectada. Ella determinó que la temperatura óptima para la reproducción del *R. similis* de Vietnam en los discos de zanahoria fue 25°C. También comparó la reproducción de la población vietnamita con las poblaciones de Indonesia y Uganda.

Nguyen Thi Tuyet está estudiando la biodiversidad de *Pratylenchus coffeae* en Vietnam. Ella está recolectando las poblaciones de *P. coffeae* de varios cultivos y lugares en Vietnam con el fin de estudiar la diversidad morfológica, biológica y genética entre las diversas poblaciones.

Manejo integrado de la enfermedad del Mal de Panamá del banano en Kerala El marchitamiento del banano causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* es una amenaza seria para el cultivo de los bananos en Kerala. Los suelos ácidos del estado y la susceptibilidad de las principales variedades comerciales ofrecen una propagación fácil de la enfermedad a través de la región, causando una pérdida de rendimiento de 10-15%.

Entre los síntomas de la enfermedad que se manifiestan está el marchitamiento de las hojas más viejas, que se extiende rápidamente desde el margen hacia la vena media. Estas hojas se cuelgan marchitas alrededor del pseudotallo y la infección se propaga a todas las hojas con excepción de las superiores, que se cuelgan hacia abajo. El centro de la hoja también se marchita después de 3-4 semanas. La planta muestra rajadura longitudinal con abultamiento y elongación del pseudotallo.



Rajadura longitudinal de un pseudotallo de banano debido al Mal de Panamá.

Cuando el rizoma se abre, se puede observar la decoloración de los haces vasculares y el corte huele como a pescado podrido.

Una encuesta conducida por Estelitta *et al.* reveló que la enfermedad se encontraba presente en todos los distritos de Kerala causando serios daños al cultivo. También se observó que el 'Nendran', la variedad comercial más importante en el Estado era susceptible al Mal de Panamá, mientras que el grupo Cavendish, 'Palayankodan', 'Karpooravally' y las variedades de cocción como 'Monthan', 'Kanchikela', etc. no fueron afectadas por la enfermedad.

Se realizaron varios estudios en la Estación de Investigaciones de Banano en Kannara bajo la guía de la Universidad Agrícola de Kerala sobre las prácticas de manejo integrado para la enfermedad del Mal de Panamá. Se descubrió que el patógeno se desarrollaba en el suelo y su penetración en la planta hospedante se dio a través de las raíces. Ya que las conidias pueden sobrevivir en el suelo hasta por un período de siete años, se recomendó un conjunto de prácticas agronómicas basándose en los descubrimientos de los estudios.

La preparación del campo debe realizarse de manera sistemática. En las localidades afectadas por la enfermedad, se recomienda curar los hoyos por una semana o más y quemar el suelo con hojas secas. Es necesario sanear el campo, especialmente remover las malezas ya que ellas se convierten en hospedantes alternativos.

Se sugiere cultivar variedades tolerantes en las áreas propensas a la enfermedad. En otros casos, se debe seleccionar retoños de las áreas libres de la enfermedad. También se descubrió que la inmersión de los retoños cortados en una solución de carbendazim al 0.2% es una medida profiláctica eficaz.

Asimismo se descubrió que la aplicación de 1 Kg de cal por planta como enmienda del suelo al principio de la temporada de los monzones y un buen drenaje ayudaban a controlar la enfermedad.

Los estudios posteriores indicaron que el uso de los abonos orgánicos en el cultivo del banano podría ayudar al cultivo a resistir contra la enfermedad, probablemente debido a la estructura mejorada del suelo con mayor aeración.

En el caso de la ocurrencia de la enfermedad, se recomienda la remoción y destrucción de las plantas enfermas para controlar su futura propagación. La aplicación de 0.5–1 Kg de cal en los hoyos con plantas enfermas y alrededor de las plantas que los rodean también dio resultados alentadores para controlar la posterior propagación del patógeno.

De los experimentos realizados con diferentes químicos con el fin de controlar el Mal de Panamá, se descubrió que las inyecciones en los cormos de una solución de carbendazim al 2% con una dosis de 3ml por corno durante el 5º, 7º y 9º mes después de la siembra, podría ayudar a controlar la enfermedad. También se descubrió que la aplicación al suelo de carbendazim al 0.2% era eficaz.

Ya que las variedades comerciales de banano en Kerala a menudo se cultivan en extensos terrenos pantanosos, los estudios indicaron que la rotación de los cultivos, barbecho intermitente o inundaciones seguidas por barbecho son también vías eficaces para reducir la propagación de la enfermedad.

*Para mayor información, dirigirse a S. Estelitta, Profesor Asociado, Universidad Agropecuaria de Kerala, Mannuthy, Thrissur, Kerala, S. India.*

#### Compatibilidad cruzada de algunos clones de banano

Antes de iniciar un programa de hibridación en el mejoramiento de bananos, se debe evaluar la compatibilidad cruzada entre los pro-

**Tabla 1.** Detalles de los progenitores utilizados.

Progenitores femeninos	Progenitores masculinos
<b>Triploides</b>	<b>Triploides</b>
Karpooravalli (ABB)	Robusta (AAA)
Red banana (AAA)	Red Banana (AAA)
Rasthali (AAB)	
Nendran (AAB)	
<b>Diploides</b>	<b>Diploides</b>
Nivediyakadalli (AA)	Nivediyakadalli (AA)
Matti (AA)	Pisang lilin (AA)
Sannachengadalli (AA)	Sannachengadalli (AA)
Anaikomban (AA)	Anaikomban (AA)
Ambalakatadalli (AA)	Ambalakatadalli (AA)
Ney poovan (AB)	Erachivazhi (AA)
<b>Híbridos sintéticos</b>	<b>Híbridos sintéticos</b>
H-59 (AA)	H-59 (AA)
H-97 (AA)	H-97 (AA)
H-66 (AAA)	H-66 (AAA)
H-201 (AB)	H-201 (AB)

**Tabla 2.** Promedio de cuajado de las semillas en cruzamientos exitosos.

Nombre del cruzamiento	No. de flores polinizadas	No. de semillas obtenidas	Promedio de semillas por fruta
<b>3x X 3x</b>			
Karpooravalli x Robusta	150	187	1.250
<b>3x X 2x</b>			
Karpooravalli x Pisang lilin	185	5	0.027
Karpooravalli x H-110	120	8	0.067
<b>2x X 2x</b>			
Matti x Pisang lilin	30	30	1.000
H-201 x Anaikomban	102	152	1.490
H-201 x Pisang lilin	79	427	5.405
H-201 x H-110	53	90	1.700
H-201 x Anaikomban	11	24	2.182
H-201 x Pisang lilin	12	4	0.333
H-201 x Robusta	11	1	0.091

genitores deseados. Este trabajo se está llevando a cabo actualmente en la Universidad Agropecuaria de Tamil Nadu (TNAU) en India. Diecisiete variedades, incluyendo triploides y diploides comerciales, e híbridos sintéticos seleccionados en la TNAU fueron incluidos en este estudio (vea Tabla 1). Se recolectaron las anteras de los progenitores masculinos justamente antes de la dehiscencia y se extrajeron los granos de polen que luego se untaron a los estigmas de las flores femeninas de los progenitores femeninos el día de apertura, temprano en la mañana, entre las 6:00 y 9:00 a.m., cuando la receptividad de los estigmas fue buena y pegajosa al tacto. Después de la polinización, las flores se cubrieron con bolsas de papel perforadas. Al madurar, los dedos fueron cortados longitudinalmente y las semillas, si es que habían, eran extraídas con mucho cuidado.

Entre las 74 combinaciones cruzadas examinadas, la compatibilidad fue descubierta solo en ocho combinaciones (Tabla 2), indicando así la existencia de compatibilidad entre los clones. Los cruzamientos exitosos fueron entre diploide x diploide y triploide x diploide. De los 10 progenitores masculinos examinados, el 'Pisang lilin' y 'Anaikomban' fueron compatibles con todos los progenitores femeninos. El 'Nendran' que anteriormente fue registrado como progenitor femenino estéril (Alexander 1970) en esta investigación también fue confirmado como estéril. El estudio indicó que con excepción del 'Karpooravalli', los clones de importancia comercial tienen un porcentaje de fertilidad femenina muy bajo, y que los diploides son los mejores clones con respecto a la fertilidad femenina. Sin embargo, las semillas se establecieron bien en los cruzamientos triploide x triploide de Karpooravalli x Robusta, lo que indica la posibilidad de una nueva línea en el mejoramiento de los bananos, insertando el genoma de 'Cavendish' en nuevos híbridos. El H-201 (Pedigrí: Bareli china x Pisang lilin x Robusta) es un buen progenitor femenino y fue cruzado tanto con los progenitores diploides, como triploides (a saber, 'Robusta').

Sathiamoorthy y Balamohan (1993) reportaron que el H-201 era un progenitor femenino potencial particularmente en la síntesis de los triploides de origen biespecífico. La producción de semillas fue máxima en el cruce H-201 x Pisang lilin seguido por H-201 x Anaikomban y Karpooravalli x Robusta. En otras combinaciones exitosas, la producción de semillas fue muy baja a pesar de que los cruzamientos fueron compatibles.

#### Bibliografía

- Alexander M.P. 1970. Mega and microsporophyte fertility of some banana varieties. Pp. 27-28 in Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on Tropical and Subtropical Horticulture. Today and Tomorrow Publishers, New Delhi.
- Sathiamoorthy S. & T.N. Balamohan. 1993. Improvement of banana. in Advances in Horticulture Vol. I - Fruit Crops Part I. (K.L. Chadha and O.P. Pareek, eds). Malhotra Publishing House, New Delhi, India.

*Para obtener más información sobre este trabajo, por favor dirigirse a: V. Krishnamoorthy, Dept of Fruit Crops, Horticultural College and Research Institute, TNAU, Coimbatore-641003, Tamil Nadu, India.*

#### Recolección de germoplasma de banano en el noreste de India

Los estados del noreste de India, a saber, Assam, Arunachal Pradesh, Meghalaya, Tripura, Mizoram y Manipur son una rica fuente de diversidad natural de *Musa*. Desde 1998, INIBAP ha estado apoyando una serie de misiones de recolección de *Musa* en esta región. Estas misiones fueron dirigidas por el Centro Nacional de Investigaciones de Banano (*National Research Centre for Banana*, NRCB), Trichy. Se recolectaron los especímenes de la especies silvestres *Ensete glaucum*, *Musa balbisiana*, *M. acuminata*, *M. ornata* y otras especies *Rhodochlamys*, junto con una serie de variedades cultivadas. Todo el material recolectado fue establecido en el banco genético del NRCB para una identificación y caracterización formales.

En Arunchal Pradesh, se observó que en los lugares donde los bananos *Eumusa* y



**Tabla 3.** Detalles de las especies silvestres de *Musa* recolectadas durante la exploración en el noreste de India.

Género	Sección	Especie	Sitio de recolección	No. de accesiones	Uso
Ensete ornamental		<i>E. glaucum</i>	Assam, Tripur, Mizoram	1	Fibra, vegetal,
<i>Musa</i>	Eumusa	<i>M. balbisiana</i>	Assam, Tripur, Mizoram	1	Fruta, vegetal
		<i>M. acuminata</i>	Assam, Tripur, Mizoram	9	Fruta, vegetal
	Rhodochlamys	<i>M. ornata</i>	Assam, Mizoram	1	Ornamental
		No identificado	Assam, Tripur, Mizoram	5	-

Rhodochlamys crecían juntos, los bananos Rhodochlamys tenían una compatibilidad ecológica más estrecha con *M. acuminata* que con *M. balbisiana*, aunque *M. acuminata* claramente dominaba sobre las especies Rhodochlamys. En Assam, el Bhimkol, un clon *balbisiana* con semillas se cultiva ampliamente en los patios por sus cualidades medicinales. Aunque este clon tiene semillas, estas son suficientemente suaves para poder comer la fruta con las semillas. A través de la región, se observó una práctica inusual de vender brotes masculinos. Los brotes masculinos inmaduros de los bananos silvestres se cosechan aún antes de la brotación y se utilizan para la preparación de platos especiales.

Un resumen de las especies silvestres recolectadas durante las misiones, se presenta en la Tabla 3.

## Noticias de INIBAP

### Nuevo miembro del personal

**Hélène Laurence**, una interna financiada por el *Ministère des Relations internationales du Québec* se unió a INIBAP como Asistente de Investigación en enero de 2002. Su base está en la Oficina Regional de INIBAP en Kampala y empezará a trabajar en un estudio de tres años del impacto de las variedades mejoradas de banano (*Musa*) sobre la vida de las familias en África Oriental. Hélène trabajará estrechamente con los científicos de INIBAP y socios de los SNIA regionales. Hélène tiene un BSc en geografía y un MSc en agrometeorología.

**Olivier Guinard**, cuyo trabajo es también financiado por el *Ministère des Relations internationales du Québec*, se unió al programa de INIBAP en Montpellier como interno, en abril de 2002. Durante su internado de seis meses, trabajará en un proyecto utilizando la base de datos MGIS (*Musa Germplasm Information System* o Sistema de Información sobre el Germoplasma de *Musa*) con el fin de realizar una serie de estudios de seguimiento sobre las accesiones importantes de germoplasma y proyectar asignaciones geográficas para diferentes accesiones. Olivier viene de Québec donde obtuvo su licenciatura en biología con especialización en biología molecular y biotecnología en la Universidad de Quebec en Montréal y hace poco, su maestría.

### Curso de capacitación sobre el MGIS en África

Abril 22–27 de 2002, CARBAP, Nyombé, Camerún

Un curso de capacitación sobre el uso del Sistema de Información sobre el Germoplasma de *Musa* (*Musa Germplasm Information System*, MGIS) para el manejo de la información sobre los recursos genéticos de los bananos y plátanos (*Musa* spp.) se llevó a cabo recientemente para los curadores de germoplasma de *Musa* de África. El objetivo de este curso de capacitación consistió en proveer a estos curadores la pericia y las herramientas para un mejor manejo de la información relacionada con las accesiones en sus colecciones. El uso del MGIS también les permitirá realizar el intercambio de información sobre los recursos genéticos con otros investigadores y curadores a través del mundo. Este curso de capacitación se llevó a cabo gracias al apoyo financiero brindado por el Centro Técnico para la Cooperación Agropecuaria y Rural (*Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation*, CTA).

El curso de capacitación reunió a 23 participantes de África Occidental, Central, Oriental y del Sur (ver el listado abajo). El curso se realizó en francés e inglés con traducción asegurada por los capacitadores. Todos los documentos y materiales de capacitación se confeccionaron en ambos idiomas.

El curso incluyó la capacitación tanto en campo, como con computadoras. Los ejercicios en la identificación taxonómica y botánica de las variedades se llevaron a cabo en el campo utilizando el listado de los descriptores publicado por IPGRI, INIBAP y CIRAD. La gran colección de germoplasma que se mantiene en CARBAP proporcionó un recurso excelente para los ejercicios en el campo. Esta colección consiste de más de 400 accesiones, representando un rango muy grande de variedades africanas, especialmente plátanos, pero también incluye algunas variedades de los altiplanos de África Oriental.

Con respecto a la capacitación basada en computadoras, los participantes aprendieron a instalar el programa MGIS en sus computadoras, crear cuentas de usuarios, ingresar nuevos registros y realizar búsquedas de información en la base de datos global. También fueron capacitados en los procedimientos de intercambio de datos a través de la base de datos global.

Xavier Perrier, de la Unidad de Biometría de CIRAD, también presentó Musaid.win, un programa desarrollado por CIRAD para asistir en la identificación de variedades desconocidas. Este programa se entrega a todos los participantes en el curso del MGIS.

Los participantes estuvieron de acuerdo en que la capacitación les brindó una herramienta útil para el manejo de la información sobre los recursos genéticos y destacaron la importancia de recolectar y manejar esta información utilizando un formato estándar. El taller también proporcionó una oportunidad valiosa para que los curadores hicieran contactos con sus colegas de la región en general, así como identificar a las personas que puedan ayudarles en su trabajo futuro.

Después del curso de capacitación en MGIS, se celebró un taller sobre los "Nombres y sinónimos de plátanos" conjuntamente con los participantes de África Occidental y Central. El Dr Kodjo Tomekpe condujo el taller utilizando datos y fotos del MGIS. Se estableció un primer listado borrador de los nombres de las variedades que sería confirmado por estudios futuros de las variedades en el campo.

INIBAP agradece el apoyo valioso del CTA y CARBAP en la organización de este curso de capacitación.

### Listado de participantes

#### De las organizaciones nacionales

Sylvestre M. Rogers, Rice Research Station, Rokupr, Sierra Leona;  
 Guilavogui Zeze, Institut de recherche agricole de Guinée (IRAG), CRA Sérédoug, Guinea;  
 Simplicie Koffi Kouassi, Centre national de recherche agronomique (CNRA), Station de recherche de Bimbresso, Côte d'Ivoire;  
 Lawrence Aboagye, Plant Genetic Resources Centre, Niaouli, Ghana;  
 Flore Sindemion, Institut national de recherches agricoles du Bénin (INRAB), Centre de Recherche Agricole Sud, Benin;  
 Antoine Mputu Kena Kudia, Institut national pour l'étude et la recherche agronomique (INERA), Ndouaniang, RDC;  
 Clotilde Nngigone Ella, Institut de recherches agronomiques et forestières (IRAF), Gabón;  
 Fernand Mouketo, Centre de recherche agronomique de Loudima (CRAL), Congo;  
 Selome Y. Dogbe, Institut togolais de la recherche agronomique (ITRA), Togo;  
 Olagorite Adetula, National Horticultural Research Institute (NIHORT), Sede, Ibadan, Nigeria;  
 Robert Muhwezi, National Agricultural Research Organization (NARO), Kawanda Research Institute, Uganda;  
 Mkulila Shaban, Agricultural Research and Development Institute (ARDI), Tanzania;

Margaret Onyango, Kenya Agricultural Research Institute (KARI), Regional Research Centre – Kisii, Kenya;  
 Antoine Nsabimana, Institut des sciences agronomiques du Rwanda (ISAR), Rubona Station, Ruanda;  
 Ferdinand Ngezahayo, Institut de recherches agronomique et zootechnique (IRAZ), Station Mashitsi, Burundi;  
 Dickson L.N. Banda, Department of Agricultural Research and Technical Services, Bumbwe Research Station, Malawi;  
 Dejene Abera, Ethiopian Agricultural Research Organization (EARO), Melkassa Agricultural Research Station, Etiopía;  
 Connie Fraser, Institute for Tropical and Sub-Tropical Crops (ITSC), Burgershall Research Station, Africa del Sur.

### **De organizaciones regionales e internacionales**

William Nguéfack, Centre africain de recherches sur bananiers et plantains (CARBAP), Nyombé, Camerún;  
 Chyka Okarter and Perpetua Udu, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Onne research station, Nigeria;  
 Emmanuel Njukwe, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Mbalmayo, Camerún;  
 Deborah Karamura, INIBAP, INIBAP-ESA, Uganda.

### **Otros participantes**

Kodjo Tomekpe CARBAP, Nyombé, Camerún;  
 Ekow Akyeampong, INIBAP – MUSACO, Camerún;  
 Elizabeth Arnaud y Suzanne Sharrock, Sede de INIBAP, Francia;  
 Xavier Perrier, CIRAD, Francia.

### **Sistema geográfico de información (GIS) y diversidad de *Musa***

INIBAP esta investigando la posibilidad de utilizar un programa GIS (DIVA) recientemente desarrollado para el análisis espacial de la información sobre los recursos genéticos de *Musa*. DIVA estuvo desarrollado por el Centro Internacional de la Papa (CIP) con apoyo de la FAO, del CGIAR's System-wide genetic resources programme (SGRP) y del IPGRI. Un curso de capacitación sobre el uso del programa y la evaluación de su potencialidad para los datos del MGIS, especialmente para los datos recordados durante las misiones de colección de germoplasma tuvo lugar recientemente en la sede de INIBAP en Montpellier. INIBAP espera poder utilizar el programa DIVA-GIS para lo siguiente:

- Predicción de la ubicación de especies/variedades particulares;
- Predicción de la zona donde se podría encontrar de manera casi segura germoplasma con cualidades específicas;

- Identificación de áreas de alta diversidad genética y de especies;
- Identificación de los vacíos en la cobertura de las misiones de colección de germoplasma (comparación con las áreas de producción);
- Documentación de los efectos potenciales de los cambios de clima y de otros factores potenciales de erosión genética sobre la distribución de las especies silvestres;
- Comparación de la distribución de las especies con la de las enfermedades y plagas;
- Predicción y evaluación del impacto, por ejemplo de las nuevas variedades.

Más información sobre el programa DIVA esta disponible en el sitio web del CIP (<http://www.cipotato.org/diva/>). El programa es gratis y se puede descargar del sitio web así como su manual para usuarios

### **Quinta reunión del Comité Asesor regional de MUSACO**

Del 11 al 12 de febrero de 2002, el Comité Asesor regional de la Red de Investigación de Bananos y Plátanos para Africa occidental y central, MUSACO, se congregó en Cotonou, Benin para su reunión anual. Asistieron los representantes de Benin, Camerún, República de Congo, Côte d'Ivoire, Gabón, República Democrática de Congo, Ghana, Guinea, y Sierra Leone, así como los representantes de CARBAP (anteriormente CRBP) IITA e INIBAP. En esta reunión, Togo fue admitido como el 13<sup>er</sup> miembro de la red.

En un discurso de inauguración oficial, el Dr David Arodokoun, Director científico del *Institut national des recherches agricoles du Bénin*, actuando en representación de su Director General, subrayó que los bananos y plátanos representan cultivos que podrían contribuir a la seguridad alimentaria y nutricional, alivio de la pobreza y creación de empleos en Benin. El banano y plátano son los dos cultivos que Benin está promoviendo actualmente como la base de cultivos alimentarios. El Dr Arodokoun informó que el 33% de las familias en Benin consumen regu-

larmente los plátanos y que la producción de *Musa* en el país ha aumentado de 22 000 toneladas en 1998 a 45 000 en 2001. Expresó la esperanza de que las investigaciones que se llevan a cabo en el marco de la red ayudarán a encontrar soluciones para las limitaciones con las cuales se enfrentan los agricultores en Benin, como la falta de materiales de plantación limpios, las plagas y enfermedades y la transformación postcosecha de la fruta.

### **Aprobación del informe de la reunión en Accra**

En el primer orden del día se aprobaron las minutas de la última reunión del Comité Asesor regional celebrado en Accra, en abril de 2001. Antes de que los miembros lo hicieran, ellos querían saber si las recomendaciones de aquella reunión fueron implementadas. El Presidente y el secretario proporcionaron la siguiente información sobre las recomendaciones realizadas en Accra:

- El curso de capacitación sobre enfermedades causadas por *Mycospharella* spp. se llevó a cabo en Malasia en junio de 2001. El Dr Kobenan Kouman de CNRA, Côte d'Ivoire, y el Dr Ekow Akyeampong fueron los dos participantes de Africa occidental y central. Un segundo curso de capacitación sobre el manejo post-laboratorio de las plántulas provenientes de los cultivos de tejidos y sobre la multiplicación rápida de los materiales de plantación de *Musa* fue organizado en CARBAP, Nyombé, del 2 al 7 de diciembre de 2001 para los países miembros francófonos de la red.
- Nueve países que recibieron financiamiento de INIBAP han recolectado y enviado la información básica secundaria al secretariado de la red. Un oficial profesional joven enviado a la oficina por la FAO está preparando un informe.
- Con respecto a la participación en los grupos de trabajo de PROMUSA por parte de los científicos de la subregión, sólo Benin,



Participantes de la 5ª reunión de MUSACO.



Côte d'Ivoire, Gabón y Ghana enviaron los nombres de los investigadores al secretariado de PROMUSA por medio del Dr Adiko, representante de Africa occidental y central en el Comité Asesor de PROMUSA.

- Al momento de la reunión no se escuchó nada de CORAF con respecto a 8 iniciativas elaboradas en colaboración con el CARBAP, que fueron enviadas en respuesta a su solicitud de proyectos.
- En cuanto a las becas del IITA, los miembros fueron informados que el Sr Ben Banful, representante anterior de Ghana ante el Comité Asesor de MUSACO recibió una beca del IITA para los estudios de doctorado (PhD).

#### Noticias de *Musa* por países

El representante de cada país presentó un breve informe sobre las nuevas actividades que se están realizando en sus países. Con el fin de popularizar la producción de bananos y plátanos en Sierra Leona, en cuatro distritos se han establecido viveros y parcelas de demostración. Estas instalaciones se extenderán a cuatro distritos más. Asimismo, se recolectaron las variedades locales y se sembraron para los propósitos de caracterización.

Igual que en Sierra Leona, para lanzar nuevamente la producción de bananos y plátanos en el litoral y en las regiones boscosas de Guinea (Conakry), se establecieron viveros con el fin de producir materiales de plantación limpios que serán distribuidos a los agricultores. Entre las variedades que se distribuirán entre los agricultores se encuentran los híbridos del IITA y CARBAP.

Se planea realizar estudios en Côte d'Ivoire con el fin de explicar la observación de que *Pratylenchus* spp. parece reemplazar *Radopholus similis* como el principal nematodo en *Musa*. El IITA está interesado en el tema de los cambios en la composición de las especies y considerará el ofrecimiento de una beca de doctorado para trabajar en este tema, en colaboración con la Universidad Católica de Lovaina. Se recomendó efectuar una encuesta nematológica en todos los países miembros para determinar si la diversidad de los nematodos y la abundancia relativa de las especies sigue siendo la misma que antes.

Otra nueva actividad en Côte d'Ivoire es la tecnología de siembra de alta densidad que los científicos de este país están investigando en una estación. Los ensayos de la alta densidad de siembra que se están llevando a cabo en Côte d'Ivoire y también en Camerún son el seguimiento de una visita que realizaron diez científicos, agricultores y agentes de extensión de Africa central y occidental a la República Dominicana y Costa Rica con el fin de estudiar las tecnologías de producción de plátanos con alta densidad de siembra que se utiliza en estos países. La delegación

estuvo impresionada con los aumentos de rendimientos de hasta 60% que se están obteniendo en América Latina y en la región del Caribe del manejo del plátano 'Falso Cuerno', como un cultivo anual con densidades de 2500 a 5000 plantas por hectárea.

El nuevo representante de Ghana ante el Comité Asesor, Dr Anno-Nyako, informó a los presentes que en Ghana ya empezó el mejoramiento de *Musa*. En Gabón se estableció un laboratorio de fitobiología con una unidad de cultivo de tejidos.

Participando por primera vez en la reunión, el representante de Togo, Dr S. Dogbe, brindó un resumen de la investigación de bananos y plátanos en su país. Los bananos y plátanos se cultivan en la zona donde se siembra cacao y café como un cultivo de sombra para los cultivos comerciales. El programa tiene un banco genético en el campo que consiste de 32 accesiones, muchas de las cuales tienen su origen en Ghana. El problema principal al cual se enfrenta la producción de los cultivos en Togo es la falta de materiales de plantación de buena calidad.

#### Actualización sobre los proyectos regionales

Los miembros informaron sobre los dos proyectos regionales, evaluación del germoplasma de *Musa* y producción de *Musa* en el perímetro urbano.

Los ensayos de evaluación de germoplasma se han establecido en casi todos los países miembros de la red, pero solo en Côte d'Ivoire se cosechó el primer cultivo. Se informó que 'FHIA-23' es el más productivo entre los bananos ('FHIA-01', 'FHIA-18' y 'SH-3460') que están siendo evaluados en Côte d'Ivoire, pero también tiene el ciclo de cultivo más largo. La presión del inóculo de la enfermedad de la Sigatoka negra fue tan alta durante la cose-



'CRBP-39', uno de los híbridos seleccionados para el proyecto de cultivo en perímetro urbano. (Foto: CRBP)

cha, que la variedad susceptible de plátano 'Orishele' virtualmente no tenía hojas funcionales. Consecuentemente, los pesos de los racimos de 'Orishele' fueron bajos en comparación con el híbrido resistente, 'CRBP-39', que mantuvo seis hojas verdes hasta la cosecha. Se están llevando a cabo pruebas para determinar la aceptación de los consumidores de las frutas, pero aún no están disponibles.

El proyecto de cultivo de *Musa* en el perímetro urbano está progresando en Benin con las vitroplántulas proporcionadas por el CARBAP. Entre los híbridos establecidos en Benin se encuentran 'FHIA-25', 'FHIA-18', 'FHIA-23' y 'CRBP-39'. La supervivencia de las plantas en el campo fue muy alta, igual que el entusiasmo de los 40 agricultores participantes. La visita a algunas de las fincas generó un gran interés ya que las plantas se desarrollaban muy bien. Los investigadores y agricultores intercambiaron puntos de vista sobre los enfoques de participación de los últimos en la investigación. Estas discusiones continuaron cuando los científicos retornaron al lugar de la reunión al día siguiente. Una encuesta sobre la producción de *Musa* en el perímetro urbano en Benin reveló que el 56% de los productores de *Musa* cultivan plátanos en una parcela promedio de 0.8 ha. También en Benin, se menciona que el suministro inadecuado de los materiales de siembra se convierte en un cuello de botella para la expansión de la producción.

El proyecto de producción en el perímetro urbano realmente no ha arrancado en Ghana, ya que la institución nacional que debía proporcionar los materiales de siembra, falló. Los materiales importados de Africa del Sur fueron aclimatados y serán suministrados a los agricultores al principio de la estación lluviosa.

Instituciones internacionales y regionales CARBAP e IITA enviaron una delegación de varios científicos cada uno para presentar diferentes áreas de investigación de *Musa* en sus centros. El Dr Lutiladio en representación de la FAO habló sobre la colaboración de esta institución con la red.

CARBAP presentó los avances de sus programas referentes al mejoramiento de los plátanos, agronomía y sistemas integrados, fitopatología y plagas con el enfoque de manejo integrado de plagas (enfermedades de las manchas foliares, nematodos y picudo negro), tecnologías postcosecha y socioeconomía. Entre los logros del centro se encuentran el desarrollo y transferencia de las técnicas de multiplicación *in vivo* para producir grandes cantidades de materiales de plantación limpios, y un híbrido parecido al plátano, 'CRBP-39', que fue liberado y distribuido en la red MUSACO a más de cuarenta países alrededor del mundo en el marco del 3º Programa Internacional de Evaluación de



*Musa* coordinado por INIBAP. Fueron creados triploides secundarios con resistencia a las enfermedades por diferentes esquemas de mejoramiento y también se encuentran bajo la evaluación híbridos de plátano de baja estatura y con rendimiento temprano. Se han desarrollado bocadillos en base al plátano, formulas y harinas infantiles.

Las presentaciones del IITA se referían a la investigación con la participación de los agricultores, manejo integrado de plagas, mejoramiento de *Musa* y agronomía. En las evaluaciones con la participación de los agricultores realizadas en el este de Nigeria, los agricultores prefirieron el 'PITA-14', uno de los híbridos del IITA de tipo plátano, al 'Agbagba', la variedad local. 'PITA-14' también dio retornos financieros más altos. Se le informó a la reunión sobre un proyecto piloto apoyado por USAID en el cual se están evaluando los híbridos desarrollados en CARBAP, IITA y FHIA en las fincas de los agricultores en Nigeria. Se espera que después de la fase piloto el proyecto se expandirá a otros países en África occidental y central. El IITA continúa desarrollando híbridos de plátano con resistencia o tolerancia a las enfermedades superiores, incluyendo enfoques fisiológico genéticos y biotecnológicos prácticos para controlar el virus del rayado del banano, y buenas características agronómicas como producción precoz, estatura baja y buen enraizamiento. La investigación del manejo integrado de plagas incluye métodos de desarrollo y evaluación como es el uso de agua hirviendo para sanear los retoños contaminados con plagas. También se llevan a cabo estudios para determinar la eficacia de las plantas nematocidas como la *Flemingia* intercalada en los campos de plátanos.

Se hizo una breve descripción de los cuatro proyectos de INIBAP, a saber, manejo de germoplasma, mejoramiento de germoplasma, información y comunicaciones y redes regionales y se mencionaron las actividades que se realizan en África con respecto a cada uno de ellos. También se presentaron los objetivos y el *modus operandi* de PROMUSA, programa global para el mejoramiento de *Musa*, coordinado desde la sede de INIBAP.

El representante de la FAO ante la reunión, Dr Lutaladio, explicó los antecedentes de la colaboración entre su departamento e INIBAP. En 1999, AGPC/FAO e INIBAP discutieron la colaboración en la recolección e intercambio de información y transferencia de tecnología. Se contrató un oficial profesional joven quien fue enviado al secretariado de INIBAP/MUSACO para que desarrolle los instrumentos para la recolección y compilación de la información básica e incorpore la información recolectada al HORTIVAR, una base de datos sobre el desempeño de los cultivos hortícolas, en relación con las condiciones ambientales y prácticas de cultivo. En

adición, su obligación incluía ingresar la información en el programa de horticultura urbana y periurbana en relación con la seguridad alimentaria y asistir en el desarrollo de propuestas de proyectos. El Dr Lutaladio informó a los reunidos que el oficial profesional joven preparó informes preliminares sobre las diferentes tareas que se le habían asignado al empezar su trabajo.

En el futuro inmediato la FAO asistirá al menos a dos países miembros de MUSACO en relación con el diseño de proyectos para el mejoramiento de la producción de bananos y plátanos para los productores a pequeña escala, a través del establecimiento de sistemas de multiplicación eficaces y rentables para la producción de materiales de plantación libres de enfermedades. La FAO colaborará con MUSACO, CARBAP e IITA en cuestiones de recolección y caracterización de germoplasma de *Musa* en la cuenca de Congo, ampliación de las facilidades de cultivo de tejidos y viveros en ciertos países y capacitación de los investigadores en el manejo de las plántulas provenientes de los cultivos de tejidos, indización para detectar los virus y producción rápida de los materiales de plantación. Finalmente, la FAO asistirá en el desarrollo de un protocolo para la propagación masiva y distribución de materiales de plantación de calidad.

#### Funcionamiento de la red

Los delegados discutieron las vías para mejorar la operación de la red. Para empezar, se acordó el establecimiento de los grupos de trabajo basándose en las prioridades identificadas de investigación. Estos grupos se reunirán a medida que sea necesario dependiendo de los recursos disponibles. Se debe formar inmediatamente grupos de trabajo en (1) multiplicación rápida de los materiales de plantación sanos; (2) sistemas rentables de producción de plátano y (3) investigación con la participación de los agricultores. Se le solicitó al secretario de la red identificar a los líderes para los tres grupos de trabajo. Las actividades propuestas por los grupos de trabajo serán aprobadas y su implementación supervisada por los comités asesores regionales. La insatisfacción que existe actualmente con los enlaces de comunicación entre los miembros y entre los miembros y el secretariado, fue atribuida a la falta de la tecnología moderna de información en muchas estaciones de investigación donde se basan los programas de *Musa*.

#### Recomendaciones

La asamblea propuso las siguientes recomendaciones:

1. Se debe realizar una encuesta en todos los países miembros para determinar la diversidad y predominio de los nematodos de *Musa* en África Occidental y Central;

2. INIBAP, IITA y CARBAP deben asistir a MUSACO en la organización de cursos de capacitación sobre la evaluación de germoplasma y métodos de investigación con la participación de los agricultores;
3. Todos deben esperar los resultados de los ensayos con respecto a la tecnología de siembra de alta densidad que se están llevando a cabo por el CNRA en Côte d'Ivoire y por el CARBAP en Camerún antes de disseminar esta tecnología a los agricultores;
4. En el marco de la red se debe crear inmediatamente grupos de trabajo en (a) multiplicación rápida de los materiales de plantación sanos; (b) sistemas de producción de plátanos rentables y (c) investigación con la participación de los agricultores;
5. Se debe desarrollar una gran propuesta para buscar fondos con el fin de equipar a todos los programas nacionales con el equipo tecnológico moderno básico y acceso a Internet.

#### MUSACO 2003

La siguiente reunión del Comité Asesor será auspiciada por IRAG en Guinea (Conakry) durante la primera semana de marzo del 2003, bajo la presidencia del Sr Bernadin Lokossou, representante de Benin quien fue electo para reemplazar a la señora Adèle Sambo de Gabón.

#### 2º Taller internacional sobre las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* spp. en bananos

San José, Costa Rica, 20–23 de Mayo de 2002

Este taller fue organizado por INIBAP en colaboración con la *Corporación Bananera Nacional* (CORBANA), la *Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda* (EARTH) y el *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza* (CATIE). Después de los 13 años que pasaron desde la última reunión internacional concerniente a este tema, este taller brindó una ocasión propicia para analizar la situación actual con respecto a las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* spp. a escala global. La reunión también permitió sugerir nuevas líneas de investigación y facilitar la nueva orientación de los programas de mejoramiento y estrategias de la biotecnología para el mejoramiento genético de los bananos y plátanos.

Más de 60 científicos asistieron al taller, tanto de los sectores privados, como públicos, representando a más de 16 países diferentes de América Latina y el Caribe, Europa, África, Asia y el Pacífico, incluyendo Australia.

Con el fin de maximizar los resultados de la reunión y garantizar el desarrollo de nuevas estrategias para el control de diferentes enfermedades causadas por

*Mycosphaerella*, la participación en este taller fue sólo por invitación. Sin embargo, los resultados de la reunión serán diseminados ampliamente a través de la publicación de las memorias.

La reunión fue inaugurada por el Dr Jorge Sauma, Director de CORBANA. El Dr Emile Frison, Director de INIBAP, dio la bienvenida a todos los participantes y rindió un homenaje a Ramiro Jaramillo Celis, anterior coordinador regional de INIBAP para América Latina y el Caribe, en reconocimiento de su contribución invaluable y esfuerzos incansables dedicados al desarrollo de la red regional de investigación de *Musa*. La inauguración oficial fue efectuada por el Dr Salvador Monge, Director Ejecutivo de la Secretaría de Planificación Sectorial del Ministerio de Agricultura de Costa Rica.

El taller se organizó en torno a cinco tópicos principales: 1) Impacto de las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* en los bananos; 2) Biología y epidemiología de las poblaciones; 3) Interacciones entre el hospedante y el patógeno; 4) Mejoramiento genético para el manejo de una resistencia duradera y 5) Manejo integrado de enfermedades.

Durante el taller, los participantes tuvieron la oportunidad de aprender sobre la distribución e impacto de las diferentes enfermedades causadas por *Mycosphaerella* en varios países alrededor del mundo. Al final de cada sesión se celebraron discusiones para permitir identificar o refinar las prioridades de investigación y actividades correspondientes, con el fin de reducir significativamente el impacto de estas enfermedades y así convertir a *Musa* en un cultivo sostenible y más productivo.

#### Sesión 1. Impacto de las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* spp. en bananos

Los trabajos de introducción presentaron información sobre la diseminación global, distribución actual e impacto de los tres patógenos de la mancha foliar *Mycosphaerella*: *M. musicola*, *M. fijiensis* y *M. eumusae*. En otros trabajos se describieron técnicas desarrolladas en Australia para hacer un diagnóstico rápido de *M. musicola* y *M. fijiensis*, los efectos de *M. musicola* y *M. eumusae* sobre el cultivo de bananos en África del Sur y el impacto de *M. fijiensis* en Cuba, Brasil y Asia tropical. También se describió el último trabajo taxonómico emprendido sobre el anamorfo de *M. eumusae* y en otras especies de *Mycosphaerella*. *M. fijiensis* continua propagándose a nuevas áreas. Entre 2000 y 2002, el patógeno fue identificado por primera vez en Madagascar, las Bahamas, y las Islas Galápagos de Ecuador y en el área de cultivo bananero en el norte de Queensland, donde se están haciendo intentos para erra-



Compartiendo información sobre las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* spp. durante la visita a la estación de investigaciones de CORBANA en Guápiles. (Foto: C. Picq, INIBAP)

dicarla. La mancha foliar *M. eumusae* también ha sido observada en 'Mysore' (AAB) en Sri Lanka. Ya que este clon tiene una fuerte resistencia a *M. musicola* y *M. fijiensis*, este hecho representa alguna preocupación.

Se acordó que se necesita reunir más información taxonómica sobre *Mycosphaerella* spp., así, como información sobre otros géneros relacionados que producen u ocurren en las lesiones de las hojas de banano. Un mayor conocimiento de los patógenos y saprofitos de *Mycosphaerella* y aquellos de géneros relacionados, es un prerrequisito para el desarrollo de las pruebas de diagnóstico rápido con el fin de distinguir los patógenos de las manchas foliares. También es necesario investigar la distribución exacta de *M. eumusae*. Es necesario realizar más encuestas en el Sur y Sureste de Asia para determinar donde ocurren *M. musicola*, *M. fijiensis* y *M. eumusae*. Se necesita obtener más información sobre el efecto de *M. eumusae* en el crecimiento y rendimiento de los clones de banano. La información disponible sugiere que el Cavendish y los cultivos de plátano son muy susceptibles.

#### Sesión 2. Biología y epidemiología de las poblaciones

La variabilidad de la patogenicidad y distribución, fuentes de resistencia, epidemiología y estructura de las poblaciones de las principales especies (*M. fijiensis*, *M. musicola* y *M. eumusae*) a escalas nacional, regional e internacional, fueron definidas como información fundamental para alcanzar el éxito continuo en la producción bananera. Estos estudios son particularmente necesarios en Asia, que es el centro de diversidad de los tres patógenos y donde hasta ahora se hizo muy poca investigación. Un estudio sobre la evolución de las relaciones entre el hospedante y el patógeno para los tres patógenos, que involucraría particu-

larmente a los cultivares resistentes, y cuyo fin sería identificar las poblaciones de patógenos que podrían eliminar la resistencia de las plantas y evaluar la presión de la selección esta particularmente requerido. Se recomienda emplear herramientas moleculares como microsatélites para monitorear la variabilidad genética de las poblaciones del patógeno y la patogenicidad debe ser evaluada de manera concurrente. Se necesitan estudios epidemiológicos, incluyendo la dispersión de la enfermedad, para entender mejor la distribución y propagación del patógeno, los cuales complementarán, junto con los estudios de patogenicidad y variabilidad genética, toda la información requerida para anticipar la evolución de las poblaciones del patógeno y definir las estrategias para el manejo de la enfermedad.

#### Sesión 3. Interacciones entre el hospedante y el patógeno

Se han reportado varios casos de un nivel de susceptibilidad inesperado a la enfermedad de la raya negra de la hoja (BLS). Aunque se ofrecieron diferentes razones para explicar el fenómeno (nutrición pobre, estrés ambiental), el problema de erosión de la resistencia no puede ser ignorado y requiere de una precisa caracterización de la población del patógeno. Aún se necesita lograr un mayor entendimiento de los mecanismos involucrados en las interacciones entre la planta y el patógeno con el fin de asegurar un éxito a largo plazo de los programas de mejoramiento. También se necesitan más estudios para comparar el efecto de la infección por cada uno de los tres patógenos (*M. fijiensis*, *M. musicola* y *M. eumusae*) sobre las plantas hospedantes.

Otros patosistemas (como *Magnaporthe grisea*) han mostrado la naturaleza poderosa del enfoque genético para identificar sin ningún *a priori* los factores de patogenicidad. Estos enfoques incluyen el estudio de la



expresión génica durante la producción de mutantes de patogenicidad, técnicas genómicas comparativas y de validación de las funciones de los genes. Consecuentemente, se recomendó el desarrollo de las herramientas de biología genética y molecular para *M. fijiensis* en colaboración con los grupos de *M. graminicola*, así como el lanzamiento de una iniciativa genómica para evaluar las herramientas genómicas y establecer una comparación a escala genómica de *M. fijiensis* con *M. graminicola*.

También se recomendó estudiar los diferentes mecanismos de resistencia (parcial o vertical).

#### Sesión 4. Mejoramiento genético para un manejo de resistencia duradera

Durante esta sesión, se presentó el progreso alcanzado en la creación de nuevas variedades resistentes a la BLS, a través de tecnologías convencionales y modernas. Nuevos híbridos tetraploides resistentes a la BLS ya están disponibles y algunos de ellos están cultivándose alrededor del mundo. Sin embargo, debido a la falta de nuevas fuentes de resistencia y a la presencia de la forma activable del virus del rayado del banano (BSV) en híbridos interespecíficos (A x B), la producción de una nueva generación de híbridos triploides está en un serio jaque mate. Se reportó un buen progreso en el desarrollo de una serie de herramientas moleculares para los bananos y plátanos en el área de la transformación genética permitiendo la producción de plantas transgénicas de banano.

El estudio de la diversidad del genoma de *Musa balbisiana*, utilizando, tanto la caracterización morfológica, como molecular, fue la primera recomendación de esta sesión. También se recomendó que en anticipación a las necesidades de los programas de mejoramiento genético, evaluar los genomas T y S, de *Musa textilis* y de *Musa schizocarpa* respectivamente.

Las técnicas de inducción de la mutación ya no deberían ser vistas como una estrategia independiente de mejoramiento genético, sino más bien como una herramienta que puede contribuir a los programas de selección aumentando la diversidad genética de las líneas parentales. Los mutantes también podrían ayudar al entendimiento de los mecanismos de resistencia (genómica funcional).

#### Sesión 5. Manejo integrado de enfermedades

Las estrategias de control de las Sigatocas amarilla y negra en el banano pueden, de acuerdo al país y escala de producción, incluir no sólo prácticas químicas y culturales, sino también el uso de cultivos mixtos o clones resistentes. También se reportó sobre el efecto inhibitor importante de algunas sustancias naturales derivadas de los micro-

organismos antagonistas de los hongos y su eficacia en la reducción del desarrollo *in vitro* de *M. fijiensis*.

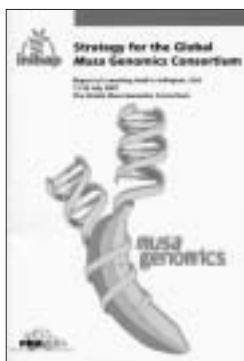
Se recomendó la integración de especialistas de varias disciplinas para facilitar el desarrollo de un enfoque para el manejo integrado de plagas (IPM), factible para las enfermedades de las manchas foliares del banano. Los participantes en el taller también recomendaron investigar el potencial de sustancias naturales o sintéticas capaces de promover o activar la resistencia adquirida de modo sistémico en su sentido más amplio.

Las memorias del taller serán publicados en breve por INIBAP. Esta publicación incluirá los trabajos completos de todas las presentaciones y un resumen de las discusiones y recomendaciones. Se espera que las memorias se conviertan en documento de referencia de las enfermedades de *Mycosphaerella* para los próximos diez años.

#### Libros etc.

#### Strategy for the Global Musa Genomics Consortium

Informe de la reunión celebrada en Arlington, EEUU, julio 17-20, 2001  
ISBN: 2-910810-48-08



El Consorcio global de la genómica de *Musa* fue lanzado en una reunión celebrada en Arlington, Virginia. Esta reunión fue muy importante con respecto al establecimiento de un cimiento sólido para la futura colaboración en la genómica de *Musa* y permitió dar los primeros pasos hacia el desarrollo de una estrategia coherente para este consorcio.

Este documento en inglés pone a disposición información fundamental más extensa sobre el establecimiento del Consorcio y sus metas y objetivos. También proporciona una reseña del estado actual de la investigación en el área de la genómica de *Musa* y brinda detalles sobre la naturaleza y proporción del trabajo que será realizado por los miembros del Consorcio. Se propone información sobre una estrategia en incremento desarrollada por el Consorcio, con el fin de lograr sus objetivos y el *modus operandi* propuesto, tal como se acordó en la reunión de Arlington. Los anexos ofrecen mayores detalles.

Ejemplares del libro están disponibles en la sede de INIBAP.

#### Addenda a los 'Descriptoros para el banano (*Musa* spp.)'

Para completar la versión revisada de los "Descriptoros para el banano, *Musa* spp." y responder a la demanda de Africa oriental, caracteres adicionales específicos para los bananos de altiplanos de Africa oriental fueron incorporados como un addenda en 2001. Los descriptoros para *Musa* son únicos al incluir un mapa a color. Este mapa ayuda a obviar la naturaleza subjetiva del registro de colores y establece un entendimiento común de estos caracteres.

Copias de los descriptoros y su addenda están disponibles en la Sede de INIBAP.

#### Resúmenes analíticos de la investigación sobre plátano en Colombia

Editado por D.G. Cayón y F. Salazar Alonso  
ISBN: 958-96885-1-9



CORPOICA ciertamente podría estar muy orgullosa por el esfuerzo que realizó recientemente en la identificación, análisis y compilación de la información existente sobre la investigación del plátano y transferencia de tecnología en Colombia, presentada bajo el título "Resúmenes Analíticos de la Investigación sobre Plátano en Colombia". Este producto informativo constituye un inventario único de la mayor parte de la literatura científica publicada sobre este tema incluyendo la literatura gris. Incluye 792 resúmenes e índices temáticos y por autores que hace la búsqueda más fácil para el lector.

Este importante documento en español se encuentra disponible en formato, tanto electrónico (base de datos en CD-Rom) como impreso (400 páginas) y ciertamente será muy apreciado por todos aquellos vinculados a la cadena productiva de plátano alrededor del mundo.

El documento está disponible según pedido en: CORPOICA, Apartado Aéreo No 1087, Av. Bolívar, Sector Regivit 28 Norte, Armenia, Quindío, Colombia - Fax: (57-6) 7496331 y en la Oficina de INIBAP para América Latina y el Caribe: C/o CATIE, 6170 Turrialba, Costa Rica.



## Banana varieties: The ACIAR years 1987-1996

J.W. Daniells y N.J. Bryde  
Information series Q101013  
ISBN 0727-6273

Durante el período 1987-1996, el *Queensland Department of Primary Industries* (QDPI) fue la agencia líder del proyecto de ACIAR "Mejoramiento del banano en el Pacífico sur". En el transcurso del proyecto, se recolectaron variedades de banano alrededor del mundo. En esta publicación se registran 106 variedades que representan una sección significativa de aquellas que están disponibles para su evaluación. Entre ellos se encuentran algunos híbridos de los programas de mejoramiento convencional, selecciones que se originan como tipos anormales en la propagación por cultivo de tejidos, cultivares existentes y especies silvestres.

Este informe reúne la información agronómica recolectada junto con fotografías a color de los racimos, lo que permite una buena apreciación de cada variedad. Muchos lectores encontrarán estas fotografías útiles para propósitos de identificación.

## Clean & green bananas – Where to from here?

J.W. Daniells  
Information series Q101014  
ISBN 0727-6273

Las ventas actuales de los bananos limpios y verdes, así como los orgánicos, son muy limitadas en Australia. La exportación de los bananos orgánicos es riesgosa e incierta. Sin embargo, el mercado está cambiando en esta dirección y, a largo plazo, probablemente el nicho orgánico crecerá para ocupar al final unos 10-15% del mercado. Las principales ventas de ambos productos serán ofrecidas por los supermercados y el precio corriente de los productos orgánicos existentes tendrá que ser rebajado. La eficacia de la producción debe ser mejorada mediante investigaciones específicas de los factores limitantes como el manejo de la fertilidad de los suelos, control de las enfermedades foliares y un mayor desarrollo, extensión y adopción de la tecnología existente. La industria bananera ha alcanzado un buen progreso en la reducción del uso de los plaguicidas, pero actualmente es necesario reunir el cuerpo del conocimiento y desarrollar un sistema de tipo ECO-OK implementado en las fincas comerciales, que cumpla con estándares verificables y desarrollo del mercado, para que los productores sean recompensados por sus esfuerzos.

Las dos publicaciones arriba presentadas se encuentran disponibles según solicitud en el Department of Primary Industries, GPO Box 46, Brisbane QLD 2001, Australia.

## Anuncios

### 3<sup>er</sup> Simposio internacional sobre la Biología molecular y celular de bananos

9-11 de septiembre 2002, Lovaina, Bélgica

El primer simposio, celebrado en marzo de 1999 en la Universidad de Cornell en Ithaca, EEUU, fue organizado para crear un foro donde todos los involucrados en la biología molecular y celular de bananos tendrían la oportunidad para reunirse e intercambiar ideas sobre sus actividades de investigación. La reunión fue un éxito rotundo y el concepto continuó posteriormente bajo los auspicios de PROMUSA.

Después del 2<sup>o</sup> simposio, celebrado en octubre de 2001, en Byron Bay, Australia, INIBAP y KULeuven se complacen en anunciar la organización del 3<sup>er</sup> Simposio internacional sobre Biología molecular y celular de bananos, que se llevará a cabo en Lovaina, Bélgica, del 9 al 11 de septiembre de 2002.

El programa científico incluye 5 sesiones. Durante el evento, se presentarán más de 30 contribuciones y 31 carteles.

Doce conferencias magistrales estarán dadas por eminentes científicos:

Prof. Francis Quétier, Dr Xavier Draye y Prof. Guido Volkaert (Sesión 1: Genómica), Drs A. De Picker y D. Inzé (Sesión 2: Expresión de los genes y transformación), Prof. G. Gheseyn, Drs Johan Nayts y D. Van Der Straeten (Sesión 3: Fitopatología molecular y resistencia a enfermedades y plagas), Drs Isabel Roland-Ruitz y Peter Breyne (Sesión 4: Caracterización y conservación de la biodiversidad) y Drs Emma Schofield y W. Peumans (Sesión 5: Bioquímica y fisiología).

Un taller sobre 'Propiedad intelectual y organismos genéticamente modificados' será también conducido por la Dra Victoria Henson.

Una visita científica de KULeuven y del banco de genes (Centro de tránsito, ITC) de INIBAP también estará organizada.

Para más detalles, visite el sitio web de INIBAP: [http://www.inibap.org/actualites/actualites\\_spa.htm](http://www.inibap.org/actualites/actualites_spa.htm)

### Conferencia mundial sobre bananos y plátanos

Grand Ashok Hotel, Kumara Krupa, High Grounds, Bangalore, India  
28-31 de octubre 2002

Con la meta de responder a las nuevas problemáticas de crecimiento y desarrollo de la industria bananera, la *Association for the Improvement in Production and Utilization of Banana* (AIPUB), India, con apoyo de INIBAP, de la organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación (FAO), el *Department of*

*Agriculture and Cooperation*, el Gobierno de la India y el *Indian Council of Agricultural Research*, organiza una conferencia mundial sobre el tema "La producción bananera para la seguridad a nivel de la nutrición y de los medios de subsistencia".

Esta reunión tiene como objetivos principales:

- Reunir a los actores mundiales de la investigación, del desarrollo y del comercio del banano para que deliberen y discuten de las varias problemáticas relacionadas con el desarrollo sostenible del banano.
- Considerar las diversas posibilidades de integración del banano producido en India y sus subproductos en el comercio internacional.
- Implicar a los expertos nacionales e internacionales en el desarrollo y la puesta en marcha de iniciativas a escala política para favorecer la seguridad alimentaria y los medios de subsistencia a través de la producción bananera.

Los principales temas para discusión son los siguientes:

- Manejo de los recursos genéticos y mejoramiento de plantas,
- Avances en biotecnología,
- Estrategias en las tecnologías de producción,
- Producción orgánica de bananos,
- Manejo integrado de las enfermedades y plagas,
- Manejo post-cosecha, diversificación de los subproductos y valor agregada,
- Apoyo a las políticas y a los programas,
- Comercio nacional e internacional,
- Cooperación internacional.

### Fechas importantes

Fecha límite para sumisión de resúmenes: 31 de Julio 2002. Fecha límite para sumisión de presentaciones completas: 30 de septiembre 2002.

### Cuotas de inscripción

#### Antes del 30 de Agosto 2002

Miembros de AIPUB: 50US\$

No miembros: 75US\$

Instituciones: 100US\$

#### Después del 30 de Agosto 2002

Miembros de AIPUB: 100US\$

No miembros: 125US\$

Instituciones: 150US\$

Los formularios de inscripción acompañados del pago de la cuota correspondiente deben ser mandados a la dirección siguiente:

Conference Secretariat

Bagwani Bhavan, 47 Janakpuri Institutional Area, Pankha Road, New Delhi-110058

Tel.: (91-11)-5622150/5531211

Fax: (91-11)-5531211/ 3384978.

Para más información y inscripción, visite el sitio web del AIPUB:

<http://www.aipub.org/conferences.htm>

# Direcciones de INIBAP

• Sede  
Parc Scientifique Agropolis II  
34397 Montpellier Cedex 5 – FRANCIA  
e-mail: inibap@cgiar.org  
http://www.inibap.org

Director

Dr Emile FRISON

e-mail: e.frison@cgiar.org

Encargado del Recursos Fitogenéticos

Dr Jean-Vincent ESCALANT

e-mail: j.escalant@cgiar.org

Encargada de la Conservación de Germoplasma

Sra Suzanne SHARROCK

e-mail: s.sharrock@cgiar.org

Jefe Información y Comunicación

Sra Claudine PICQ

e-mail: c.picq@cgiar.org

Coordinadora MGIS

Sra Elizabeth ARNAUD

e-mail: e.arnaud@cgiar.org

Administrador Financiero

Sr Thomas THORNTON

• Red Regional para América Latina y el Caribe

Coordinator Regional

Dr Franklin E. ROSALES

Científico Asociado, Transferencia de Tecnología

Dr Luis POCASANGRE

C/o CATIE, Apdo 60

7071 Turrialba

COSTA RICA

Fax: (506) 556 24 31

e-mail: inibap@catie.ac.cr

• Red Regional para Asia y el Pacífico

Coordinator Regional

Dr Agustín B. MÓLINA

C/o IRRRI Collaborators Center

3<sup>rd</sup> Floor

Los Baños, Laguna 4031 FILIPINAS

Fax: (63-49) 536 05 32

e-mail: a.molina@cgiar.org

• Red Regional para Africa Occidental y Central

Coordinator Regional

Dr Ekow AKYEAMPONG

Científico Asociado, Transferencia de Tecnología

Kim JACOBSEN

C/o CRBP - B.P. 12438

Douala CAMERUN

Fax: (237) 342 91 56

e-mail: inibap@camnet.cm

• Red Regional para Africa Oriental y del Sur

Coordinator Regional

Dr Eldad KARAMURA

Científico Asociado, Transferencia de Tecnología

Dr Guy BLOMME

PO Box 24384

Kampala, UGANDA

Fax: (256-41) 28 69 49

e-mail: inibap@imul.com

• Centro de Tránsito INIBAP (ITC)

Encargada de la Conservación de Germoplasma

Ing. Ines VAN DEN HOUWE

Katholieke Universiteit Leuven

Laboratory of Tropical

Crop Improvement

Kasteelpark Arenberg 13,

B-3001 Leuven,

BELGICA

Fax: (32-16) 32 19 93

e-mail:

ines.vandenhouwe@agr.kuleuven.ac.be

• Experto Asociado, Nematología

Thomas MOENS

C/o CORBANA

Station de recherche La Rita

Apdo 390-7210

Guápiles, COSTA RICA

Fax : (506) 763 30 55

E-mail :

fitonema@corbana.com

## Recomendaciones para los autores

Los textos mecanografiados deberán ser preparados en inglés, francés o español y enviados al Jefe de Redacción. Todas las páginas (incluyendo las tablas, figuras, leyendas y referencias) deberán estar enumerados consecutivamente. El título debe ser lo más corto posible. Incluya el nombre completo de todos los autores y sus direcciones completas al momento de realizar el estudio. También indique a la persona quien recibirá la correspondencia respecto al trabajo.

Si el manuscrito ha sido preparado en una computadora, por favor, envíe una copia en disquete (o por correo electrónico) junto con el ejemplar impreso, indicando el nombre y la versión del procesador de palabras utilizado.

### • Resúmenes

Un resumen que no exceda 200-250 palabras deberá ser enviado en el mismo idioma del manuscrito, así como las traducciones (incluyendo el título) en los otros dos idiomas, si es posible.

### • Siglas

Las siglas deberán ser transcritas completamente la primera vez que éstas aparecen

en el texto, seguidas por las siglas entre paréntesis.

### • Bibliografía

Todas las referencias bibliográficas deberán ser presentadas en orden alfabético de autores. La referencia en el texto debe indicar el nombre del autor y el año de publicación (por ejemplo: Sarah *et al.* 1992). Por favor, siga los siguientes ejemplos:

*Artículos de ediciones periódicas:* Sarah J.L., C. Blavignac & M. Boisseau. 1992. Une méthode de laboratoire pour le criblage variétal des bananiers vis-à-vis de la résistance aux nématodes. *Fruits* 47(5): 559-564.

*Libros:* Stover R.H. & N.W. Simmonds. 1987. *Bananas* (3<sup>rd</sup> edition). Longman, London, United Kingdom.

*Artículos (o capítulos) de publicaciones no periódicas:* Bakry F. & J.P. Horry. 1994. *Musa* breeding at CIRAD-FLHOR. Pp. 168-175 *in* The Improvement and Testing of *Musa*: a Global Partnership (D.R. Jones, ed.). INIBAP, Montpellier, Francia.

### • Tablas

Las tablas deberán estar enumeradas consecutivamente y las referencias en el

texto se harán de acuerdo a esta numeración. Cada tabla debe incluir un título.

### • Ilustraciones

Las ilustraciones deberán estar numeradas consecutivamente y las referencias en el texto se harán de acuerdo a esta numeración. Cada ilustración debe incluir un título sencillo y claro.

*Gráficos:* suministrar los datos correspondientes junto con los gráficos.

*Dibujos:* si es posible, suministrar dibujos originales.

*Fotografías a colores:* suministrar pruebas de buena calidad y películas o diapositivas originales.

**Notas:** Si el material de plantación utilizado para los experimentos descritos proviene o está registrado en el banco de germoplasma de INIBAP, debe indicarse su número de accesión (código ITC) dentro del texto o en forma tabular.

**Gracias por seguir nuestras recomendaciones. Esto facilitará y acelerará el trabajo de edición.**

## Contenido

3ª reunión del Grupo de trabajo en Sigatoka de PROMUSA ..... p. I

Inauguración del grupo de trabajo sobre el picudo negro del banano ... p. VI

• *Resúmenes de los trabajos presentados* ..... p. VIII

Cuarta reunión final de investigaciones coordinadas de FAO/IAEA sobre la Biología celular y biotecnología incluyendo técnicas de mutación para la creación de nuevos genotipos útiles de banano: ..... p. XIV

• *Informe sumario* ..... p. XIV

• *Resúmenes de los trabajos presentados* ..... p. XV

## ¿Qué es PROMUSA?

El Programa Global para el Mejoramiento de *Musa* (PROMUSA) es un amplio programa que tiene el propósito de involucrar a todos los principales actores del mejoramiento de *Musa*. Este programa fue desarrollado como un medio de enlazar el trabajo realizado para resolver los problemas de los productores de bananos para la exportación, además de las iniciativas dirigidas al mejoramiento de la producción de bananos y plátanos a nivel de subsistencia y pequeña escala para los mercados locales. El programa global se construye sobre los logros existentes en la investigación y está basado en las iniciativas de las investigaciones en curso. Por lo tanto, PROMUSA es un mecanismo para maximizar los logros y acelerar el impacto de todo el esfuerzo mundial del mejoramiento en el área de *Musa*. El programa representa un mecanismo innovador que reúne investigaciones que se realizan tanto dentro, como fuera del CGIAR, creando nuevas asociaciones entre los Sistemas Nacionales de Investigación Agrícola (SNIA) e instituciones de investigación en países desarrollados y en vías de desarrollo. La formación de tales asociaciones también contribuirá a fortalecer la capacidad de los SNIA con respecto a la conducción de las investigaciones relacionadas con *Musa*.

La principal meta de PROMUSA es desarrollar un amplio rango de variedades mejoradas de banano, a partir de las cuales los productores de todo el mundo puedan seleccionar aquellas que más responden a sus necesidades. El programa reúne el mejoramiento convencional basado en las técnicas de hibridación, con el mejoramiento mediante la ingeniería genética y la biotecnología. Este amplio esfuerzo de mejoramiento genético es apoyado por las investigaciones que se realizan sobre plagas y enfermedades específicas dentro de varios grupos de trabajo de PROMUSA. Un mecanismo eficaz para la evaluación de nuevas variedades, desarrollado en el marco de PROMUSA, también representa un componente esencial del programa.

# PROMUSA

Un programa global para el mejoramiento de *Musa*

## 3ª reunión del Grupo de trabajo en Sigatoka de PROMUSA

24-25 de mayo de 2002, EARTH, Costa Rica

La reunión empezó con una breve presentación de cada participante sobre su capacidad de investigación en términos de recursos humanos, facilidades para la investigación, futuro y los proyectos en curso relacionados con las enfermedades de la mancha de la hoja causadas por *Mycosphaerella*. Los participantes también comentaron sobre su participación en PROMUSA, definiendo las áreas de interés donde les gustaría asociarse con otros participantes.

Los participantes identificaron varias prioridades de investigaciones y definieron las principales actividades a realizar.

*distribución exacta de M. eumusae. En el futuro es necesario realizar encuestas en el sur y sudeste de Asia para determinar la unicación de M. musicola, M. fijensis o M. eumusae. El nombre de los clones de banano afectado, un indicador de la severidad de la enfermedad y los datos sobre el ambiente local serían útiles, ya que pueden ayudar a explicar su distribución. Los lugares de los ensayos del IMTP se ven como ideales para evaluar la reacción de diferentes clones a los diferentes patógenos de Mycosphaerella. La recolección y el diagnóstico de los especímenes de Mycosphaerella en los sitios de los ensayos IMTP deben continuar. La cooperación y la colaboración de los científicos en sur y sudeste de Asia son esenciales. Se debe proporcionar las herramientas para poder realizar diagnósticos a nivel local".*

## Recomendaciones

**Desarrollo de un entendimiento detallado de las estructuras de las poblaciones de *Mycosphaerella musicola*, *M. fijensis* y *M. eumusae***

**Encuesta sobre la distribución geográfica de las tres especies de *Mycosphaerella***

La encuesta sobre la distribución de las diferentes especies requiere de un amplio muestreo a escala nacional de las áreas agroecológicas donde se cultiva *Musa*, y de la caracterización morfológica de las especies a través de la observación de la etapa anamorfa (conidias), incluyendo la caracterización utilizando las técnicas de diagnóstico PCR.

El grupo de trabajo en Sigatoka de PROMUSA ratificó la recomendación presentada durante el "2º Taller internacional sobre las enfermedades de los bananos, causadas por *Mycosphaerella*", celebrada los días 20 - 23 de mayo de 2002 en San José, Costa Rica: *"Es necesario conocer la*

**Desarrollo de las colecciones nacionales de diferentes patógenos de *Mycosphaerella***

El grupo de trabajo en Sigatoka de PROMUSA ratificó la recomendación realizada durante el "2º Taller internacional sobre las enfermedades de los bananos causadas por *Mycosphaerella*": *Con fines de identificación, es necesario desarrollar un examen rápido y confiable para distinguir a M. musicola, M. fijensis, M. eumusae y otros patógenos o saprofitos Mycosphaerella posibles. También se debe obtener y poner a disposición de los científicos bananeros la información de como distinguir los tres patógenos en base a sus características morfológicas. Se le solicitó a INIBAP resolver este problema".*

La creación de una colección nacional de cepas de diferentes patógenos de *Mycosphaerella* en *Musa* tiene una gran relevancia en el entendimiento de la estructura de las poblaciones. La colección debe estar basada en cultivos de ascosporas individuales con una caracterización *in vitro* de la etapa anamorfa (esporulación de



conidias *in vitro*). Se recomendó proporcionar a los participantes un protocolo para el muestreo, establecimiento y mantenimiento de esta colección. Se le solicitó a INIBAP colaborar con CIRAD en el desarrollo y distribución de la información técnica requerida. Se debe promover y facilitar el establecimiento de colecciones nacionales a través de la organización de un curso de capacitación; especialmente para aquellos países que desarrollan programas de mejoramiento, pero también para aquellos donde los híbridos resistentes se utilizan a escala industrial, y donde la alta diversidad de *Musa* originaría diversidad similar a la de los patógenos.

### Estructura genética de la población

El estudio de la estructura genética de la población de las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* ya se está llevando a cabo a escalas nacional, regional e internacional. Sin embargo, el grupo recomienda aumentar la cantidad de países involucrados a escala nacional, lo que permitiría refinar tanto los estudios regionales como internacionales. Para mejorar el entendimiento de las estructuras de las diferentes poblaciones se recomendó realizar determinaciones tanto biológicas (morfológicas) como moleculares. Se debe normalizar el protocolo y la metodología de muestreo y se debe facilitar el reconocimiento de diferentes especies a través del desarrollo de una hoja divulgativa que sería ampliamente distribuida. INIBAP y CIRAD acordaron trabajar conjuntamente en la preparación de esta información que incluiría varias ilustraciones detalladas sobre los diferentes patógenos y sus etapas anamorfas. Esta información también formaría parte de las guías técnicas del IMTP. El desarrollo de una mayor cantidad de marcadores moleculares como el SSR y CAPS permitiría refinar el estudio de diferentes poblaciones. Los participantes reiteraron la recomendación de incluir a los socios del sur y sudeste de Asia, la cual fue hecha durante la última reunión global de PROMUSA en Bangkok, quienes sugirieron a la oficina regional de INIBAP para Asia y el Pacífico fortalecer y facilitar cualquier intercambio entre los socios de Asia y el resto de la comunidad de PROMUSA.

### Caracterización patogénica

La patogenicidad de diferentes cepas debe ser estudiada utilizando los sistemas de inoculación *in vitro* o *in vivo*. Sin embargo, se recomienda normalizar las diferentes metodologías existentes actualmente. Es necesario distribuir la metodología para la inoculación de los fragmentos de las hojas *in vitro* desarrollada en CIRAD, junto con la metodología utilizada para aislar, cultivar y producir el inóculo de diferentes patógenos. Se ha solicitado a INIBAP y CIRAD compilar, en un solo documento técnico, toda la información publicada sobre estos métodos.

### Identificación de nuevas fuentes de resistencia

La necesidad de nuevas fuentes de resistencia a las enfermedades causadas por *Mycosphaerella*,

ha sido identificada varias veces en el pasado. Ya se han realizado misiones de recolección en Indonesia, norte de India y Vietnam, pero solo se ha suministrado información sobre la caracterización de la resistencia de los diferentes materiales recolectados. El grupo de trabajo de PROMUSA recomendó que INIBAP ayude a recolectar cualquier información ya disponible. El grupo también recomendó estimular la caracterización de las colecciones existentes donde ya se ha registrado *M. eumusae*, junto con otras especies de *Mycosphaerella*, por ejemplo, de MARDI, en Malasia. Con el fin de facilitar el cribado, el grupo sugirió utilizar el 'índice de severidad' como el único parámetro para detectar cualquier fuente de resistencia. Esta información permitiría definir las distintas especies de clones de referencia que deben ser evaluados con respecto a la resistencia a la enfermedad causada por *M. eumusae*.

El 'índice de severidad' también se utilizará para evaluar las poblaciones segregantes de PROMUSA alojadas en CORBANA.

### Diagnóstico

Varias enfermedades foliares fungosas han sido registradas en *Musa* y otras especies relacionadas. El grupo recomendó el desarrollo de herramientas de diagnóstico específicas de acuerdo a las tres especies principales del patógeno *Mycosphaerella* en *Musa*: *M. fijiensis*, *M. musicola* y *M. eumusae*. El logro de estas herramientas de diagnóstico permanecerá dentro del desarrollo de una colección mundial de aislados de *Mycosphaerella*; la descripción morfológica de todas las subespecies de *Mycosphaerella* asociadas con las hojas de banano y el desarrollo de los iniciadores específicos de las especies como los microsatélites y secuencias ITS y su evaluación en la colección mundial de los aislados de *Mycosphaerella*.

Por lo tanto, se sugiere:

- desarrollar herramientas de diagnóstico para distinguir los principales patógenos y evaluar los métodos disponibles actualmente con respecto a la especificidad,
- desarrollar un manual con descripciones de los síntomas y caracteres morfológicos,
- desarrollar protocolos para la recolección y análisis de las muestras,
- transferir a los participantes de PROMUSA las diferentes tecnologías requeridas (recolección y muestreo, cultivos de monoasporas y marcadores moleculares) y capacitarlos en su uso.

### Durabilidad de la resistencia

Se ha informado sobre cambios significativos en los niveles de resistencia a las enfermedades de la Sigatoka y Sigatoka negra en Australia, India y Cuba. Sin embargo, estos cambios pueden existir solo debido a las altas cargas de inóculo. Por lo tanto, los cambios en las poblaciones del patógeno deben diferenciarse de los efectos epidemiológicos particulares. Es por eso que el grupo recomendó estudiar los cambios en las poblaciones del patógeno en respuesta a la pre-

sión de la selección por parte de los nuevos genotipos de banano resistentes a las enfermedades de la Sigatoka. Es esencial monitorear los cambios en las poblaciones del patógeno en las áreas donde se cultivan a gran escala los nuevos híbridos resistentes. Se hizo una recomendación sobre el desarrollo de ensayos específicos en Cuba. Se debe resolver dos aspectos diferentes acerca de la durabilidad de la resistencia: la deriva génica de la resistencia del patógeno y el efecto de la selección dentro de la población del patógeno. Los participantes en el grupo de trabajo de Sigatoka de PROMUSA recomendaron:

- seleccionar las áreas donde los híbridos resistentes han sido cultivados por un largo período de tiempo (por ejemplo, Cuba) y seguir la evolución de las poblaciones del patógeno aislando las cepas de *Mycosphaerella* en los cultivos o híbridos resistentes y susceptibles,
- desarrollar marcadores moleculares ligados con la patogenicidad de las cepas fungosas (los marcadores moleculares informarán sobre el flujo génico cuando la evaluación patogénica se relacione con el efecto de la selección),
- cuantificar la presión de la selección en el tiempo, y
- estudiar el fracaso de la resistencia mediante el examen *in vitro*.

### Dispersión de las enfermedades causadas por *Mycosphaerella* en *Musa*

Actualmente, *M. eumusae* se limita a la mayor parte de Asia, aunque existen algunas evidencias de que el patógeno pudo haber llegado a África. Aún no se entienden bien las dinámicas de la enfermedad. Algunas proyecciones indican que esta enfermedad será más importante que la Sigatoka negra. Con el fin de preparar estrategias de control de la enfermedad adecuadas, se requiere urgentemente de un conocimiento detallado de la epidemiología de este patógeno. Para abordar la epidemiología de los diferentes patógenos de *Mycosphaerella* en *Musa*, el grupo recomienda:

- recolectar datos sobre la incidencia de la enfermedad en el campo y en la literatura,
- desarrollar metodologías para entender los mecanismos de liberación de esporas y supervivencia de las esporas en el aire a escala de laboratorio, y
- aclarar los datos obtenidos en el laboratorio a escala de plantación y evaluar el potencial para la dispersión por el viento (como opuesto a la propagación de la enfermedad por las transferencias del inóculo).

### Interacciones entre el hospedante y el patógeno

Se ha demostrado que el enfoque genético es extremadamente poderoso cuando se estudian las interacciones entre el hospedante y el patógeno en algunos patosistemas (como *Magnaporthe*

*grisea*). Este enfoque no requiere la identificación de los factores de patogenicidad *a priori* e incluye el estudio de la expresión génica durante la infección (despliegue diferencial, chip de ADN, SSH, etc.), producción de los mutantes de patogenicidad, genómica comparativa y técnicas de validación de la función génica.

Nuevamente, el grupo de trabajo en Sigatoka de PROMUSA ratificó la recomendación hecha en el marco del "2<sup>do</sup> Taller internacional sobre las enfermedades de los bananos causadas por *Mycosphaerella*" de estudiar: "el desarrollo de las herramientas de la biología genética y molecular para *M. fijiensis* en colaboración con los grupos de *M. Graminicola*, así como para lanzar una iniciativa genómica para evaluar las herramientas genómicas (colección de EST, mapa físico, secuencia genómica) y establecimiento de una comparación a escala de genomas entre *M. fijiensis* y *M. graminicola*".

### Colección internacional central

El grupo recomendó desarrollar una colección internacional central de las tres especies principales de patógenos de *Mycosphaerella* en *Musa*. Las diferentes cepas se conservarían como micelios fungosos y en forma de ADN. Se sugirió CIRAD para albergar la colección internacional utilizando un mecanismo similar al desarrollado por INIBAP con la Universidad Católica de Lovaina, que alberga la colección internacional de germoplasma de *Musa* en el Centro de Tránsito de INIBAP. Se le solicitó a INIBAP resolver esta tarea en colaboración con el CIRAD.

### Interés institucional en las actividades de PROMUSA

Tópicos de investigación	Institución que desea participar
<b>Estructura de las poblaciones</b>	
• Encuesta sobre la distribución geográfica en Asia	
• Nigeria	IITA
• Colecciones nacionales	INISAV, CORBANA, CORPOICA, FHIA, EMBRAPA, FABI, QDPI, CIRAD
• Estructura genética de las poblaciones	INISAV, FABI, CATIE, CIRAD, CORPOICA, CARBAP
• Caracterización patogénica	CORBANA, CATIE, CIRAD, FHIA, EMBRAPA, CORPOICA, CARBAP, IBP
<b>Evaluación de las poblaciones segregadas</b>	CORBANA, EMBRAPA
<b>Diagnóstico</b>	CRCTPP, CIRAD, CBS, FABI, QDPI
<b>Durabilidad de la resistencia</b>	INISAV, CIRAD, CATIE, EMBRAPA, CARBAP y FHIA
<b>Dispersión</b>	
• <i>M. eumusae</i> , Asia	NRI
• <i>M. fijiensis</i> , Caribe	NRI, CIRAD, WIBDECO, CRCTPP
<b>Interacción hospedante-patógeno</b>	FABI, CIRAD, IBP, CARBAP y CICY
• Mecanismo de patogenicidad	
• Mecanismo de resistencia	



Contribución institucional a PROMUSA

Tópicos de investigación	Actividades en curso	Contacto	
CORBANA, Costa Rica	Lab. de cultivo de tejidos Lab. de fitopatología Banco de germoplasma en el campo Campos experimentales	• Evaluación en el campo de nuevos clones • Inoculación de <i>M. fijiensis</i> a escala	• IMTP fase III • Evaluación de las poblaciones de segregación de <i>Musa</i> • Evaluación de las poblaciones de segregación de <i>M. fijiensis</i> J.A. Sandoval R. Vargas M. Guzman
INISAV, Cuba	Laboratorios de fitopatología Estaciones experimentales Colaboración con CIGB	• Epidemiología de <i>M. fijiensis</i> en las poblaciones de híbridos resistentes • IMTP fase III • Diversidad y distribución de <i>M. fijiensis</i> (caracterización molecular y morfológica)	• Encuesta de la población de <i>M. fijiensis</i> (variabilidad y distribución) • Durabilidad de la resistencia de los híbridos FHIA a <i>M. fijiensis</i> L. Pérez Vicente
CRCTPP, QDPI, Australia	Laboratorios de fitopatología Invernadero Estaciones de investigación	Fitopatólogo principal (1) Oficiales técnicos (2) Técnicos de laboratorio (1) Oficial investigador (1) Asistente de investigación (1)	• Enfermedades de la mancha foliar <i>Mycosphaerella</i> • Raya negra de la hoja: • Evaluación & diagnóstico de los cultivares • Sigatoka: Diagnóstico & epidemiología, resistencia a fungicidas, cribado de fungicidas • Diagnóstico molecular de la Sigatoka R. Peterson (QDPI) J. Henderson (CRCTPP) K. Grice (QDPI)
CORPOICA, Colombia	Laboratorio molecular Laboratorio de fitopatología Estaciones en el campo (a diferentes altitudes)		• Enfermedades foliares causadas por <i>Mycosphaerella</i> • Estructura y diversidad de las poblaciones: • Caracterización morfológica y molecular • Evaluación de germoplasma A. Gutierrez Rojas S. Aponte
CICY, México	Laboratorios de biotecnología Bioquímica & biología molecular de las plantas	Investigadores (4) Técnicos (3) Estudiantes de Maestría (4)	• Mejoramiento genético utilizando biotecnología • Construcción y caracterización de dos bibliotecas genéticas BIBAC de dos bananos diploides, y desarrollo A. James

Contribución institucional a PROMUSA

Institución, País	Facilidades de investigación	Recursos humanos	Tópicos de investigación	Actividades en curso	Contacto
CICY, México				<ul style="list-style-type: none"> <li>Mapeo genético y físico de <i>M. fijiensis</i>, CONACYT; 3 años (Responsable: Dr D. Kaemmer)</li> <li>Cribado de la biblioteca IV BAC de Calcutta para detectar genes de resistencia (presentado) (Responsable: Dr D. Kaemmer)</li> <li>Construcción de una biblioteca BAC de <i>M. fijiensis</i> (presentado) (Responsable: Dr A. James)</li> <li>Evaluación agronómica de los cultivares de banano y plátano recién introducidos a México y plantas mutantes inducidas (presentado) (Responsable: Dr A. James)</li> </ul>	D. Kaemmer L. Conde L. Peraza
CIRAD, Montpellier	<p>Laboratorios de fitopatología Invernadero y cámara climática Facilidades para la evaluación <i>in vitro</i> Acceso a un laboratorio <i>in vitro</i> Colección de unos 2500 aislados Laboratorio de biología molecular (CAPS &amp; microsatélites, secuenciadores, genómica)</p>	<p>Investigadores (2) Geneticista (1) Técnicos (3) Estudiantes (2-3)</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Taxonomía e identificación de <i>Mycosphaerella</i> spp.</li> <li>Colección</li> <li>Diagnóstico molecular</li> <li>Distribución de <i>Mycosphaerella</i> spp. en Asia</li> <li>Estructura de las poblaciones del patógeno a diferentes escalas</li> <li>Colección</li> <li>Marcadores moleculares</li> <li>Patogenicidad</li> <li>Estructura de las poblaciones de los patógenos de la mancha foliar <i>Mycosphaerella</i> en Asia</li> <li>Eficacia y durabilidad de la resistencia parcial</li> <li>Caracterización de nuevas fuentes de resistencia</li> <li>Genética de la resistencia</li> <li>Evolución de la población de los patógenos en los cultivares resistentes (área de cultivo grande)</li> <li>Otros</li> <li>Genómica y estudio de la interacción hospedante-patógeno</li> <li>Colección (Colección principal, red?, base de datos?)</li> </ul>	J. Carlier C. Abadie
CATIE, Costa Rica	<p>Laboratorio de biología molecular Laboratorio de fitopatología Laboratorio de control biológico Laboratorio de cultivo de tejidos Bombardeo con partículas Cobertizo</p> <p>Herramientas ofrecidas: <i>M. fijiensis</i>: protocolos de aislamiento, extracción de ADN, amplificación de ADN, rápido y eficaz para evaluar la resistencia a electroforesis de ADN Uso de marcadores moleculares para los estudios de las poblaciones Inducción de resistencia Pruebas de patogenicidad Protocolos para el cultivo de tejidos Protocolos para el bombardeo</p>	<p>Investigadores (2) Técnicos (2)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Control biológico e inducción de resistencia</li> <li>Banco de bacterias y hongos antagonistas</li> <li>Productos microbiológicos con potencial antifungoso o molécula elicitora</li> <li>Cribado de plantas con inducción antifungosa o de resistencia</li> <li>Productos botánicos con molécula elicitora o antifungosa</li> <li>Adaptación/desarrollo de un método de cribado la Sigatoka negra</li> <li>Transformación genética de <i>Musa</i> para introducir la resistencia a la Sigatoka negra</li> <li>Protocolo de transformación en <i>Musa</i></li> </ul>	<p><b>En curso:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios de la estructura de las poblaciones de <i>M. fijiensis</i></li> <li>Biotecnología de <i>Musa</i>: cultivo de tejidos, protocolos de bombardeo</li> </ul> <p><b>Presentados:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Estructura de las poblaciones de <i>M. fijiensis</i> en República Dominicana. Presentado por T. Polanco (IDIAF) a IAEA. Enero, 2002. Socios: CATIE (Costa Rica) y CIRAD (Francia).</li> <li>Estructura de las poblaciones de <i>M. fijiensis</i> en Honduras y República Dominicana. Presentado por G. Rivas (CATIE) a FINNIDA. Mayo, 2002. Socios: FHIA (Honduras), IDIAF (República Dominicana) y CIRAD (Francia).</li> <li>Estudios de la estructura de las poblaciones de <i>Mycosphaerella fijiensis</i></li> <li>Biotecnología de <i>Musa</i>: cultivo de tejidos, protocolos de bombardeo.</li> <li>Estructura de las poblaciones de <i>M. fijiensis</i> en Honduras. Proyecto apoyado por INIBAP/FHIA. Socios: CATIE (Costa Rica) y CIRAD (Francia).</li> </ul>	A. S. Riveros A G. Rivas
EMBRAPA, Cruz das Almas, Brasil	<p>Red cooperativa de 3 centros de investigación de EMBRAPA incluyendo sus laboratorios y campos</p>	<p>Investigadores (9)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Control integrado de las enfermedades causadas por <i>Mycosphaerella</i> en Brasil incluyendo mejoramiento</li> </ul>	<p><b>En curso:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluación de la variabilidad genética y patogénica en <i>M. musicola</i></li> <li>Evaluación de la resistencia a las enfermedades de la Sigatoka negra y amarilla</li> <li>Epidemiología</li> </ul> <p><b>Nueva propuesta:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Creación y evaluación de la población de segregación de <i>Musa acuminata</i> (AA) para la resistencia a las Sigatoka negra y amarilla.</li> </ul>	Zilton Cordeiro María de Jesus B. Calvacante



## Contribución institucional a PROMUSA

Institución, País	Facilidades de investigación	Recursos humanos	Tópicos de investigación	Actividades en curso	Contacto
FHIA, Honduras	Laboratorio de cultivo de tejidos	Fitomejorador (1)	• Mejoramiento	<b>En curso:</b> • IMTP fase III • Proyecto CFC de evaluación de los híbridos de <i>Musa</i> • Mejoramiento de bananos • Perspectiva • Estructura de la población de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en Honduras. Proyecto apoyado por INIBAP/FHIA. Socios: CATIE (Costa Rica) y CIRAD (Francia)	M. Rivera
	Cobertizo Campos experimentales	Asistentes de investigación (3) Fitopatólogos (2)	• Evaluación en campo de nuevos clones • Epidemiología		J.F. Aguilar
	Laboratorio de fitopatología convencional Capacidad para realizar ELISA instalada Pronto: capacidad para realizar PCR	Agrónomos (1) Técnico (1)			
IBP, Cuba	Laboratorio de cultivo de tejidos	Biotecnólogo	• Cribado precoz	<b>En curso:</b> • Mutagénesis/programa de mejoramiento • Métodos normalizados para cribado precoz • Evaluación en el invernadero • Transformación de <i>M. fijiensis</i> • Transformación de plantas <b>Perspectiva:</b> • Uso de pruebas similares para evaluación de la patogenicidad • Desarrollo de los métodos para identificar aislados virulentos y avirulentos	Y. Alvarado
	Laboratorio de biología molecular	Fitomejoradores	• Evaluación de germoplasma en un laboratorio de cribado		
	Laboratorio de fitopatología	Fitopatólogo (2)	• Transformación genética (planta/patógeno)		
	Laboratorio comercial de cultivo de tejidos	Biólogo molecular			
	Invernadero/cobertizo Campo experimental	Microbiólogo Agrónomo			
Unidad de Fitopatología, Universidad de Gembloux, Bélgica	Laboratorio de patología		• Control biológico contra las enfermedades fungosas	P. Lepoivre J.-P. Busogoro	
	Laboratorio de virología		• Selección para resistencia a las enfermedades de las plantas		
	Invernadero Facilidades para la biología molecular y serología		• Estudio de los mecanismos de resistencia		
NRI, Universidad de Greenwich, RU	Laboratorios de fitopatología y virología	Fitopatólogos (3)	• Epidemiología	• Perspectiva • Propagación por aire de <i>M. fijiensis</i>	P. Burt
	Cuartos CT y gabinetes ambientales	Micólogo (1)			
	Microscopía electrónica	Técnicos (3)			
	Invernadero Biblioteca	Biometeorólogo (1)			
FABI, Universidad de Pretoria, Africa del Sur	Facilidades de pregrado y postgrado	Fitopatólogo (2)	• Taxonomía de los hongos	• Identificación morfológica y molecular de <i>Mycosphaerella</i> spp • Genética de las poblaciones de <i>Mycosphaerella</i> spp.	A. Viljoen
	BIOTECHNOLOGIA: Facilidad de microseries Secuenciador Variador de luz MYCOLOGIA: Microscopios electrónico y luminoso Mantenimiento de cultivos Análisis genético y molecular de los hongos FACILIDADES PARA CULTIVO DE PLANTAS: Laboratorios de cultivo de tejidos Facilidades de transformación y cultivo de OGM Facilidades de cuarentena	Micólogo (1)	• Genética de las poblaciones • Biología molecular • Manejo de enfermedades		
BTI, Universidad de Cornell, EEUU	Laboratorios de fitopatología			• Herramientas de genética molecular para estudiar interacciones hospedante-patógeno • Enfoques genómicos para la identificación de la expresión de genes de plantas y hongos • Desarrollo de las metodologías de cribado de alto rendimiento para la evaluación de la patogenicidad y virulencia en las plantas. • Transformación genética	
	Invernadero y cámaras climáticas				
	Facilidades para evaluación in vitro Acceso a un laboratorio in vitro				
	Laboratorio de biología molecular (CAPS & microsátélites, secuenciadores, genómica)				
Instituciones asiáticas, representadas por el Coordinador de INIBAP para Asia y el Pacífico y Secretaria Ejecutiva de BAPNET.			• Se recomendó aprovechar la oportunidad de la siguiente reunión de BAPNET para celebrar un taller con los participantes de Asia en el Grupo de trabajo Sigatoka de PROMUSA para definir su programa y actividades	• Incidencia/severidad de las especies de <i>Mycosphaerella</i> en <i>Musa</i> en Asia (Morfológicos) • Evaluación y caracterización de diferentes colecciones de germoplasma en Asia contra las tres especies de <i>Mycosphaerella</i> • Estudios epidemiológicos en <i>M. eumusae</i> . Estructuras de las poblaciones de <i>M. eumusae</i> utilizando herramientas moleculares y patogenicidad correspondiente Evaluación de pérdidas de rendimientos debido a los diferentes patógenos de <i>Mycosphaerella</i> en <i>Musa</i> .	

## Propuestas de proyectos

El grupo también trabajó en el desarrollo de diferentes notas conceptuales para cumplir las recomendaciones.

### **Dispersión aérea de los patógenos de *Mycosphaerella de Musa - Monitoreo de la propagación por aire de *M. fijiensis* en las áreas no infectadas del Caribe***

#### Socios potenciales

Catherine Abadie – CIRAD  
Peter Burt – NRI  
Henry Fagan – WIBDECO  
Juliane Henderson – CRCTPP  
Ronald Vargas – CORBANA

### **Desarrollo de las herramientas de diagnóstico para las especies de *Mycosphaerella en banano***

#### Socios potenciales

Jean Carlier y Catherine Abadie – CIRAD  
Pedro Crous – CBS  
Altus Viljoen – FABI  
Juliane Henderson y Elizabeth Aitken – CRCTPP  
Kathy Grice y Ron Peterson – QDPI

### **Investigación de la durabilidad de la resistencia de los híbridos de banano a *M. fijiensis***

#### Socios potenciales

Catherine Abadie -CIRAD  
Mauricio Rivera – FHIA

Luis Pocasangre – INIBAP  
Luis Pérez Vicente – INISAV  
David Jones – Consultor, RU

### **Determinación de la variabilidad patogénica de las poblaciones de *M. fijiensis* y *M. musicola***

#### Socios potenciales

Yelenis Alvarado – IBP  
Ronald Vargas – CORBANA  
Laura Conde – CICY  
Sergio Aponte – CORPOICA  
Zilton Cordeiro – EMBRAPA  
Mauricio Guzmán – CORBANA  
Galileo Rivas – CATIE

Nombre	Institución	País
Alba S. Riveros	CATIE	Costa Rica
Alice Churchill	BTI, Ithaca	EEUU
Altus Viljoen	FABI	África del Sur
Andrés Gutiérrez Rojas	CORPOICA	Colombia
Andrew James	CICY	México
Aroistoles Pires de Matos	EMBRAPA	Brasil
Bob Fullerton	Hort Research	Nueva Zelanda
Catherine Abadie	CIRAD-FLHOR	Francia
David Jones	Consultant	Reino Unido
Dieter Kaemmer	CICY	México
Elizabeth Aitken	CRCTPP	Australia
Eric Fouré	CIRAD/CARBAP	Camerún
Fritz Elango	EARTH	Costa Rica
Galileo Rivas	CATIE	Costa Rica
Gus Molina	INIBAP	Filipinas
Indra Ariyaratne	ARS	Sri Lanka
Jean Carlier	CIRAD-AMIS	Francia
Jean Vincent Escalant	INIBAP	Francia
Jorge Sandoval	CORBANA	Costa Rica
José G. García López	INIFAP	México

Nombre	Institución	País
Juliane Henderson	CRCTPP	Australia
Kathy Grice	QDPI	Australia
Laura Conde	CICY	México
Leticia Peraza	CICY	México
Lorna Herradura	BPI	Filipinas
Luis Pérez Vicente	INIVIT	Cuba
Luis Pocasangre	INIBAP-CATIE	Costa Rica
Mauricio Guzmán	CORBANA	Costa Rica
Mauricio Rivera	FHIA	Honduras
Moses Buregyeya	NARO	Uganda
Peter Balint-Kurti	DNA Plant Technologies	EEUU
Peter Burt	NRI	Reino Unido
Philippe Lepoivre	Univ. Gembloux	Bélgica
R. Selvarajan	NRCB, Trichy	India
Ron Peterson	QDPI	Australia
Ronald Vargas	CORBANA	Costa Rica
Sergio Aponte	CORPOICA	Colombia
W. Tushemereirwe	NARO	Uganda
Yelenis Alvarado	IBP, Santa Clara	Cuba
Zilton Cordeiro	EMBRAPA	

## PROMUSA: Inauguración del Grupo de trabajo en Picudo negro

2 de marzo de 2002, Tenerife, Islas Canarias, España

### Origen de PROMUSA

Como introducción, Eldad Karamura, Coordinador regional de INIBAP para África Oriental y del Sur, presentó un breve informe a los participantes en PROMUSA. El Dr.

Karamura explicó que PROMUSA se creó a partir de la premisa de que el mejoramiento genético es la estrategia más sostenible para resolver la mayor parte de las limitaciones de la producción bananera, particularmente para los pequeños agricultores, quienes representan el 80% de la producción global.

Consecuentemente, se crearon grupos de trabajo interdisciplinarios para generar información complementaria que necesita el grupo de trabajo

en mejoramiento genético. Se aclaró que la participación en la agenda de investigaciones de PROMUSA no impide realizar investigaciones sobre los mismos temas.

### Agenda y resultados de la reunión

La reunión acordó la siguiente agenda de discusión y resultados a obtener:

- Estructura, membresía y financiamiento de los grupos de trabajo,
- Prioridades de investigación para el Grupo de trabajo en picudos negros (insumos requeridos para el mejoramiento genético de parte del

Grupo de trabajo en picudos negros del banano),

- Manejo del Grupo de trabajo en picudos negros del banano.

### Resultado 1: Membresía

- Acuerdo sobre la membresía actual en otros grupos de trabajo
- Grupo central: científicos con proyectos activos sobre diversos aspectos del mejoramiento genético,
- Membresía general: personas que trabajan en la biología de los picudos negros, incluyendo a los políticos y aquellos involucrados en la transferencia de tecnología.
- El papel del convocador del grupo de trabajo: se

acordó que el convocador es el responsable por la convocatoria de las reuniones, intercambio de información y enlace con el secretariado de PROMUSA.

Pregunta 1. ¿Quién financia los costos corrientes del convocador, por ejemplo, de las reuniones?

El grupo de trabajo en colaboración con INIBAP, a través de PROMUSA está buscando fondos para las operaciones del grupo central. Comúnmente, las reuniones de los grupos de trabajo de PROMUSA se celebran conjuntamente con otras reuniones internacionales, que es una vía conveniente de organizar las reuniones.

## Resultado 2: Prioridades de investigación para el mejoramiento genético

- Identificar fuentes de resistencia,
  - Desarrollar métodos y protocolos para el cribado,
  - Acordar sobre las referencias /controles.
- Se hicieron las siguientes sugerencias:
- Compilar e intercambiar información sobre los métodos y controles. La normalización de los métodos de muestreo es un prerrequisito para el desarrollo de los métodos de cribado,
  - Tener protocolos normalizados para el cribado de germoplasma e identificación de las fuentes de resistencia,
  - Compilar información sobre los mecanismos de resistencia,
  - Evaluar la posibilidad de la influencia de diferencias específicas de los sitios sobre el mecanismo de resistencia,
  - Desarrollar prioridades de investigación que resuelvan la compatibilidad del mejoramiento

genético con otras prácticas de manejo.

- Considerar el desarrollo de las prioridades de investigaciones en relación con el IPM que contribuyen con el mejoramiento genético del banano.

Algunas instituciones, cuyos intereses de investigación van más allá del mejoramiento genético y preocupadas por estar restringidas por la misión de PROMUSA, propusieron la posibilidad de establecer un grupo de trabajo como entidad separada de esta última. Finalmente, todos acordaron que existiría un grupo central de trabajo en actividades relacionadas con el mejoramiento genético, pero que la membresía general podría incluir a los políticos y a todos aquellos que trabajan en el picudo negro del banano (incluyendo su biología, estado como plaga, métodos de control y transferencia de tecnología). También se sugirió que se creara una lista-servidor que facilite el intercambio de la información sobre todos los aspectos de la investigación del picudo negro del banano.

El hecho de que PROMUSA se concentra en el mejoramiento genético no significa que otras actividades de investigación sobre la protección de los cultivos, como por ejemplo, las feromonas y los entomopatógenos, son menos importantes. Estos tópicos seguirán siendo abarcados con mayor eficacia a medida que los investigadores se beneficien de la dinámica multidisciplinaria creada por PROMUSA.

## Avance

Formación del grupo central: Este grupo debe incluir a los científicos que contribuyen activamente al mejoramiento genético, por ejemplo, a los mejoradores, científicos que trabajan en la resistencia de las plantas hospedantes, identifi-

cando los mecanismos de resistencia, evaluando híbridos resistentes con resistencia al picudo negro del banano, trabajando con las fuentes de resistencia, estudios genéticos relevantes, mejoramiento convencional, aspectos de biotecnología y métodos de cribado.

No se sintió necesario dividir este grupo en científicos quienes tratan con bananos o plátanos u otros tipos de banano. Por ahora, el grupo puede incluir a todas las personas involucradas en los aspectos del mejoramiento del cultivo de todos los bananos y plátanos.

Se sugirió que el grupo adopte los mismos procedimientos de formación que se aplicaron en la formación de otros grupos de trabajo.

Se acordó que:

- Los miembros presentes en esta reunión formarán el grupo de trabajo,
- Se debe elegir a un convocador para encargarse del grupo de trabajo,
- El convocador debe organizar una reunión durante el año que viene para definir el trabajo.

## Contribuciones de diferentes asociados

CIRAD, Guadalupe, expresó el deseo de participar en las actividades relacionadas con la agro-nomía y biotecnología y coordinar las actividades en Guadalupe y Montpellier.

Las organizaciones españolas también proporcionarán apoyo a este grupo de trabajo.

CORPOICA, Colombia, contribuirá con el cribado de los cultivares para evaluar la resistencia al picudo negro del banano y a los nematodos. CORPOICA apoyará con los métodos de cribado y también podría enviar a una persona que trabaje en biotecnología de los picudos negros

## Lista de los participantes

Nombre	Area de investigación
Cliff Gold - IITA	IPM, control microbiano, cribado, mecanismos de resistencia, colaboración con los mejoradores.
Roger Fogain - CARBAP	Manejo Integrado del picudo negro del banano (cribado, resistencia, control biológico).
Consuelo Castrillon - CORPOICA	IPM, cribado.
Stijn Messiaen - KUL	IPM, cribado.
Aurelio Carnero - ICIA	IPM, resistencia genética.
Gloria Lobs - ICID	Inhibidores de proteasa, evaluación postcosecha de las variedades modificadas genéticamente.
Schalk Schoeman - ARC-ITSC	IPM del picudo negro, cribado de los subtipos 'Cavendish'.
Douglas Cubillo - CORBANA	IPM, cribado.
Thierry Lescot - CIRAD-FLHOR	Aplicación de IPM en sistemas diversificados. Enlaces entre la investigación y desarrollo.
Fernando García del Pino - Univ. Autónoma de Barcelona	Nematodos entomopatógenos para el control biológico.
Angeles Padilla - ICIA	Nematodos entomopatógenos para el control biológico, dietas artificiales
Dennis Alpizar - Costa Rica	IPM en plátano, feromonas.
Vincent Ochieng - ICIPE	Uso de la genética en la determinación del biotipo del picudo negro en relación con el control y cuarentena.
Prem Govender - FABI	IPM en las plantaciones bananeras comerciales, miembro activo del grupo de fitopatología, especialmente en relación con la biotecnología.
Felix Ortego - CSIC	Actividad/ proteína insecticida en insectos.
Miguel Montesdeoca - ICIA	Actividad/ proteasas insecticida en el picudo negro del banano, feromonas.
Pedro Castañera - CSIC	Actividad/ proteínas insecticida para el control de los insectos.
Caroline Nankinga - NARO/IITA	IPM, hongos entomopatógenos para el control biológico del picudo negro, cribado en la finca.
Andrew Kigundu - NARO	Uso de genes foráneos para crear resistencia a los picudos negros del banano, inhibidores de proteasa.



(Consuelo Castrillón).

CORBANA, Costa Rica, apoyará con los métodos de cribado y evaluación de germoplasma.

EMBRAPA, Brasil, no fue representada, pero podría estar interesada en el mejoramiento convencional, biotecnología y cribado para evaluar el estrés local; es necesario contactar a esta empresa.

La FHIA, Honduras y EMBRAPA serán contactados para que expresen sus intereses (Marline Fancelli).

ITSC, África del Sur, propuso cribar nuevas variedades, especialmente las variedades del grupo 'Cavendish' (Schalk Schoeman).

La Universidad de Pretoria supervisará a los estudiantes que realizan investigaciones en el

área de biotecnología de los bananos.

CARBAP realizará el cribado de las variedades contra los picudos negros, nematodos y Sigatoka negra (Roger Fogain).

IITA tiene un programa de mejoramiento sobre los bananos de altiplanos y el plátano. IITA trabaja muy estrechamente con NARO y las redes bananeras en África Oriental y Occidental; IITA está interesado en los mecanismos de resistencia, métodos de desarrollo de resistencia convencionales y biotecnológicos (Cliff Gold).

### **Elección del Convocador**

Se propuso que el Dr. Cliff Gold del IITA fuera elegido como convocador. El Dr. Gold ha trabajado

extensamente con el picudo negro del banano y habla tanto inglés como español, además, tiene acceso a las instalaciones de comunicación. Puede coordinar fácilmente las actividades preliminares. Por lo tanto, el Dr. Cliff Gold fue nominado y aprobado unánimemente.

## **Resúmenes de los trabajos presentados durante la reunión**

### **Sesión 1. Estado del *Cosmopolites sordidus* en el mundo**

#### ***Estudios del picudo negro del banano en Camerún***

R. Fogain, S. Messiaen & E. Fouré

CARBAP (Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains) P.O.Box 832, Douala, Camerún

En Camerún, los bananos y plátanos constituyen un alimento básico para una gran parte de la población. Anualmente se produce un total de 1.7 millones de toneladas. Estos cultivos están amenazados por una gran variedad de plagas y enfermedades entre las cuales el picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus*) es la principal plaga de insectos. Por más de seis décadas, se realizaron investigaciones sobre esta plaga, pero el énfasis se dio a las pruebas de los insecticidas para satisfacer las necesidades de las grandes plantaciones comerciales de banano. Solo recientemente se iniciaron los estudios sobre las opciones del manejo integrado, con el fin de establecer estrategias de control que también podrían ser utilizadas por los agricultores sin recursos.

En este informe se presentan las actividades que se llevaron a cabo en Camerún durante los últimos diez años con respecto al picudo negro del banano.

#### **Distribución y dinámicas de la población**

En las áreas productoras de banano y plátano se encuentran cuatro especies de picudos: *Cosmopolites sordidus* (Germar), *Polytus mellerborghi* (Boheman), *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) y *M. hemipterus* (L.). El *C. sordidus* parece ser el único picudo de importancia económica en las plantaciones de banano y plátano (Fogain 1994, Ysenbrandt et al., 2000). El insecto se encuentra en todas las áreas productoras de banano y plátano de Camerún (Fogain 2001). Una encuesta realizada en todas las áreas productoras de banano y plátano

mostró que el porcentaje de ocurrencia del *C. sordidus* en Camerún varía entre el 50 y 90% y que el 82.5% de los agricultores conoce el problema y son capaces de reconocer los daños ocasionados por los picudos negros (Ngamo y Fogain 1998). Las investigaciones sobre las dinámicas de las poblaciones del picudo negro del banano realizadas en las dos zonas productoras más importantes indican, que las poblaciones más altas se observan entre los meses de agosto y septiembre, sin embargo estos resultados deben ser confirmados.

#### **Métodos de control**

En las plantaciones bananeras comerciales, el uso de material de plantación limpio, el control químico y el manejo del hábitat de los picudos negros, son los métodos de control más utilizados para controlar las poblaciones de los picudos. Para los pequeños agricultores con recursos limitados, quienes son los principales productores de plátano, se recomienda el desarrollo de medidas alternativas de control y del manejo integrado de plagas.

#### **Control químico**

En Camerún, a comienzos de la década de los 70, las poblaciones de picudos en las fincas bananeras se controlaban eficazmente con Kepone (Chlordecone). El retiro del producto del mercado causó un aumento significativo en las poblaciones de picudos entre 1975 y 1983 debido al uso de H.C.H. y otros insecticidas menos eficaces como el Dursban (chloropyrifos-ethyl) y Primidic (pyrimiphos-ethyl) para el control de los picudos negros (Kehe 1985). La rápida disminución de la producción bananera fue detenida por el arribo al mercado del Curlone (Chlordecone) a principios de los 90, ya que con una o dos aplicaciones al año las poblaciones del picudo fueron controladas eficazmente. El producto también fue retirado del mercado igualmente a principios de los 90, debido a su degradabilidad limitada. Posteriormente apareció en el mercado el insecticida Regent (fipronil), permitiendo efectuar un control eficaz de las poblaciones del picudo negro con dos o tres aplicaciones al año. Hasta la fecha, este producto es el único insecticida eficaz utilizado en las fincas bananeras comerciales en Camerún. Es de esperar que en el futuro cercano debido a la aplica-

ción continua de este producto se puedan desarrollar poblaciones resistentes del picudo negro. Por lo tanto, se recomienda alternarlo con nematicidas como el Counter (terbuphos) y el Furdan (carbofuran), que también producen actividad insecticida y pueden ser utilizados cuando las poblaciones son relativamente bajas. Los umbrales del tratamiento en las plantaciones bananeras industriales del departamento de Moungo son de un 5% de los ataques a las matas (muestreo en 20 matas por ha) basados en el método de evaluación propuesto por Vilardebo (1973). Otros insecticidas con una acción interesante sobre el picudo negro son: tebupyrifos, athiamethoxam, cartap y imidacloprid.

La realización del control químico a tiempo es una vía eficaz para disminuir las poblaciones de picudos negros adultos en las fincas comerciales, pero es muy costoso para la mayoría de los agricultores con recursos escasos y tiene efectos colaterales desfavorables sobre otros organismos beneficiosos. Durante una encuesta en el sudoeste de Camerún, el 57% de los pequeños agricultores afirmó no usar plaguicidas (Chantelot 1993). El cuarenta y tres por ciento de los agricultores, la mayoría de ellos en las plantaciones mixtas de plátano y cacao, trataban los retoños antes de la siembra y el 87% de ellos utilizaba insecticidas a los cuales los agricultores se refieren generalmente como 'gabaline', que agrupa insecticidas utilizados contra las plagas de la madera o el cacao, como el lindane (HCH), Dursban (chloropyrifos-ethyl) o methylparathion. El tres por ciento de los agricultores que tratan los retoños antes de la siembra, utiliza un nematicida con propiedades de insecticida como el Mocap (Ethoprophos), y el 10% utiliza otros productos (Chantelot 1993). Los resultados de otra encuesta en el oeste, sudoeste y sur de Camerún revelaron que solo el 11% de los pequeños agricultores utilizan plaguicidas, el 57% no utiliza nada, y más del 32% utiliza cenizas, porque cree que ellas controlan a los picudos negros (Ngamo y Fogain 1998).

#### **Control cultural**

Es importante sembrar en un campo no infestado, material de plantación limpio, el cual se puede obtener en plantaciones libres de picudos negros o de

plantas procedentes del cultivo de tejidos. El noventa y cinco por ciento de los pequeños agricultores practica el pelado de los retoños antes de sembrarlos (Chantelot 1993), pero, debido a que la disponibilidad de un buen material de siembra es una de las principales limitaciones en Camerún, a menudo se siembran los retoños infestados de menor calidad. Los cormos residuales en el suelo deben ser destruidos totalmente y los residuos postcosecha cortados para prevenir la multiplicación de los picudos negros. Es necesario realizar el deshierbe regularmente para evitar el desarrollo de un hábitat húmedo favorable para los picudos negros. En las fincas pequeñas, el manejo del hábitat es descuidado, debido a que la mano de obra es limitada o alquilada y no es suficientemente productiva. El deshierbe es mínimo (dos o tres veces al año) y la aplicación de herbicidas es rara.

El apuntalamiento con bambú es realizado por una minoría de agricultores, aunque esta es una práctica que puede ser muy productiva con inversiones mínimas. En un estudio realizado en 240 plantas en 8 pequeñas fincas, llevado a cabo desde el mes de febrero de 1997 hasta el marzo de 1998, la pérdida de plantas debido a los nematodos, picudos negros y estrés nutricional e hídrico fue de 60%, del cual el 37% fue debido a la caída (principalmente al comienzo de la estación lluviosa, por vientos violentos) y el 29% debido al rompimiento del pseudotallo (principalmente al final de la estación seca debido al estrés hídrico) (Anónimo 1998).

Más del 30% de los pequeños agricultores utilizan cenizas caseras durante la siembra porque creen que las cenizas disminuyen el daño ocasionado a los cormos (Ngamo y Fogain 1998). No está claro si las cenizas tienen un efecto insecticida o simplemente actúan como fertilizantes. Bajo condiciones de laboratorio, las cenizas tienen un efecto repelente sobre los *C. sordidus* adultos, pero su toxicidad sobre los adultos es bastante baja (Messiaen 1999).

En las plantaciones bananeras comerciales, las plantas se renuevan cada 5 a 6 años. Durante el período de barbecho, los cormos residuales usualmente son destruidos por las mujeres locales quienes utilizan el barbecho para la producción de otros cultivos alimentarios. Las plantas derivadas de los cultivos de tejidos son tratadas con Regent5G (fipronil) o Counter10G (terbufos) durante la siembra y dos o tres veces al año. Comúnmente se practica la higiene de los cultivos (deshierbe, aplicación de herbicidas, corte de los pseudotallos residuales y de las matas caídas) y apuntalamiento y amarre.

### Control biológico

En CARBAP, la investigación sobre el control biológico con el hongo entomógeno *Beauveria bassiana* empezó en 1994 con el descubrimiento de las cepas locales en Camerún (Fogain 1994). Desde entonces, se realizaron estudios bajo condiciones controladas con el fin de evaluar la eficacia de las cepas y la posibilidad de la producción masiva para los ensayos en el campo. Tres cepas de *Beauveria bassiana*, aisladas de los picudos infectados causó un 92% de mortandad después de 9 días bajo condiciones de laboratorio. Actualmente, se lleva a cabo una investigación sobre el mantenimiento de la viabilidad en relación con los sistemas de entrega y producción masiva, factible para los agricultores o

agentes económicos en Camerún. Los nematodos entomopatógenos fueron aislados de las muestras de suelo recolectadas en Camerún utilizando las larvas de *C. sordidus*.

### Uso de plaguicidas botánicos

La inmersión de los retoños en una solución de neem (*Azadirachta indica*) al 20% durante la siembra protegió a los retoños jóvenes de los ataques de los picudos negros durante varios meses, pero la aplicación a la corona de 100 g tres veces al año no es eficaz para reducir los daños ocasionados por los picudos negros (Fogain y Ysenbrandt, 1998). Esto puede ser explicado por la oviposición reducida a través de su efecto repelente sobre los picudos adultos y por el bloqueo de la incubación de los huevos (Messiaen 1999).

### Trampas

La captura con trampas de pseudotallo puede, pero no siempre, reducir las poblaciones de picudos negros, dependiendo del sistema de cultivo, migración de picudos de las parcelas vecinas infestadas, cantidad de trampas colocadas y poblaciones iniciales. La captura con trampas no parece ser una opción viable en las condiciones de las pequeñas fincas en Camerún, debido a una cantidad poco realista de pseudotallos y mano de obra necesarias y debido a la migración de los picudos negros de una parcela a otra.

En la evaluación de un sistema de trampas masivo con trampas de rampa y carnada de sordidina, los machos produjeron una feromona, lo que indica que las trampas no son suficientemente atractivas para constituir una opción de control viable para las plantaciones bananeras industriales, aunque se debe realizar investigaciones adicionales para evaluar si la atracción puede ser mejorada con otro tipo de trampa y kairomonas (por ejemplo, añadiendo pedazos de pseudotallo o cormo). En las condiciones de las pequeñas fincas, el sistema de trampas masivas con feromona no parece ser una opción viable para controlar las poblaciones de picudos negros, debido a los problemas de almacenamiento y costos (Messiaen 2000a).

### Resistencia de la planta hospedante

El cribado para detectar la resistencia al picudo negro del banano empezó en el CARBAP en 1994 con el descubrimiento de la resistencia en el campo del 'Yangambi km5' y una mayor susceptibilidad de los clones del subgrupo del plátano (*Musa AAB*) en comparación con el 'Cavendish' (*Musa AAA*) (Fogain y Price 1994). Desde entonces las técnicas para el cribado temprano en el campo y bajo condiciones controladas fueron refinadas. En un cribado reciente, se evaluaron más de 80 variedades. Algunas variedades, incluyendo los híbridos de CARBAP, han sido seleccionadas en el campo. Los resultados del cribado preliminar indican que existe una gran variedad de respuestas a los ataques de los picudos negros entre y dentro de los subgrupos genómicos (Messiaen 2000b) y que ninguno de los genotipos es más susceptible a los ataques de los picudos negros que los del subgrupo de plátanos. Los resultados preliminares indican que esto se debe a diferencias en el desarrollo de las larvas. Si los resultados se confirman en el campo, será posible en un plazo de corto a mediano desarrollar híbridos

que serán parcialmente resistentes a *C. sordidus*.

### Conclusiones

Estos resultados indican que durante los últimos diez años se ha recopilado información significativa sobre la distribución y dinámicas de las poblaciones del picudo negro. Aunque se ha obtenido conocimientos sobre las dinámicas de *C. sordidus* en las divisiones de Fako y Mungo (parte litoral y sudoeste de Camerún), es necesario realizar más investigaciones en otras provincias en la parte central y del sur, que son las principales áreas de producción platanera en Camerún (Anónimo 2000). El insecto se encuentra en todos los lugares del país donde se producen bananos y plátanos. Se ha alcanzado algún progreso en la ampliación del espectro de insecticidas especialmente para los productores comerciales. Actualmente, están disponibles varios insecticidas de diferentes grupos químicos, que por lo tanto, pueden ser utilizados en rotación para evitar el desarrollo de resistencia del *C. sordidus*. Los resultados sobre el uso de agentes de control botánicos y biológicos han mostrado que existe un gran potencial para el uso de neem (*A. indica*) y del hongo entomopatógeno *B. bassiana* para el control de los picudos negros. Sin embargo, es necesario realizar ensayos en el campo para confirmar los resultados del invernadero. Se han identificado las fuentes de resistencia y los programas de mejoramiento pueden utilizarlas para desarrollar genotipos con resistencia al insecto. Se está realizando la investigación de otros métodos no químicos como el control cultural y el uso de feromonas.

### Bibliografía

- Anonymous 2000. Annuaire des statistiques du secteur agricole, Agri-Stat No. 006, Direction des Etudes et Projets Agricoles, Ministère de l'Agriculture, Cameroon.
- Anonymous. 1998. L'observatoire des problèmes phytosanitaires. Plantinfo (34):9-11.
- Chantelot E. 1993. Enquête diagnostic plantain dans la province du sud-ouest du Cameroun: description de l'échantillon de parcelles. Document CRBP, 40 pp.
- Fogain R. 1994. Les ravageurs des bananiers au Cameroun. INFOMUSA 3(1):19-20
- Fogain R. 2001. Nematodes and weevil of bananas and plantains in Cameroon: occurrence and host susceptibility. International Journal of Pest Management 47(3):201-205
- Fogain R. & N.S. Price. 1994. Varietal screening of some *Musa* cultivars for susceptibility to the banana borer weevil. Fruits 49(4): 247-251
- Fogain R. & H. Ysenbrandt. 1998. Utilisation du neem (*Azadirachta indica*) et du champignon *Beauveria bassiana* contre le charançon noir des bananiers et plantains. Pp. 223-229 in Proceedings of the Vth Annual Conference Bioscience and Food Security.
- Kehe M. 1985. Le charançon du bananier (*Cosmopolites sordidus* Germar) en culture de bananiers et plantains. Proceedings of the annual reunion of WARCORP, 2-6 December, Douala, Cameroon. 9pp.
- Messiaen S. 1999. Neem (*Azadirachta indica*), wood ashes, coffee husk and hot pepper (*Capsicum* spp.) for controlling the banana weevil (*Cosmopolites sordidus*): investigations into their effect and mode of action. Technical report, CRBP, Cameroon.
- Messiaen S. 2000a. Evaluation of a pheromone baited mass trapping system of *C. sordidus* with *B. bassiana*. Technical report, CRBP, Cameroon
- Messiaen S. 2000b. Early varietal screening of *Musa* varieties for sensibility to the banana weevil: preliminary results. Technical report, CRBP, Cameroon.

Ngamo L. & R. Fogain. 1998. Perception paysanne des problèmes phytosanitaires en culture de bananiers au Cameroun. Document CRBP, 10pp.

Vilardebo A. 1973. Le coefficient d'infestation, critère d'évaluation du degré d'attaque des bananeraies par *Cosmopolites sordidus* Germar, le charançon noir du bananier. Fruits 28(6): 417-426.

Ysenbrandt H., R. Fogain, S. Messiaen & P. Sama Lang. 2000. Infestation levels of weevil species on *Musa* cultivars Grande naine (AAA) and French sombre (AAB) and subsequent plant mortality in southwest Cameroon. African Plant Protection 6(1):21-24.

## Biología y manejo del picudo negro del banano, *Cosmopolites sordidus*, en África del Sur

P. Govender<sup>1</sup> y A. Viljoen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Zoología & Entomología; <sup>2</sup> Departamento de Microbiología & Fitopatología, Instituto de Silvicultura y Biotecnología Agrícola (FABI), Universidad de Pretoria, Pretoria, 0002, África del Sur

El picudo negro del banano, *Cosmopolites sordidus*, que fue introducido al África del Sur hace unos 30 años, es la plaga de insectos del banano más importante. Esta plaga causa pérdidas económicas en las regiones de Mpumalanga y en la costa de Kwazulu-Natal de África del Sur. Colectivamente, esta área representa unos 78% del total de 12 078 hectáreas bajo producción bananera comercial en las áreas subtropicales de África del Sur. El picudo negro tiene un potencial limitado para migrar desde su distribución actual, a menos que se transfiera con el material de plantación infectado. La información sobre el ciclo de vida parece ser consistente con la literatura publicada; el período de desarrollo total es de unos 33 días. Los adultos emergen durante la primavera y a finales del verano y su actividad nocturna aumenta durante o después de las lluvias. Las hembras generalmente ponen un huevo por semana durante el período desde finales de agosto hasta febrero, pero su número puede aumentar debido a condiciones ambientales óptimas y bajas densidades de plaga. Los adultos tienen un promedio de vida de unos dos años. Aunque existen bajas cantidades de picudos negros durante los meses de invierno (de mayo a julio), estas aumentan rápidamente durante la primavera y al principio del verano (de agosto a noviembre). Los picudos negros se monitorean con la ayuda de trampas de pseudotallo a una tasa de 50 trampas/ha. Los valores del umbral económico varían de 1-2 adultos/trampa/semana y 10 o más túneles larvarios por cormo. Los picudos negros son muy atraídos a los cultivares 'Williams' y 'Chinese Cavendish'. Se desarrolló un algoritmo tentativo de recomendación para el manejo del *C. sordidus* en África del Sur. Este algoritmo integra el control cultural normal, trampas, biocontrol y control químico. Se aislaron dos hongos entomopatógenos locales (*Aspergillus flavus* y *Beauveria bassiana*) que actualmente están siendo evaluados en África del Sur, y su especificidad de hospedante y la patogenicidad requieren más investigaciones. Se han examinado varios nematocidas con propiedades insecticidas en los ensayos de campo y para el uso contra el picudo negro del banano y actualmente solo se ha registrado el aldicarb 15% GR a una tasa de 2.03 a 3.00 g a.i./estación sembrada.

## Resumen de la investigación del picudo negro del banano en Uganda

C.S. Gold<sup>1</sup> y W.K. Tushemereirwe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IITA-ESARC, P.O. Box 7878, Kampala, Uganda; <sup>2</sup>Uganda NBRP, P.O. Box 7065 Kampala, Uganda

El picudo negro del banano es la principal limitación para la producción de los bananos de cocción de los altiplanos y de plátanos en África Oriental. La larva ataca al cormo reduciendo la absorción de nutrientes y debilitando la estabilidad de la planta. El ataque en las parcelas de banano recién sembradas puede conducir al fracaso del cultivo. En los campos establecidos, el daño ocasionado por los picudos negros puede dar como resultado la reducción del peso de los racimos, pérdida de plantas, muerte de las matas y tiempo de vida acortado. En Uganda y Tanzania, esta plaga representa el factor primario en la disminución y desaparición del banano de cocción en las áreas de cultivo tradicionales. Uganda ha declarado al picudo negro del banano como la limitación biótica más importante para la producción del banano de altiplanos.

Las características sobresalientes de la biología del picudo negro del banano son el rango reducido de hospedantes (*Musa* y Ensete), vida larga (de hasta 4 años), baja fecundidad (1-3 huevos por semana), proporción de sexos 1:1, actividad nocturna, vuelo poco común y limitada capacidad de dispersión. Comúnmente, el picudo negro entra en los nuevos campos a través del material de plantación infestado. Las poblaciones se acumulan con el paso de tiempo así que los problemas de la plaga son más pronunciados en las plantaciones más viejas. En un ensayo en Uganda, la pérdida del rendimiento aumentó de 5% en el cultivo del primer ciclo, hasta el 47% en el cultivo del cuarto ciclo. Esta pérdida se atribuyó igualmente tanto a la pérdida de plantas como a la reducción del peso de los racimos. Al llegar al 7o ciclo en un segundo ensayo, el 35% de las matas murió en las parcelas infestadas con los picudos negros, en comparación con el 2% en las parcelas testigo. Para todo el ensayo, las pérdidas totales de rendimiento fueron de 50%.

Aunque los plaguicidas pueden representar un control eficaz, en Uganda el picudo ha desarrollado resistencia a uno de los químicos. El IITA y el Programa Nacional de Investigación Bananera de Uganda trabajan estrechamente en el control cultural, control biológico y resistencia de la planta hospedante al picudo negro del banano. La disponibilidad de material de plantación limpio es un medio importante para mantener a los picudos negros lejos de las plantaciones nuevas, pero los efectos normalmente desaparecen después de unos cuantos ciclos de cultivo. Un estudio de trapeo de un año mostró algunos efectos positivos para la reducción de la población, pero este tipo de control está fuera del alcance económico de la mayoría de los productores de Uganda. Se enfatiza el uso de neem, hormigas endémicas, control microbiano (por ejemplo, *Beauveria bassiana* y endófitos) y resistencia de las plantas hospedantes. Los datos disponibles indican que todos los clones del banano de los altiplanos son susceptibles al picudo negro del banano. Sin embargo, los ensayos de cribado sugieren que existen muchos clones resistentes de *Musa* y que la antibiosis es el método principal de resistencia de estos clones.

## El *Cosmopolites sordidus* en la región autónoma de Madeira

Luís Nuno V. P. Ribeiro

Direcção Regional de Agricultura da Região Autónoma da Madeira – Portugal

Direcção de Serviços de Produção Agrícola/Divisão de Bananicultura, Centro de Bananicultura – Lugar de Baixo – 9360-119 Ponta do Sol, Madeira

La Isla de Madeira está situada a una latitud 32°38' Norte y longitud 16°54' Oeste y a una distancia de 741 km de la Isla de Tenerife. La bananera ocupa una área de cerca de 850 hectáreas y las condiciones climáticas son subtropicales.

Desde el siglo XVII, el banano se cultiva en la isla. La variedad más cultivada es 'Pequeña enana' introducida en 1842. Se ha descrito la presencia del picudo negro del banano, *Cosmopolites sordidus*, desde hace muchos años sin que se convierta en una plaga de gran importancia. La primera identificación remonta al siglo XIX.

A partir de 1992, se iniciaron la instalación de sistemas de riego localizado y el establecimiento de plantaciones de nuevas variedades, producidas *in vitro*. En ambas situaciones, ocurren problemas de fuertes ataques del picudo. En el primer caso (sistema de riego), los ataques aumentaron porque se dejaron de efectuar algunas prácticas culturales, especialmente el entierro de los residuos de cultura, que contribuían al control de la plaga. En el segundo caso, los datos disponibles indican que hay una preferencia de la plaga en atacar relativamente más las plantas producidas *in vitro*. A pesar de existir en todas las fincas, los problemas de ataques ocurren más en las dos situaciones mencionadas arriba.

Durante algunos años, se utilizó como tratamiento insecticida la pulverización de la base del pseudotallo con un producto que incluía una base activa en foxime (Baytison). Se utilizó también en pulverizaciones el mismo producto con una base activa en pirimifos-etilo (Bullit). Esta práctica fue abandonada porque estos productos dejaron de ser comercializados. El insecticida utilizado actualmente es el etoprofos (Mocap 10G), que se aplica directamente en el suelo.

Recientemente iniciamos un trabajo de control de la plaga con la utilización de trampas con feromona producidas por N.P.P. Calliope en Francia. Los primeros datos son bastante positivos.

## Prospección y detección del picudo en la isla de Tenerife

Ruth Torres del Castillo y Clemente Méndez Hernández

ICIA, Tenerife, Canary Islands, Spain

El Servicio de Agricultura del Gobierno de la Isla de Tenerife (Cabildo) ha realizado una serie de prospecciones para determinar la extensión y el grado de ataque de *Cosmopolites sordidus* Germ. Las mismas fueron realizadas entre 1996 y 2001, repitiendo el estudio cada tres años según el área estudiada. En el estudio se determinó la correlación existente entre la trampa de doble disco de pseudotallo, pelado y corte horizontal del cormo, encontrándose una buena correlación ( $R^2=0.93$ ) entre el pelado y corte horizontal del rizoma. La distribución según el tipo de riego, la altura de las fincas y el cultivar utilizado



(‘Pequeña enana’ o ‘Gran enana’) también fue estudiada. Se comparó los daños y la extensión de esta plaga en los distintos estudios realizados en el tiempo y en la misma área.

## Manejo del picudo negro del banano y plátano en Costa Rica

Douglas Cubillo y Mauricio Guzmán.

Sección de Fitopatología y Entomología, Dirección de Investigaciones de CORBANA S.A.

El manejo de *Cosmopolites sordidus* en banano y plátano en Costa Rica se basa en el control químico y cultural. El daño por la plaga es mayor en el plátano (*Musa AAB*) que en banano (*Musa AAA*), debido a diferencias en la susceptibilidad de los cultivares y en las prácticas de manejo. Se han realizado estudios de la ecología de la plaga y se han evaluado métodos de control químico, biológico, etológico y cultural, para reducir el daño en las plantaciones. La combinación de algunos de estos métodos podría ser la mejor alternativa para el manejo de la plaga.

## Sesión 2. Control del picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*

### Revisión de *Beauveria bassiana* con respecto al control microbiano del picudo negro del banano en Uganda

C.M. Nankinga<sup>1</sup>, C.S. Gold<sup>1</sup>, W. Tushemereirwe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>International Institute of Tropical Agriculture, Eastern and Southern Africa Regional Centre, P.O. Box 7878, Kampala, Uganda; <sup>2</sup>National Banana Research Programme, Kawanda Agricultural Research Institute, P.O. Box 7065, Kampala Uganda

En Uganda se está llevando a cabo una investigación colaborativa para evaluar el potencial del control microbiano de la *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hyphomycetes) para el picudo negro del banano, *Cosmopolites sordidus* (Germer), (Coleoptera: Curculionidae). Desde inicios de los años 90, los estudios de aislamiento, caracterización y patogenicidad dieron como resultado una selección de aislados indígenas de *B. bassiana* que tenían características de un buen crecimiento y reproducción, causando una mortalidad de picudos negros del 50-100% dentro de 10-21 días después de la inoculación, dependiendo de la virulencia del aislado. En los ensayos a pequeña escala conducidos en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Kawanda, se examinó un aislado de *B. bassiana* (código G41), que mostró una alta patogenicidad al *C. sordidus* y crecimiento y esporulación superiores en comparación con otros aislados investigados. Se evaluaron tres métodos de la entrega de *B. bassiana*, a saber, (i) aplicación del hongo a la superficie del suelo alrededor de la base de la mata de banano (ii) aplicación del hongo con las trampas confeccionadas con pseudotallo y discos del cormo y (iii) aplicación del hongo a los retoños de banano para la plantación. El tratamiento de los retoños de

banano con una formulación de *B. bassiana* en el cultivo del maíz seco y una formulación basada en maíz y suelo (2.3 x 1012 conidios por hoyo de plantación), redujo el daño causado por los picudos negros en un 20-30% dentro de un período de 8 semanas, después de la plantación en hoyos excavados en un campo bananero de 2-3 años de edad del cultivar de cocción local EAAH. En los retoños tratados se observaron adultos y larvas de *C. sordidus* muertos después de aplicar el cultivo de los hongos *B. bassiana* indicando la infección con los picudos negros de banano en una etapa inmadura. Al aplicar las formulaciones de *B. bassiana* basadas en maíz y suelo debajo de las trampas de pseudotallo y de los discos del cormo, se observó que las condiciones de humedad bajo las trampas, además de atraer a los picudos negros, también proporcionaban un ambiente favorable para una esporulación extra de *B. bassiana* y esto permitió al hongo permanecer potencialmente infectivo. Los cultivos de *B. bassiana* recolectados de las trampas en el campo durante las primeras 5 semanas después de la aplicación, eran muy infectivas causando la mortalidad de los picudos negros de 60-100% en 14 días, pero la infectividad del hongo se redujo durante la estación húmeda; probablemente debido a la contaminación por otros microorganismos del suelo. La formulación del cultivo de maíz (2 x 1015 conidios/ha) y la formulación basada en maíz y suelo (2 x 1014 conidios/ha) aplicadas al suelo en las bases de las matas redujo las poblaciones de los picudos negros adultos en un 30-50% y los mantuvo a niveles más bajos que en las parcelas sin tratar. Las plantas tratadas también mostraron menos daños ocasionados por los picudos negros y se observó hasta un 16% de la infección con *B. bassiana* en los picudos negros muertos en el campo.

Los estudios anteriores han demostrado que existe un buen potencial en el uso de *B. bassiana* para el control microbiano del picudo negro del banano. El equipo compuesto por los científicos del Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), Programa Nacional de Investigación Bananera de la Organización Nacional de Investigaciones Agropecuarias (NARO), CABI Biosciences de RU y la Universidad de Reading, está empezando una nueva investigación con respecto a la producción y formulación de *B. bassiana* masivas y explorando otros sistemas de entrega de *B. bassiana* para integrarlos con otras medidas de control en las condiciones de los agricultores locales. La investigación está dirigida hacia el desarrollo de una producción masiva económicamente viable que superará los problemas asociados con la eficacia, persistencia y transmisión de los hongos en el campo. También se realizarán nuevas investigaciones sobre las relaciones ecológicas entre los picudos negros del banano y los entomopatógenos con el fin de comprender las condiciones bajo las cuales la *B. bassiana* podría ser más eficaz para controlar esta plaga. Se realizarán estudios sobre el comportamiento del picudo negro del banano que pueda influenciar la probabilidad del insecto para contactar al patógeno, los biotipos en las especies de *Cosmopolites sordidus* (que puedan exhibir diferentes niveles de susceptibilidad al patógeno) y la viabilidad del patógeno y de la virulencia bajo condiciones aeróbicas (trampas ordinarias de pseudotallo) o anaeróbicas como en los sistemas de trapeo basados en semioquímicos. Agradecemos el financiamiento por parte de la Fundación Rockefeller, DFID y BMZ para apoyar este trabajo.

## Nematodos entomopatógenos para el control de las plagas de insectos. Perspectiva para el control del *Cosmopolites sordidus*

Fernando García del Pino

Universidad Autónoma, Barcelona

Los nematodos entomopatógenos (*Heterorhabditis* spp. y *Steinernema* spp.) se utilizan en el biocontrol contra diferentes plagas de insectos del suelo y del hábitat oculto. Ellos se asocian simbióticamente con las bacterias de los géneros *Photobacterium* y *Xenorhabdus*, respectivamente. Los nematodos jóvenes infectivos que albergan células de las bacterias específicas en sus intestinos, buscan a los insectos en el suelo. Después de la penetración en el insecto hospedante, ellos liberan sus simbiontes. Las bacterias se multiplican y producen condiciones adecuadas para la reproducción de los nematodos en el insecto muerto. Después de unas dos semanas los nematodos juveniles infectivos emigran del cadáver y buscan a un nuevo hospedante. Actualmente, el uso de los nematodos entomopatógenos para el control de *Cosmopolites sordidus* debería ser económicamente factible. Las técnicas de producción y formulación han sido mejoradas para proporcionar estos nematodos a los productores a costos equivalentes o más bajos que los costos de los insecticidas químicos. La aplicación de los nematodos entomopatógenos requiere menos trabajo que la aplicación de los insecticidas, evita los problemas de la resistencia a los insecticidas y tiene pocos o ningunos efectos sobre el ambiente. Sin embargo, para obtener resultados esperados confiables, es necesario mejorar las técnicas de aplicación que permiten a los nematodos buscar plagas objetivo y seleccionar especies y cepas apropiadas de los nematodos entomopatógenos. Finalmente, se discuten diferentes estrategias actuales para el control del *Cosmopolites sordidus* utilizando nematodos entomopatógenos.

## El uso de dos insecticidas-nematicidas en el control del picudo negro *Cosmopolites sordidus* y el nematodo *Radopholus similis* y su efecto sobre algunas variables de producción en el cultivo de banano ‘Gran enano’ bajo las condiciones de Costa Rica

Dennis Alpizar M.

Estación Experimental Los Diamantes. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Guápiles, Limón, Costa Rica.

En Costa Rica, la práctica más común para el control de *Cosmopolites sordidus* es el uso de insecticidas-nematicidas. Otras de las prácticas utilizadas han sido la utilización de trampas de origen vegetal

provenientes del corno o del pseudotallo. No obstante el uso de la feromona de agregación Cosmulture® introducida a finales de los años noventa para el picudo negro del banano, constituyó una nueva práctica en las plantaciones de banano y plátano en este país.

El objetivo de ésta investigación fue comparar la aplicación y no de dos insecticidas-nematicidas en condiciones similares: el terbufos con cuatro aplicaciones y del etoprofos con una aplicación durante dos años.

Los resultados encontrados al efectuar la prueba 't' de Fischer (0.05) al final de los dos años de evaluación, mostraron valores significativos para la variable 'peso de racimo', que fue ligeramente superior en donde no hubo aplicación del insecticida-nematicida y el 'número de nematodos (*R. similis*) en la raíz funcional del hijo', que resultó menor en el tratamiento con insecticida-nematicida. El resto de variables no se diferenciaron estadísticamente al comparar ambos tratamientos.

Las aplicaciones de insecticida-nematicida tuvieron un costo de US\$1200 por hectárea durante los dos años de la prueba.

### Métodos alternativos de control del picudo de la platanera

A. Padilla Cubas, F. García del Pino, L.V. López Llorca & A. Carnero Hernández

ICIA, Apartado aéreo 60, 38080 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España

En la actualidad, *Cosmopolites sordidus* (Germar) representa la plaga más importante en el cultivo del plátano en Canarias. Dado los resultados obtenidos con tratamientos químicos, se ha planteado buscar alternativas a dicho control. Para ello se ha realizado un muestreo en suelos naturales y cultivados de la provincia de Santa Cruz de Tenerife, así como de organismos parasitados de forma natural. En ellos, mediante la técnica de 'trampas de *Galleria mellonella*', se ha hecho una bursqueda de nematodos y hongos entomopatógenos.

La presencia de nematodos entomopatógenos ha sido positiva en dos puntos del muestreo, donde se han aislado *Heterothabditis* spp. y *Steinernema* spp. Respecto al aislamiento de hongos entomopatógenos, se han obtenido aislados de los siguientes géneros: *Aspergillus flavus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* spp. mientras que *Verticillium lecanii* lo aislamos parasitando mosca blanca, recolectada en distintas localidades. Se ha realizado una caracterización morfológica de los hongos, así como un estudio sobre la capacidad de germinación, esporulación y producción de biomasa, el comportamiento en un rango de temperaturas, de pH y humedad disponible en el medio. También se ha estudiado la actividad enzimática que presentan estos aislados, en concreto la actividad quitinolítica, amilolítica, proteolítica, lipolítica y pectinolítica.

En este estudio también se ha realizado bioensayos sobre *Galleria mellonella* y, basándose en los resultados obtenidos, se ha inoculado *C. sordidus* usando dos métodos diferentes. También la interacción que podían tener estos aislados con *Fusarium oxysporum*, por ser el principal patógeno del cultivo, estuvo estudiada.

### Comportamiento de hongos entomopatógenos en tejidos vegetales

L.V. Lopez-Llorca

Departamento de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, Universidad de Alicante, Aptdo. Correos 99, 03080 Alicante, España

En nuestro laboratorio hemos estudiado el uso de restos vegetales de viveros de plantas ornamentales para la producción de inóculo de hongos antagonistas, incluyendo entomopatógenos.

Las semillas de *Phoenix dactylifera* resultaron especialmente adecuadas para la producción de *Beauveria bassiana*. Al observar el sustrato al microscopio electrónico de barrido, comprobamos que es altamente poroso, lo que permite el desarrollo y esporulación fúngicas. En el suelo, el formulado con *B. bassiana* permite al hongo esporular y vencer la micostasis. En dichas semillas *B. bassiana* sobrevive y mantiene su patogenicidad en el suelo durante al menos tres meses. El formulado fue capaz en bioensayos de infectar a una plaga de palmáceas (*Carpophilus dimidiatus*) similar al picudo. *B. bassiana* es además capaz de colonizar peciolos de *P. dactylifera*. Sugerimos la hipótesis de que el comportamiento endófitico de los hongos entomopatógenos es un recurso útil en el control de plagas como el picudo.

### Investigaciones sobre el picudo negro de Musa (Cosmopolites sordidus) en CARBAP

E. Fouré<sup>1</sup>, S. Messiaen<sup>1</sup>, R. Fogain<sup>1</sup>, T. Lescot<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CARBAP, B.P. 832, Douala, Camerún; <sup>2</sup> CIRAD-FLHOR BPA, Boulevard de la Lironde, TA50/PS4, 34 398 Montpellier Cedex 5, Francia

El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus* es la plaga más importante que afecta la producción de los bananos y plátanos en África. El Centro Africano para el Banano y el Plátano (African Center of Banana and Plantain, CARBAP, anteriormente CRBP, basado en Nyombé, Camerún) realiza investigaciones del *C. sordidus*, concentrándose en el desarrollo del manejo integrado de plagas:

- resistencia genética,
- estudios de la dinámica de las poblaciones,
- Control biológico (incluyendo los efectos de bio-insecticidas y uso de feromonas y los sistemas de trampas) y químico en un concepto del IPM.

Se presentan los resultados sobre la selección de las variedades con respecto a la resistencia contra el picudo negro del banano, evolución del picudo negro y efectos sobre la producción del plátano en el sudoeste de Camerún, los mejores parámetros para la representación de una infestación en el campo, eficacia y límites de los insecticidas químicos, uso de feromonas en un sistema de trampa, eficacia de la *Beauveria bassiana* en el sudoeste de Camerún y uso de plantas insecticidas contra el picudo negro del banano.

### Investigación del picudo negro de Musa (Cosmopolites sordidus) en CIRAD

Christian Chabrier<sup>1</sup>, Thierry Lescot<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CIRAD-FLHOR BPA, B.P. 153, 97202 Fort de France, Martinica, Francia, <sup>2</sup> ver arriba

Las bases de las investigaciones que realiza el Programa de Banano, Plátano y Piña (Banana, Plantain and Pineapple programme, BPA) de CIRAD-FLHOR se encuentran en Indias Occidentales y en los laboratorios centrales en Montpellier, Francia, con una asociación especial con el CARBAP en Camerún y aplicaciones en las islas del Océano Indico.

Las investigaciones se concentran en el desarrollo del manejo integrado de plagas sobre los mismos tópicos principales que en CARBAP (ver arriba).

Los resultados presentados se concentran en el manejo integrado de plagas con la combinación de las feromonas sintéticas (2 tipos) y en el uso de las bacterias y nematodos entomopatógenos, así como en la eficacia y límites de los insecticidas químicos.

### Sesión 3. Biología molecular

#### Resistencia de los genotipos diploides de banano al sordidus (Germ. 1824) (coleoptera: curculionidae)

M. Fancelli, A. Souza Do Nascimento, N. Fritzon Sanches, R. Correa Caldas y Sebastiao De Oliveira E Silva

EMBRAPA, Mandioca y fruticultura, Rua EMBRAPA s/n, Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

La resistencia de las plantas a los insectos se considera como una estrategia segura y duradera para el control del *Cosmopolites sordidus*, especialmente en las plantaciones con bajas inversiones. A pesar de la existencia de una cantidad de variedades bastante grande, la cantidad de cultivares utilizados en Brasil es más bien pequeña, haciendo la evaluación de los nuevos genotipos, introducidos o generados por los programas de mejoramiento genético, muy importante. Aunque bajo condiciones de campo todas las variedades se infestan, algunos estudios mostraron diferencias entre los genotipos con respecto al desarrollo, supervivencia y atraktividad para la oviposición. Debido a la expansión presente del cultivo bananero en Brasil y al desarrollo de las metodologías para la producción de las plántulas in vitro, hubo un interés creciente por las variedades mejoradas, incluyendo la resistencia al picudo negro del banano. Los híbridos tetraploides de banano (AAAB) son obtenidos por el cruzamiento de los genotipos diploides (AA) con los cultivares triploides (AAB) tipos Prata (Silver) y Maçã (Pomme). Actualmente, se está llevando a cabo un programa de mejoramiento genético de los genotipos diploides con el fin de aumentar el rendimiento y la resistencia a las plagas, y una razón adicional, para formar una sociedad estrecha con los mejoradores y genéticos en la ejecución de los estudios relacionados con la resistencia de los genotipos diploides al picu-

do negros del banano.

Los objetivos del presente trabajo son:

- Evaluar los híbridos diploides de banano en relación con *Cosmopolites sordidus*
- Estudiar los mecanismos de resistencia al picudo negro del banano en los genotipos diploides

## Metodología

Se están estudiando los siguientes genotipos: 0304-02; 0337-02; 0323-03; 1318-01; 2803-01; 4223-03; 5012-02; 4215-02; 4279-13 y 4252-03. Estos materiales son híbridos diploides generados por el Programa de Mejoramiento Genético de Banano, la mayoría de ellos presentan resistencia a la Sigatoka negra. Las plántulas de estos genotipos son colocadas en hoyos de plantación examinados en el campo e infestadas por los adultos del picudo negro del banano utilizando la metodología adoptada por Seshu-Reddy y Lubega (1993). Las plantas sin insectos se mantienen bajo las mismas condiciones para conseguir información sobre los daños ocasionados por la plaga. Como patrón susceptible se utiliza el genotipo Terra. Las variables analizadas están relacionadas con los daños (coeficiente de infestación y la cantidad de insectos presentes en las galerías), con las características agronómicas (altura de la planta, diámetro del pseudotallo, período hasta la emisión de la inflorescencia y rendimiento) y con la producción (peso del racimo, cantidad de manos, diámetro de los dedos y la cantidad de dedos por manos). Para los mismos genotipos se estudiarán, en condiciones de laboratorio, el desarrollo de los insectos y la ausencia de la preferencia para la alimentación y oviposición con el fin de identificar los tipos de resistencia involucrados en la interacción entre los picudos negros del banano y la planta. Las variables relacionadas con el desarrollo de los insectos serán la duración y la viabilidad de las fases larval y pupal, el peso de las pupas después de 24 horas y la cantidad de adultos con defectos. Con respecto a la ausencia de la preferencia, se realizarán pruebas de atractividad y consumo. Se harán los análisis para identificar la presencia de sustancias atractivas y repelentes, estimuladores o inconvenientes de fagos. La dureza del rizoma se evaluará con la ayuda de un penetrómetro.

## Bibliografía

Seshu-Reddy K.V & M.C. Lubega. 1993. Evaluation of banana cultivars for resistance to tolerance of the weevil *Cosmopolites sordidus* Germar. Pp. 143-148 in Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests. (J. Ganry, ed.), CIRAD/INIBAP, Montpellier, France.

## Aspectos de la resistencia al picudo negro del banano en *Musa* y perspectivas para la ingeniería genética contra el picudo negro

Andrew Kiggundu<sup>1</sup> y Clifford S. Gold<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Banana Research Programme, Kawanda Agricultural Research Institute, P.O. Box 7065, Kampala, Uganda y el Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, 74 Lunnon Road, Hillcrest, Pretoria, 0002 Africa del Sur; <sup>2</sup>International Institute of Tropical Agriculture (IITA). East and Southern Africa Regional Centre (ESARC) P. O. Box 7878, Kampala Uganda

El picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus* Germar) es probablemente la plaga más importante que afecta la producción de banano y plátano. Los ataques de los picudos negros producen severas pérdidas de los cultivos como resultado de la caída de las plantas, rajadura, muerte y peso reducido de los racimos (INIBAP 1986). Los plaguicidas son eficaces, pero no factibles desde el punto de vista económico, ya que la mayoría de los agricultores son pequeños productores de subsistencia. En adición, el picudo negro ha demostrado resistencia a una amplia serie de insecticidas y aunque el control cultural puede contribuir al manejo de los picudos negros, los requerimientos de mano de obra y de materiales a menudo limitan su adopción (Gold 1998).

Se ha sugerido la resistencia de la planta hospedante como una intervención potencial a largo plazo para el control del picudo negro del banano en las pequeñas fincas dentro de una perspectiva del manejo integrado de plagas (IPM) (Seshu-Reddy y Lubega 1993). Sin embargo, el desarrollo de la resistencia a los picudos negros en el banano se encuentra aún en su infancia y los programas de mejoramiento solo recientemente han incluido la resistencia al picudo negro como uno de los criterios para la intromisión en la *Musa* cultivada. La naturaleza incómoda de los métodos de cribado para detectar la resistencia ha convertido el trabajo con los picudos en una tarea difícil, lenta y a veces costosa. La falta de entendimiento de los mecanismos de resistencia y los genes asociados, conjuntamente con los largos períodos de generación, esterilidad en los triploides de la mayoría de los cultivares comestibles y un pobre establecimiento de las semillas debido a la incompatibilidad, han dado como resultado esfuerzos limitados en el mejoramiento convencional de *Musa* con respecto a la resistencia al picudo negro del banano.

La literatura limitada disponible sobre la resistencia a los picudos negros en *Musa* ha sido revisada extensamente por Pavis y Lemaire (1997), Kiggundu et al. (1999) y Kiggundu (2000) sugiriendo que la antibiosis es el mecanismo clave de la resistencia. Las fuentes de resistencia también han sido encontradas en el germoplasma de *Musa* evaluado por Fogain y Price 1994, Lemaire 1996, y Kiggundu et al. (en imprenta).

En un ensayo de cribado conducido durante 4 ciclos de cultivo en el International Institute of Tropical Agriculture-East and Southern Regional Center (IITA-ESARC), en Uganda, hemos descubierto que los bananos de altiplanos de Africa Oriental (EAHB) (grupo genómico AAA-EA) y plátanos (AAB) han sido los más susceptibles. Les siguieron los bananos ABB (cvs. 'Pisang awak' y 'Bluggoe'), híbridos derivados de los bananos diploides, bananos AB (cvs. 'Ndiizi' y 'Kisubi'), bananos AAA (cvs. 'Yangambi km5', 'Cavendish' y 'Gros Michel') y, finalmente, el tipo silvestre AA 'Calcutta 4' siendo el más resistente. Se mostró que varios factores fitofonológicos contribuyen con la resistencia a los picudos en el diferente germoplasma evaluado. El contenido de la materia seca (representando la dureza del corno), producción de resina/savia del corno y la habilidad de retoñar, fueron importantes para la resistencia a los picudos en todas las accesiones. El diámetro del corno (tamaño) también mostró importancia en los cultivares EAHB. Las investigaciones preliminares de la base química de la resistencia utilizando los perfiles de cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC) de los extractos del corno indicaron, que realmente los compuestos se encontraban presentes en algunos de los cultivares resistentes (especialmente aquellos con un genoma B) que se correlacionó negativamente con los daños ocasionados por los picudos negros. Estos compuestos estaban ausentes en la mayoría de los cultivares susceptibles evaluados. Ortiz et al. (1995) estudiaron la herencia genética de la resistencia al picudo negro del banano y descu-

brieron que este es más bien un complejo que controla más de un gen con dominancia parcial hacia la susceptibilidad. Ellos encontraron significativos efectos adicionales y genes modificadores, más efectos de dosis de genes de susceptibilidad, causando una mayor susceptibilidad en los niveles de ploidia mayores.

Una combinación del mejoramiento por cruzamiento convencional con las técnicas biotecnológicas como la selección asistida por marcadores (MAS) y la transformación genética, parecen representar una opción atractiva para un mejor entendimiento de la resistencia al picudo negro, mientras que al mismo tiempo se están desarrollando cultivares resistentes a través de modernas técnicas de la biotecnología de las plantas. Las fuentes de transgenes pueden incluir el propio genoma de *Musa* y los genomas en los reinos vegetales y animales (Carozzi y Koziel 1997). El Programa Nacional de Investigación Bananera en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias de Kawanda, Uganda, en colaboración con IITA-ESARC están interesados en desarrollar un programa de selección asistido por marcadores para identificar los marcadores y posiblemente los genes de resistencia. En el Instituto de Silvicultura y Biotecnología Agrícola (FABI), Africa del Sur, estamos realizando estudios para identificar los genes expresados diferencialmente durante la infestación con los picudos negros versus *Musa* susceptible. Al mismo tiempo, los científicos de FABI están investigando el potencial del uso de los inhibidores de proteasa y de alfa-amilasa para el control transgénico del picudo negro del banano.

La belleza de la ingeniería genética está en que los genes de varias fuentes pueden ser explotados para la transformación del banano y que este puede ser transformado al mismo tiempo utilizando una estrategia de pirámide de genes. Sin embargo, hace falta una gran parte de la información sobre la naturaleza compleja de la resistencia al picudo negro y el análisis con marcadores moleculares puede ayudar a realizar análisis y mapeo genéticos expeditos. También existen oportunidades para desarrollar la resistencia a los picudos negros de manera expedita a través de la transformación genética.

## Bibliografía

- Carozzi N. & M. Koziel (eds). 1997. Advances in insect control the role of transgenic plants. Taylor and Francis, London. 301pp.
- Fogain, R. and N.S. Price. 1994. Varietal screening of some *Musa* cultivars for susceptibility to the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). Fruits 49(4):247-251.
- Gold C.S. 1998. Banana weevil: ecology pest status and prospects for integrated control with emphasis on East Africa. Pp. 49-74 in Proceedings of a Symposium on Biological Control in Tropical Habitats: Third International Conference on Tropical Entomology 30 October - 4 November 1994. (S.K. Saini, ed.). ICIPE, Nairobi, Kenya.
- INIBAP 1986. Banana Research in East Africa. Proposal for a regional research development Network. INIBAP, Montpellier, France.
- Kiggundu A., D. Vuylsteke & C. Gold. 1999. Recent advances in host plant resistance to banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar). Pp. 87-96 in Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. (E. A. Frison, C.S. Gold, E.B. Karamura and R.A. Sikora, eds.). INIBAP, Montpellier, France.
- Kiggundu A. 2000. Host-plant interactions and resistance mechanisms to banana weevil *Cosmopolites sordidus* (germar) in Ugandan *Musa* germplasm. M.Sc. Thesis. University of the Orange Free State, Bloemfontain, South Africa.
- Lemaire L. 1996. Les relations sémiocimiques chez le charançon du bananier *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) et la résistance de sa plante-hôte, le bananier. Thèse de doctorat,

Université de Montpellier II, France.  
Ortiz R., D. Vuylsteke, B. Dumpe & R.S.B. Ferris.  
1995. Banana weevil resistance and corm hardness  
in *Musa* germplasm. *Euphytica* 86:95-102.  
Pavis C. & L. Lemaire. 1997. Resistance of *Musa*  
germplasm to the banana borer weevil,  
*Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera:  
Curculionidae) *INFOMUSA* 5(2):3-9.  
Seshu-Reddy K.V & M.C. Lubega. 1993. Evaluation of  
banana cultivars for resistance to tolerance of the  
weevil *Cosmopolites sordidus* Germar. Pp. 143-148  
in *Breeding banana and plantain for resistance to  
diseases and pests*. (J. Ganry, ed.), CIRAD/INIBAP,  
Montpellier, France.

## **Biodiversidad genética en el picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus*) de diferentes regiones donde se cultiva el banano**

Vincent Ochieng

International Center for Insect Physiology and Ecology  
(ICIPE), PO BOX 30772, Nairobi, Kenia

Se analizó la variabilidad genética en las poblaciones del picudo negro del banano en una gran cantidad de muestras obtenidas de 15 países tropicales productores de banano, utilizando polimorfismo de ADN amplificado aleatoriamente (RAPD). El estudio incluyó 46 marcadores RAPD. Dentro de los polimorfismos, la variabilidad medida como porcentaje de RAAPD polimórficos, varió entre 78.3% y 97.8%. La variabilidad genética fue medida utilizando el índice de información de Shannon y dividida entre y dentro de los componentes de las poblaciones. En total, la variación genética entre las poblaciones de *C. sordidus* fue (Hsp-Hpop)/Hsp=25.3%. La diversidad genética para las especies (Hsp) fue 83.4%. El promedio dentro del valor de las poblaciones (Hpop) para todas las poblaciones fue 62.3%. La diversidad genética total fue explicada por una gran variación entre las poblaciones (promedio Gst=0.213), que es consistente con el bajo flujo génico entre las pobla-

ciones (Nm+0.811). Los valores altos entre las variaciones genéticas de las poblaciones en este estudio pueden ser explicados por la limitada migración debido a una movilidad restringida y monofagia de los picudos negros del banano. En un estudio paralelo, se utilizó el análisis PCR-RFLP para diferenciar el CO1 mtADN de 19 poblaciones del picudo negro del banano. El método PCR-RFLP produjo perfiles poco ambiguos que diferenciaban ciertas poblaciones de otras. En otro estudio, la variabilidad genética en las poblaciones del picudo negro fue analizada en muestras obtenidas en 15 sitios de las regiones productoras de banano en Uganda. Aunque las poblaciones del picudo negro en este caso fueron muy similares genéticamente, se observó alguna variabilidad.

## **Métodos alternativos para el control del picudo de la platanera *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae)**

P. Castañera, F. Ortego, M. Montesdeoca  
Montesdeoca, A. Carnero Hernández  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),  
Madrid, España.

El picudo de la platanera (PPL), *Cosmopolites sordidus* está considerado como la principal plaga de platanera en el mundo. En Canarias apareció un primer foco en 1945 que fue erradicado, pero en 1987 apareció de nuevo, y pese a todas las medidas tomadas, principalmente químicas y en segundo lugar culturales, la plaga se ha ido extendiendo con daños cada vez más graves.

Recientemente, se ha iniciado un proyecto (RTA 02-100-C3) que tiene por objeto sentar las bases para la puesta en práctica de estrategias de control integrado del PPL, con objeto de mantener la rentabilidad del cultivo con métodos de control menos contaminantes y la obtención de un plátano más ecológico y con menos competencia en su comercialización en Europa respecto al de otros países productores.

Los objetivos del proyecto son: 1) optimización de la aplicación de feromonas para monitoreo y control del picudo; 2) establecimiento de la relación entre el grado de daño del PPL y las pérdidas de rendimiento en el cultivo de la platanera; 3) determinación de la variabilidad inter e intra-poblacional del PPL y su relación con el control biológico; 4) reconocimiento y acción de organismos entomopatógenos que afectan a PPL en platanera.

Como parte de este proyecto, pretendemos determinar la variabilidad inter e intra-poblacional del PPL en poblaciones procedentes de áreas plataneras de Tenerife, la Gomera y La Palma para dar respuesta a cuestiones de la mayor importancia para su control, tales como el origen de esta plaga y su forma de dispersión. La detección de polimorfismos naturales en las secuencias de DNA se realizará utilizando la técnica de los RAPDs (*randomly amplified polymorphic DNA*), siguiendo la metodología utilizada para conocer la genética poblacional de otra especie de curculiónido, plaga de la remolacha azucarera en Andalucía (Taberner et al. 1997, *J. Mol. Evol.* 45:24-31).

Asimismo, pretendemos identificar y caracterizar las enzimas digestivas del PPL y realizar bioensayos con inhibidores de proteasas, con objeto de determinar su efecto sobre la supervivencia y desarrollo del PPL. Esta información es indispensable para la posible obtención de plantas transgénicas de platanera que expresen proteínas de defensa, lo que abriría nuevas vías de control del PPL. Estudios preliminares sugieren que tanto las larvas como los adultos de este curculiónido presentan un complejo sistema proteolítico basado en la presencia de aspartil, cistein y serin endoproteasas, así como aminopeptidasas y carboxipeptidasas. Una vez completada la caracterización de las proteasas digestivas, abordaremos el estudio de su interacción con inhibidores específicos para determinar que inhibidores o combinación de inhibidores podrían incorporarse, mediante manipulación genética, a plantas de platanera potencialmente resistentes a esta plaga.

# **Cuarta reunión final de investigaciones coordinadas de FAO/IAEA sobre la Biología celular y biotecnología incluyendo técnicas de mutación para la creación de nuevos genotipos útiles de banano**

## **Informe sumario**

Por S. Mohan Jain

FAO/IAEA Joint Division, International Atomic Energy Agency,  
A-1400, Box 100, Wagramerstrasse 5, Vienna, Austria. Email:  
s.m.jain@iaea.org

Los bananos y plátanos se cultivan en más de 100 países alrededor del mundo con una producción anual de alrededor de 88 millones de toneladas métricas. La producción de la fruta de banano se ve limitada severamente por varias plagas y enfermedades como el virus bunchy top del banano, nematodos barrenadores (*Radopholus*

*similis*), enfermedad del Moko (*Ralstonia solanacearum*), Sigatoka negra o raya negra del banano (*Mycosphaerella fijiensis*), marchitamiento por Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). FAO/IAEA empezaron un Proyecto Coordinado de Investigaciones en 1994 con el propósito general de integrar las mutaciones mediante la radiación inducida de los cultivos *in vitro* y métodos de genética molecular en el mejoramiento convencional de los bananos, para inducir la variación deseada como lo es la resistencia a las enfermedades, enanismo y precocidad, así como promover el desarrollo de los métodos para la

multiplicación rápida y a gran escala de los mutantes /segregantes a través de embriogénesis somática y micropropagación. El Gobierno Belga decidió financiar este Proyecto en 1996. Desde entonces, se celebraron tres Reuniones de Investigación Coordinada en diferentes países, incluyendo Viena, Malasia y Sri Lanka. La cuarta y final reunión de este proyecto bananero fue celebrada en la *Katholieke Universiteit Leuven* (KULeuven), Lovaina, Bélgica, del 24 al 28 de septiembre de 2001. Diez participantes asistieron a esta reunión, incluyendo los científicos de Austria (FAO/IAEA), Bélgica, Cuba,



República Checa, Alemania, Israel, México, Filipinas y Sri Lanka. Los resultados de la reunión serán publicados en un libro intitulado "Mejoramiento de los bananos: Biología celular y molecular y mutaciones inducidas".

### Logros globales

Se desarrollaron herramientas de investigación para la caracterización y mejoramiento de germoplasma a través de mutaciones inducidas, criopreservación, embriogénesis somática, variación somaclonal e ingeniería genética. Algunos de los cultivares existentes han sido mejorados con respecto a su tolerancia a las enfermedades y características agronómicas importantes. Se estableció la colaboración entre los laboratorios participantes incluyendo el intercambio del personal, capacitación y transferencia de tecnología instrumental.

### Logros prácticos

Los titulares de los contratos de investigación, J. Lopez Torres (Cuba), Mak Chai (Malasia), A. James (México), y J. Dolezel (República Checa) se desempeñaron muy bien en el transcurso de este proyecto. Nicolas Roux (FAO/IAEA) trabajó en la disociación del quimerismo y desarrollo del protocolo de citometría de flujo.

Varios estudiantes jóvenes se beneficiaron de este proyecto completando sus programas a nivel de maestría y doctorado en Israel, República Checa y Bélgica. Algunos de los participantes presentaron sus resultados en conferencias internacionales. Se ha publicado un total de 51 trabajos de investigación en las memorias de conferencias y revistas internacionales de referencia.

Muchas personas de diferentes países recibieron capacitación sobre varios aspectos del cultivo de tejidos de banano, citogenética molecular y marcadores moleculares en la KULeuven y la *Faculté universitaire des sciences agronomiques*, Gembloux (FUSAGx), Bélgica; Institute of Experimental Botany (IEB) República Checa; y la Universidad de Frankfurt, Alemania. Ellos pro-

venían de China, Cuba, Egipto, México y Rwanda. El resultado de estas capacitaciones fue muy exitoso. Por ejemplo, un estudiante cubano logró establecer exitosamente nuevas suspensiones de células embriogénicas de banano del material vegetal de Cuba. En adición, irradió con éxito el material vegetal en Cuba. En Sri Lanka, 20 personas del interior del país fueron capacitadas en la tecnología del cultivo de tejidos para la producción en masa de banano. Se organizó la capacitación a nivel de postgrado sobre la indexación para detectar los virus del banano.

Las facilidades para realizar la citometría de flujo fueron establecidas en el *International Institute for Tropical Agriculture* (IITA, Nigeria) y en el *Malaysian Institute for Nuclear Technology* (MINT, Malasia). La transferencia de tecnología incluyó la capacitación del personal en el IEB y visitas de expertos.

### Logros científicos

1. Detección de polimorfismo en la metilación de ADN en las plantas micropropagadas de banano con la ayuda del polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP).

2. Se han desarrollado cultivos de suspensiones de células embriogénicas (ECS) para varios cultivares de banano incluyendo los plátanos (AAB). Se han desarrollado tres técnicas de criopreservación para la conservación de meristemas a largo plazo. Se ha publicado una guía técnica de INIBAP para la criopreservación de los bananos en inglés, francés y español.

3. Las mutaciones inducidas generaron una serie de clones mejorados que fueron cribados para detectar diferentes características como la floración precoz, altura reducida, frutas de mayor tamaño y tolerancia al marchitamiento por *Fusarium*.

4. Para la transformación del banano se utilizaron métodos de transformación mediada por *Agrobacterium* y de bombardeo con partículas; la tasa de transformación dependía del cultivar.

5. Los procedimientos de indexación para la detección de los virus fueron transferidos a Sri

Lanka con el fin de indexar las cepas locales de los virus de banano.

6. Se desarrolló una técnica de cribado precoz para detectar el marchitamiento por *Fusarium* utilizando plantas provenientes de los cultivos de tejidos en un sistema de doble bandeja.

7. Se desarrolló un sistema de selección contra la enfermedad de la Sigatoka negra utilizando un extracto crudo de *Mycosphaerella fijiensis*, una fracción semipurificada y una fracción purificada (juglone).

8. Se desarrollaron técnicas de cribado para detectar la resistencia a los nematodos en *Musa* en condiciones de cobertizo y de campo. Se establecieron cultivos asépticos de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* utilizando callos de alfalfa, siendo confirmada la patogenicidad después de experimentos en el invernadero.

9. Para la detección de poliploidía se utilizaron la citometría de flujo de ADN para monitorear la disociación de citoquimeras y el análisis de la estabilidad cariológica de los ECS.

10. Se exploró la mutagénesis de transposones para el etiquetado de los genes en el genoma del banano utilizando el elemento Ac del maíz. Se generó y se caracterizó una cantidad sustancial de diferentes mutantes.

11. Se desarrolló el protocolo para la hibridación *in situ* mediante fluorescencia (FISH) para *Musa* con el fin de estudiar detalladamente los cariotipos, proporcionando diferentes señales para los cromosomas, localización de genes, análisis de largo alcance de la estructura de los cromosomas y enlace con los mapas físicos y genéticos.

12. Se generó para *Musa* un total de 28 marcadores de repeticiones de secuencias simples específicas de alelos (SSR) que se utilizaron para detectar: polimorfismos entre los genomas A y B, identificar híbridos y localizar el genoma B en los híbridos. Actualmente, estos marcadores se están utilizando en este proyecto y en todo el mundo. También se produjo un total de 24 marcadores SSR polimórficos específicos de los loci para *Mycosphaerella fijiensis* con el fin de discriminarlos de los de otras especies.

## Resúmenes de los trabajos presentados durante la 4ª y final reunión de investigación coordinada de FAO/IAEA

### **Detección de los cambios de metilación de ADN en las plantas micropropagadas de banano (*Musa* AAA cv. 'Grande naine') utilizando la técnica de polimorfismos de amplificación sensible a la metilación (MSAP)**

A. James, S. Peraza-Echeverría, V. Herrera-Valencia y L. Peraza-Echeverría

Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

La magnitud de los polimorfismos de metilación de ADN fue evaluada en el tejido foliar de los bananos micropropagados (*Musa* AAA cv. 'Grande naine') derivados del ápice vegetativo del retoño o del ápice floral de la inflorescencia masculina, utilizando la técnica de polimorfismo de amplificación sensible a la metilación (MSAP), que utiliza un par de isoschizómeros de restricción, Msp I y Hpa II, cuya habilidad de segmentar en la secuencia 5'-CCGG-3' es afectada por el estado de metilación de las citosinas. En total, se amplificaron 465 fragmentos, cada uno representando un sitio de reconocimiento dividido por uno o ambos de los isoschizómeros, utilizando ocho combinaciones de iniciadores. Se des-

cribió que un total de 107 sitios (23%) fue metilado en citosina en el genoma de las plantas micropropagadas. El número más alto de polimorfismos de metilación de ADN fue detectado en las plantas micropropagadas a partir de la inflorescencia masculina con 14 (3%) y el número más bajo, en las plantas micropropagadas a partir del retoño con 8 (1.7%). Estas diferencias no fueron significativas estadísticamente. Los polimorfismos de metilación de ADN no se detectaron en el tejido foliar de las plantas propagadas convencionalmente. Las plantas micropropagadas fueron hipermetiladas relativamente en comparación con las plantas propagadas convencionalmente, con algunas bandas metiladas

en todas las plantas micropropagadas, pero no metiladas en todas las plantas propagadas convencionalmente. Estos resultados demostraron la utilidad del MSAP para detectar los eventos de la metilación de ADN en las plantas micropropagadas de banano, como también indicar que los cambios en la metilación de ADN están asociados con la micropropagación.

## Descubrimiento de genes funcionales en el genoma de *Musa*

E. Khayat<sup>1</sup>, A. Ilan<sup>1</sup>, I. Regev<sup>2</sup>, S. Gepstein<sup>2</sup>, L. Sagi<sup>3</sup>, R. Swennen<sup>3</sup> y H. Schoofs<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Rahan Meristem, Dept of R&D, Kibbutz Rosh, Hanikra 22825 Israel

<sup>2</sup>Technion, Israel Institute of Technology, Faculty of Biology, Haifa 32000, Israel

<sup>3</sup>KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

El desarrollo de tecnologías de transformación y regeneración estables y reproducibles abrió nuevos horizontes en el mejoramiento de bananos y plátanos. Durante los últimos cinco años diferentes biotecnólogos bananeros han publicado varias estrategias de transformación. La resistencia a las enfermedades y el mejoramiento de la calidad de la fruta han sido los puntos focales de la mayoría de los mejoradores de *Musa*. Sin embargo, a pesar del interés creciente en la biotecnología del banano, la colección de los genes de *Musa* en las bases de datos públicas es relativamente pequeña (de aproximadamente 300 accesiones colocadas en la base de datos del NCBI, menos del 25% son cADN anotados). Actualmente, nuestro laboratorio está utilizando varios enfoques para identificar genes funcionales en el genoma de *Musa*. Entre estos se encuentran el etiquetado con transposones, mutación aleatoria de 'alto rendimiento' mediante fragmentación con ribozimas de mRNA, hibridación sustractiva supresora (HSS) y anotación bioinformática de EST agrupados.

Hemos introducido el elemento transponible AC del maíz en el genoma de *Musa* y seguido la escisión e inserción del elemento en numerosas líneas transgénicas. La meta fue investigar la frecuencia de transposición y distribución de las inserciones a lo largo de los cromosomas. Los constituyentes que hemos utilizado incluyen un elemento Ac fundido con el repertorio GUS bajo el promotor 35S. El análisis PCR de una variedad de mutantes reveló que la mayoría tenía un patrón quimérico con respecto a la expresión de genes foráneos. En consecuencia, sólo unas pocas líneas transgénicas (hermanos provenientes del cultivo de tejidos) mostraron diferencias detectables en el patrón de las bandas en la hibridación con borrones de Southern. Se hicieron intentos para estabilizar el elemento Ac siguiendo una cantidad limitada de transposiciones, silenciando la codificación de los genes de la enzima transposasa después de la escisión.

Los genes expresados diferencialmente que son activados en la fase posclimacterica del desarrollo de la fruta, fueron analizados en la cáscara y pulpa de la fruta de banano. Utilizando la hibridación sustractiva supresora (HSS) hemos aislado más de 200 genes que codifican parcialmente los cADN expresados durante las etapas finales del desarrollo de la fruta (senescencia). El cribado de alto rendimiento

mediante la hibridación de la membrana fue empleado para la selección preliminar de los genes candidatos involucrados en la regulación del comienzo de la senescencia. El análisis secuencial e investigación de las bases de datos de los bancos genéticos revelaron unos ochenta clones no redundantes que fueron regulados en la fase posclimacterica. La mayoría, pero no todos esos genes, fueron regulados, después de la exposición de la fruta verde a 1000 ppm de etileno por 24 horas. La colección secuenciada de los cADN regulados corresponde a una de las tres categorías principales:

Genes involucrados en los procesos metabólicos, principalmente carbohidratos y componentes lípidos.

Genes involucrados en la regulación celular (proteína quinasas, factores de transcripción, etc.).

Genes involucrados en la protección contra los patógenos y condiciones del estrés ambiental: proteína parecida a la metalotioneína, super óxido dismutasa, proteína parecida a la osmotina, proteínas relacionadas con patógenos, etc.

Un número significativo de secuencias no mostró una homología sustancial con los genes funcionales en los bancos genéticos.

## Análisis del genoma de *Musa* utilizando citometría de flujo y citogenética molecular

J. Dolezel<sup>1</sup>, M. Valárik<sup>1</sup>, J. Vrána<sup>1</sup>, J. Safár<sup>1</sup>, E. Hřibová<sup>1</sup>, N. Gasmanová<sup>1</sup>, I. Van den houwe<sup>2</sup>, M. Dolezelová<sup>1</sup>, R. Swennen<sup>2</sup>, y H. Simková<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Experimental Botany, Laboratory of Molecular Cytogenetics and Cytometry, Olomouc, República Checa

<sup>2</sup>Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

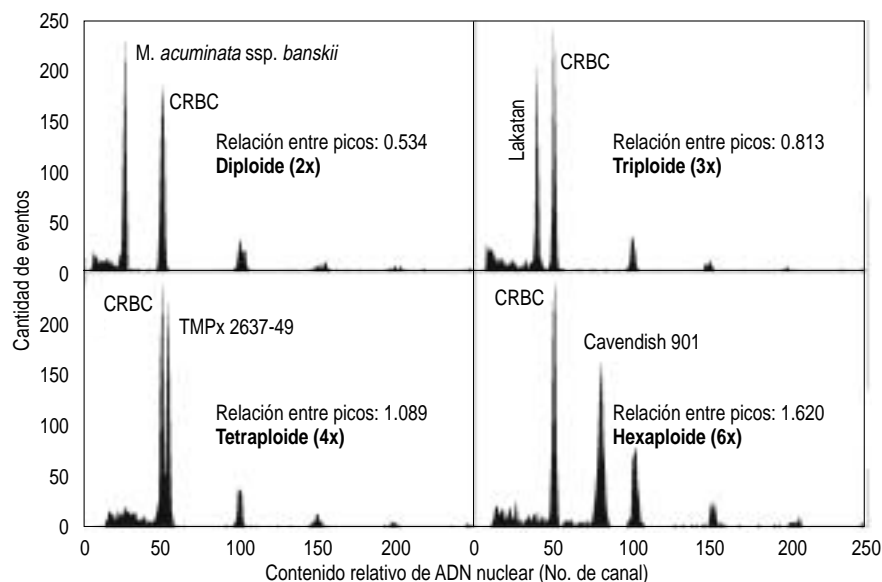
Este proyecto enfoca el análisis del genoma de *Musa* a escalas nuclear y cromosómico con el propósito de entender la organización global de los cromosomas de *Musa* y caracterizar los cambios en

la estructura de los cromosomas durante la evolución de las especies y evolución de los clones cultivados.

Hemos utilizado la citometría de flujo para determinar los niveles de ploidía de las accesiones de *Musa* que se mantienen en el Centro de Tránsito de INIBAP (KULeuven). El ensayo de citometría de flujo de la ploidía incluyó la preparación de suspensiones de los núcleos intactos provenientes de pequeñas cantidades del tejido foliar y el análisis de la intensidad de fluorescencia después de tñirlo con DAPI. Los núcleos de la célula sanguínea roja del pollo (CRBC) fueron incluidos en cada muestra como un estándar de referencia interna (Figura 1). De las 890 accesiones analizadas hasta ahora, el 8.4% fue clasificado por primera vez y el 7.6% de accesiones mostró una ploidía distinta a la reportada anteriormente. En el 2% de las accesiones, se detectaron plantas con ploidía mixta. Un logro importante del estudio es un sistema confiable y de alto rendimiento para el cribado de ploidía en *Musa*. El uso de los núcleos CRBC permitió realizar un análisis de alta resolución y los resultados obtenidos hasta ahora indicaron que este sistema es adecuado para la detección rápida de aneuploidía. Ya que los materiales para el análisis fueron enviados por correo expreso, este trabajo demuestra que es posible realizar el análisis de la ploidía mediante citometría de flujo en laboratorios distantes.

En un intento de caracterizar las secuencias de ADN que contribuyen a la estructura y evolución de los cromosomas de *Musa*, hemos construido bibliotecas genómicas parciales de ADN en *M. acuminata* y *M. balbisiana* que cribamos para detectar clones que contienen secuencias altamente repetidas y secuencias que contienen rADN. Los clones aislados fueron caracterizados en términos de números de copias, distribución genómica en *M. acuminata* y *M. balbisiana*, y similitud de secuencias con las secuencias conocidas de ADN (Tabla 1). En contraste con muchas especies de plantas, donde los elementos móviles y sus remanentes contribuyen en mayor parte con el contenido nucleotídico

Figura 1. Ejemplos de histogramas del contenido relativo de ADN, que fueron obtenidos durante el cribado de la ploidía de las accesiones del ITC utilizando la citometría de flujo. La ploidía de las plantas individuales fue estimada basándose en la relación de las posiciones de los picos correspondientes a los núcleos G1 de *Musa* y CRBC. Mientras que el análisis confirmó la clasificación de ploidía para *M. acuminata* ssp. *banksii* (ITC 0885), 'Lakatan' (ITC 0573), y TMPx 2637-49 (ITC 1196), la clasificación no fue confirmada para 'Cavendish 901' (ITC 0738), que resultó ser hexaploide.



**Tabla 1. Resultados de la búsqueda de homología de los ADN repetitivos recién aislados.**

Clon de Musa con ADN repetitivo	Homología con las secuencias conocidas de ADN		
	Secuencia de ADN	Número de aceción en el Genebank	Probabilidad de la suma más baja
Radka2	Gen 5S de ARN ribosomal <i>Hordeum murinum</i>	AF096721	3x10 <sup>-07</sup>
Radka1	Gen 26S de ARN ribosomal del arroz	M11585	0.0
Radka7	Gen 26S de ARN ribosomal del arroz	M11585	0.0
Radka14	---	---	---
Radka5	Elemento repetitivo de <i>M. acuminata</i>	Y10144	6x10 <sup>-16</sup>
Radka8	Retrotransposón monkey de <i>M. acuminata</i>	AF143332	3x10 <sup>-21</sup>
Radka9	Retrotransposón monkey de <i>M. acuminata</i>	AF143332	3x10 <sup>-21</sup>
Radka3	---	---	---
Radka6	---	---	---
Radka12	---	---	---
Radka10	Clon MUSA1 (badnavirus del brote hinchado de cacao)	AF106947	10 <sup>-108</sup>
Radka4	---	---	---

co, nuestras observaciones indican que estos elementos no representan una fracción principal del genoma de *Musa*. Todas las secuencias repetitivas fueron más abundantes en *M. acuminata*. Ya que el genoma de *M. acuminata* es más grande en comparación con el de *M. balbisiana*, los resultados actuales demuestran que el incremento en el tamaño del genoma de *M. acuminata* se debió a la multiplicación de algunas secuencias repetitivas. Los descubrimientos de este estudio mejoran el conocimiento de la organización global de los cromosomas de *Musa*. La disponibilidad de las sondas homólogas para la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) permitirá realizar un mapeo más específico de las secuencias de rADN.

Se ha desarrollado un nuevo protocolo para el aislamiento de ADN de alto peso molecular en *Musa* y se encuentra adelantado el trabajo para construir una biblioteca de cromosomas bacterianos artificiales (BAC) para el genoma B de *Musa*. La disponibilidad de la biblioteca BAC permitirá el aislamiento de los clones que contienen una baja proporción de ADN repetitivos. Estos clones serán localizados utilizando FISH y se usarán para aumentar la cantidad de señales de los cromosomas ya existentes. Además, la biblioteca BAC será cribada para detectar clones, que contienen marcadores moleculares y /o genes de interés. Esta estrategia tendría como resultado una integración eficaz de los mapas físicos y genéticos. Una vez desarrollados y construidos sus mapas físicos, los marcadores moleculares facilitarían la clonación, basada en mapas, de genes de interés, incluyendo a aquellos inducidos por radiación y mutagénesis química.

El cribado de ploidia del germoplasma de *Musa* fue apoyado en parte por INIBAP.

### **Análisis de los mutantes inducidos de los bananos de Filipinas (*Musa acuminata*, cv. 'Lakatan' (AAA) y 'Latundan' (AAB)) y de la colección de germoplasma de Abacá (*Musa textilis* Nee) utilizando marcadores morfológicos, RAPD, SSR y AFLP**

D.M. Hautea<sup>1</sup>, N.O. Bituin<sup>1</sup>, H.F. Galvez<sup>1</sup>, C. Caspillo<sup>1</sup>, C.H. Balatero<sup>1</sup>, R.B. Quillo<sup>1</sup>,

E. Perez<sup>1</sup>, G.C. Molina<sup>1</sup>, J. Torron1, A.J. Jamiri<sup>2</sup>, R.P. Laude<sup>3</sup> y L. Gonzal<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institute of Plant Breeding, CA, University of the Philippines Los Baños, Filipinas

<sup>2</sup>College of Science and Mathematics, U.P. Mindanao, Filipinas

<sup>3</sup>Institute of Biological Sciences, UP Los Baños, Filipinas

<sup>4</sup>National Abaca Research Center, Visayas State College of Agriculture, Filipinas

El banano (*Musa acuminata*) y el abacá (*M. textilis* Nee) son las dos especies de *Musa* más importantes desde el punto de vista económico, cultivadas en Filipinas para obtener frutas y fibra, respectivamente. Estos cultivos son difíciles de mejorar utilizando medios convencionales y ambos sufren de varias enfermedades comunes. En este informe se resumen nuestros esfuerzos durante los últimos cinco años para generar mutantes inducidos útiles de los cultivares de banano de Filipinas y para evaluar la utilidad de los marcadores de ADN en la caracterización de las alteraciones genómicas en las generaciones avanzadas de los mutantes inducidos. Además, este informe destaca la contribución valiosa de este proyecto al análisis de la variación genética en las especies relacionadas de *Musa*, *M. textilis*, utilizando algunos de los resultados de las técnicas de marcadores de ADN generadas para los bananos. Estos son nuestros logros:

- Se obtuvieron generaciones avanzadas de mutantes inducidos de dos cultivares de banano filipinos, 'Lakatan'(AAA) y 'Latundan' (AAB), con características promisorias, por medio de radiación, utilizando rayos gama de 40Gy y neutrones rápidos de 3Gy y la manipulación subsiguiente del cultivo *in vitro* y su evaluación en el campo.
- Las técnicas de marcadores de ADN como RAPD, SSR y AFLP fueron utilizadas exitosamente para caracterizar las diferencias genómicas entre los dos cultivares de banano utilizados. Sin embargo, solo las técnicas RAPD y AFLP fueron capaces de detectar las alteraciones genómicas entre los mutantes no irradiados e inducidos en los dos cultivares. Debido a una mejor capacidad de reproducción y una relación múltiple más alta, la técnica AFLP es preferida frente a la técnica RAPD. Por lo tanto, esta técnica fue utilizada para detectar el polimorfismo entre los clones originales mutados y los retoños derivados. Comúnmente se utilizó el procedimiento de tenido con plata para realizar los análisis SSR y AFLP.

• Las técnicas RAPD, SSR y AFLP desarrolladas para el banano a través de este proyecto, también resultaron aplicables para el abacá. Varios iniciadores SSR desarrollados para el banano dieron productos de ampliación utilizando el ADN del abacá. Con el financiamiento complementario otorgado por el Gobierno de Filipinas, se realizaron exitosamente los análisis RAPD, SSR y AFLP para evaluar la variación genética en la colección de germoplasma de abacá de Filipinas. También se realizó la comparación entre el análisis morfológico y el análisis molecular.

### **Utilidad de las suspensiones de células embriogénicas para la inducción y selección de los mutantes en *Musa* spp.**

N. Roux<sup>1</sup>, A. Toloza<sup>1</sup>, J. Dole<sup>2</sup>, R. Swennen<sup>3</sup>, P. Lepoivre<sup>4</sup> y F.J. Zapata-Arias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plant Breeding Unit, FAO/IAEA Agriculture and Biotechnology Laboratory, International Atomic Energy Agency Laboratories, A -2444 Seibersdorf, Austria

<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Cytogenetics and Cytometry, Institute of Experimental Botany, Sokolovska 6, CZ-77200 Olomouc, República Checa

<sup>3</sup>Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

<sup>4</sup>Unité de Phytopathologie, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux Passage des déportés 2, B-5030 Gembloux, Bélgica

Las técnicas de mutación inducida son particularmente importantes para los bananos y plátanos (*Musa* spp.), en los cuales la reproducción sexual es limitada, y podrían generar la variación genética, la base para la selección. Aunque las mutaciones espontáneas han contribuido a la diversidad genética de *Musa* y han aumentado significativamente la variación utilizada para seleccionar las especies de *Musa*, su ocurrencia es muy baja. El uso de los cultivos *in vitro* para las mutaciones inducidas en *Musa* spp. podría ser un método de preferencia si se optimizaran varios pasos del proceso de inducción de la mutación. Se investigaron los siguientes aspectos: la posibilidad de detectar la inestabilidad genética en el contenido del ADN, la determinación de una dosis mutagénica óptima, la eliminación del quimerismo y la aplicación de un cribado masivo temprano para la selección de los mutantes útiles. Con el incremento en el uso de los cultivos embriogénicos en la micropropagación de los bananos, entre las plántulas regeneradas ocurre la variación somaclonal. Esta variación puede interferir con las mutaciones, que podrían ser obtenidas a través de las técnicas de mutación. Aunque las causas de esta inestabilidad cromosómica son poco entendidas, se cree que la propia inestabilidad cromosómica es una de las causas más comunes de la variación inducida en los cultivos de tejidos. Utilizando la citometría de flujo, la variación en el número cromosómico podría ser detectado entre las plantas regeneradas vía embriogénesis somática a partir de los cultivos de tejidos. Los resultados obtenidos por la citometría de flujo fueron verificados mediante el conteo de cromosomas en las células meristemáticas de las puntas de las raíces. Después de normalizar el método, los resultados indicaron que la citometría de flujo fue suficientemente sensible para detectar la aneuploidia en

*Musa* con una precisión de cromosomas de  $\pm 1$ . Las anomalías en el contenido de ADN podrían ser detectadas en una etapa temprana, durante el cultivo *in vitro*. Por primera vez, se informó sobre las suspensiones de células embriogénicas (ECS) con cinco cromosomas faltantes.

Para irradiar las ECS, se realizaron varios estudios preliminares. Se realizaron las primeras pruebas de radio sensibilidad de las ECS de *Musa* y se descubrió que las suspensiones celulares de *Musa* pueden tolerar hasta 200 Gy. A 100 Gy, la curva de crecimiento solo se afectó en un 50% en comparación con el testigo.

Al ser irradiadas las suspensiones celulares, es posible manejar grandes cantidades de poblaciones bajo condiciones controladas y si los embriones provienen de una célula individual, ellos superan el problema del quimerismo. Hemos estimulado este proceso tratando las ECS con colchicina y determinado la ploidía de las plantas regeneradas mediante el análisis citométrico de flujo. El tratamiento con colchicina indujo poliploidía y mixoploidía (quimerismo) siendo que los embriones no provienen de una sola célula. Hasta ahora no se han detectado plantas mixoploides regeneradas de las ECS tratadas con colchicina.

Un método para el cribado masivo temprano basado en el uso de la toxina Juglone (5-Hidroxi-1, 4-naftquinona), la principal toxina responsable del efecto global del hongo *Mycosphaerella fijiensis*, fue utilizado para cribar con respecto a la resistencia contra la enfermedad de la Sigatoka negra. La prueba fue aplicada cuando las plantas aclimatadas alcanzaron la etapa de seis hojas. La dosis de 25 ppm permitió diferenciar entre la variedad tolerante 'Fougamou' y la variedad susceptible 'Grande naine'. Hasta la fecha, de unas 4000 plantas de 'Grande naine' irradiadas, se seleccionaron 8 mutantes putativos debido a su tolerancia a 25 ppm de juglone. Actualmente, estas plantas están siendo evaluadas con respecto a su tolerancia a la inoculación del hongo.

## **Hacia la genómica básica de *Mycosphaerella fijiensis* y *M. musicola*: marcadores ADN para la diversidad genética, estructura de las poblaciones y mapeo genético de los patógenos del banano**

C.M. Molina<sup>1,2</sup> y G. Kahl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Plant Molecular Biology, Biocentre, University of Frankfurt/Main, Alemania.

<sup>2</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Santafé de Bogotá, D.C., Colombia

Aunque actualmente muchas investigaciones se dedican a la genómica del banano, sus dos enfermedades fungosas más severas, la Sigatoka negra (agente causal: *Mycosphaerella fijiensis*) y la Sigatoka amarilla (agente causal: *Mycosphaerella musicola*), son definitivamente poco investigadas. Ambas enfermedades causaron, causan y seguirán causando las mayores pérdidas de rendimiento, no solo en las plantaciones comerciales de bananos y plátanos, sino también en los campos de los pequeños agricultores. *M. musicola*, que fue registrada por primera vez en Java en 1902, se propagó a todas las principales

áreas de producción en Asia, África y América del Sur durante la primera mitad del último siglo. A escala regional, esta enfermedad fue desplazada por *M. fijiensis*, que es más agresiva, y fue registrada por primera vez en las islas Fiji en 1962. Ambos patógenos forzaron el desarrollo de medidas de control, que en esencia aumentaron drásticamente las dosis de fungicidas y redujeron el intervalo de tiempo entre las aplicaciones, aunque también contaron con la introducción de nuevas variedades parcialmente resistentes. En respuesta, las poblaciones del patógeno se hicieron más agresivas y parcialmente resistentes a los principales fungicidas.

A pesar de la importancia económica de los hongos, la investigación sistemática del modo de infección, las relaciones entre el patógeno y la planta hospedante, las moléculas encontradas y los genes involucrados continúan siendo en gran parte evasivos. Por lo tanto, hemos empezado un estudio más concreto de ambos patógenos con el propósito de entender la base molecular de las interacciones.

Para cada patógeno se desarrolló una serie de marcadores elite de microsatélites altamente polimórficos (microsatélites etiquetados por secuencias - *sequence-tagged microsatellite site markers*, STMS) utilizando una estrategia de enriquecimiento de microsatélites. Específicamente, fueron capturados los microsatélites de tipo (CAA)<sub>n</sub>, (GAA)<sub>n</sub>, (GA)<sub>n</sub>, (CA)<sub>n</sub>, y (TA)<sub>n</sub>, se clonaron y los clones positivos fueron identificados mediante la hibridación, luego se secuenciaron y los iniciadores que flanquean a los microsatélites fueron designados como Primer 3. Junto con la amplificación selectiva de los loci de microsatélites polimórficos (SAMPL) y los marcadores de impresión de amplificación de huellas de ADN (DAF), los STMS fueron utilizados para estudiar la variabilidad genética de ambos patógenos en poblaciones de dos continentes, cuatro países de América Latina y cinco localidades diferentes en Colombia. Primero, todos los tipos de marcadores generalmente generaban un alto nivel de polimorfismo en ambas especies. Segundo, solo unos pocos marcadores de cualquier tipo fueron suficientes para discriminar dos aislados inequívocamente. Tercero, se puede detectar distintas poblaciones y diferenciar entre ellos. Por ejemplo, el número de los haplotipos STMS volvieron a ser más altos en las poblaciones de Nigeria en comparación con las poblaciones de *M. fijiensis* mexicanas, y las poblaciones de *M. musicola* generalmente están más claramente separadas una de otra que las poblaciones de *M. fijiensis*, lo que indica un menor flujo genético. Cuarto, usualmente se agrupan los aislados de una región. Quinto, alrededor del 10% de los iniciadores designados para un patógeno también pueden ser utilizados para el otro.

Las tres técnicas de marcadores se utilizan para construir y saturar el primer mapa genético de *M. fijiensis* y marcar un gen de resistencia a los fungicidas.

## **Variabilidad genética y fenotípica en los patógenos de *Mycosphaerella de banano***

A.C.L. Churchill

Boyce Thompson Institute for Plant Research, Ithaca, NY, EEUU

Estamos utilizando los enfoques de la biología molecular de los hongos para estudiar las interac-

ciones entre los patógenos de *Mycosphaerella* y sus hospedantes, como el banano. Hemos desarrollado un sistema de transformación mediado por ADN para *M. fijiensis*, *M. musicola*, y *M. eumusae* en las cuales los transformantes estables genéticamente de manera constitutiva expresan una proteína verde fluorescente *in vitro* e *in vivo*. La transformación estable es el primer paso en el desarrollo de las herramientas para la manipulación genética de estos patógenos, que conduciría a la identificación de la patogénesis y factores de virulencia requeridos para la infección de la planta y desarrollo de los síntomas. Existe una variabilidad fenotípica significativa en la mayoría de los patógenos de *Mycosphaerella* del banano. Al cultivarlas en un medio con base de agar, colonias individuales son típicamente de un color gris o negro de claro a oscuro. Los mutantes espontáneos estables con pigmentación alterada no son raros. Hemos aislado mutantes de pigmento que parecen tener deficiencias en la producción de melanina y hemos clonado un fragmento génico con una gran similitud a los genes fungosos involucrados en la biosíntesis de melanina. Se están realizando caracterizaciones posteriores de los mutantes de pigmento. Adicionalmente, estamos interesados en conocer si los patógenos de *Mycosphaerella* del banano tienen el potencial de exhibir resistencia diferencial a las respuestas de defensa de la planta, como es la generación de especies reactivas con oxígeno (ROS), o si ellos mismos producen toxinas que generan ROS. Hemos determinado que *M. musicola* produce una toxina única de antraquinona que genera oxígeno y muestra una resistencia significativamente mayor a una amplia variedad de colorantes activados por la luz, generadoras únicas de oxígeno, que *M. fijiensis*. Estos resultados sugieren que existen diferencias en el modo de como estos dos hongos interactúan con el banano. En *M. musicola*, la correlación entre la producción de una toxina activada por la luz, la alta autoresistencia a las toxinas exógenas fotoactivadas generadoras únicas de oxígeno, y el aumento del desarrollo de la enfermedad en presencia de la luz es intrigante y se examinará más adelante. Esta correlación no es evidente en la interacción hospedante patógeno, en el caso de *M. fijiensis*.

## **Mejoramiento del banano a través de radiaciones gamma y evaluación con respecto a la presencia del mosaico de las brácteas del banano (BBRMV) en Sri Lanka**

W.K. Hirimburegama, W.K.G. Dias y K. Hirimburegama

Department of Botany, University of Colombo, Colombo 03, Sri Lanka.

El banano es la fruta de mayor consumo en Sri Lanka, y es un cultivo frutícola perenne atractivo para los pequeños agricultores. Esto se debe a su alto valor económico durante todo el año. Por lo tanto, los campos de arroz en las planicies en algunas áreas están siendo convertidos para cultivar el banano. Entre los cultivares locales, el 'Embul' (Mysore, AAB) tiene la demanda más alta para ser cultivado. La producción anual de banano es de alrededor de 450 000 toneladas métricas. Hasta



hace poco, el cultivo bananero se limitaba a pequeñas parcelas, pero actualmente se están estableciendo grandes plantaciones. Cada día más productores de arroz se cambian al cultivo de los bananos, ya que la ganancia neta es aproximadamente cuatro veces más alta que con el arroz, y se requiere menor cantidad de mano de obra y de insumos. Durante los últimos seis años, 2500 ha han sido convertidas al cultivo del banano (Anon. 2001, 2002). En adición, se observó que el nivel nutricional de las familias de los agricultores mejoró debido al hábito de consumir más frutas. Usualmente, los agricultores no utilizan plaguicidas para el cultivo del banano y esto tiene beneficios para la salud de la gente y para el ambiente.

Desde 1990, La Universidad de Colombo está realizando investigaciones sobre la micropropagación de los bananos a través del cultivo de puntas apicales, mutación inducida a través de radiaciones gama, cultivos de suspensiones celulares y embriogénesis somática, y análisis de la ploidia para la detección de la variación. Desde 1995, los cultivares 'Embul' y 'Cavendish' han sido incluidos en el programa de mejoramiento por mutación. Después de irradiar las puntas apicales *in vitro* con 45 Gy, se hicieron dos selecciones con estatura más baja y fructificación temprana, seis meses después de la siembra (Hirimburegama *et al.* 1997). Las plantas micropropagadas fueron investigadas con respecto a la estabilidad de sus características hasta la segunda generación. La tecnología fue perfeccionada y está siendo transferida a los agricultores (Laksiri y Hirimburegama 1999). La fructificación y la cosecha tempranas les ahorran a los agricultores al menos un mes, en comparación con las plantas cultivadas tradicionalmente, que usualmente necesitan ocho meses para florecer. De este modo, la cantidad de plantas del segundo ciclo de cultivo es de tres en vez de las dos usuales, aumentando así los ingresos de los agricultores en un 25% (equivalente a unos 350 \$US por ha por año).

Se está haciendo la propagación masiva de las

plantas. Por lo tanto, se hizo necesaria la indexación y evaluación de las plantas con respecto a los virus, es decir, virus del mosaico de las brácteas del banano (BBrMV) y el virus del rayado del banano (BSV), ya que para la micropropagación se requiere material materno libre de virus e indexado. El agente causal de la enfermedad del mosaico de las brácteas del banano fue confirmado en la variedad local 'Embul', cultivada ampliamente en Sri Lanka por Thomas *et al.* (1996, 1997). Esta enfermedad es común en los cultivos que no se manejan adecuadamente, pero el impacto en el rendimiento parece ser significativo.

Todos los síntomas de la enfermedad fueron observados en las plantas infectadas en el campo, pero en grados diferentes. Los patrones de rayas en forma de huso de color púrpura o rojo oscuro en el pseudotallo, en adición a las rayas oscuras en forma de huso en las brácteas, fueron los síntomas más comunes de la infección. Las plantas maduras con inflorescencias que tenían rayas negras o marrón rojizo en la superficie exterior de las brácteas abiertas también mostraban rayas en el pseudotallo. Las rajaduras observadas en la base de los retoños jóvenes también podrían aparecer debido a otras enfermedades virales del banano.

Se realizó un estudio para desarrollar objetivamente un kit de detección basado en DAS-ELISA de bajo costo. Se examinó el antisuero para el BBrMV (del Queensland Department of Primary Industries - QDPI, Australia) como un anticuerpo de recubrimiento para reemplazar el componente relevante del kit comercial Agdia. Los resultados mostraron una eficacia relativamente alta con el anticuerpo del QDPI. También se está llevando a cabo el trabajo de producir el anticuerpo de la enzima conjugada de fosfatasa alcalina para sustituir la que se encuentra en el kit de prueba. Una vez producido el antisuero local, se espera que se desarrolle un kit de diagnóstico local eficaz y de bajo costo para la indexación habitual de las plantas de banano para detectar la presencia del BBrMV. La purificación del extracto del virus (Thomas *et al.* 1997) es un factor limitante para obtener el antígeno para el proceso de producción del anticuerpo.

### Bibliografía

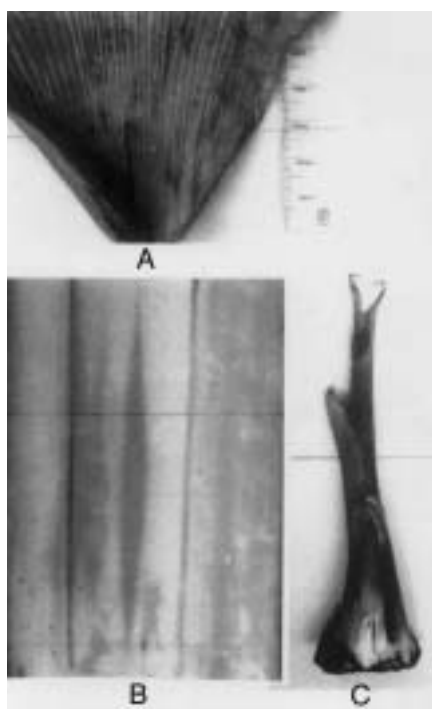
- Anon. 2000. Annual Reports, Mahaweli Authority of Sri Lanka, Colombo, Sri Lanka.
- Anon. 2001. Annual Reports, Mahaweli Authority of Sri Lanka, Colombo, Sri Lanka.
- Hirimburegama K. & N. Gamage. 1997. Cultivar specificity with respect to *in vitro* micropropagation of *Musa* spp. (bananas & plantains). *J. of Hort. Sci.* 72(2):205-211.
- Laksiri B.D.P. & K. Hirimburegama. 1999. Banana improvement in Sri Lanka through radiation induced mutation and tissue culture. *INFOMUSA* 8(2):PROMUSA 4:XII.
- Thomas J.E. & L.V. Magnaye. 1996. Banana bract mosaic disease. *Musa* Disease Fact Sheet No. 7. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Montpellier, France.
- Thomas J.E., A. Geering, C.F. Gambley, A.F. Kessling & M. White. 1997. Purification properties and diagnosis of banana bract mosaic potyvirus and its distinction from abaca mosaic potyvirus. *Phytopathology* 87(7):698-705.

## Avances y perspectivas para el mejoramiento genético de los bananos (*Musa* spp.) vía técnicas biotecnológicas y nucleares en INIVIT

Jorge López Torres

Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales, laboratorio de biotecnología, Apdo 116 CP 53000 Villa Clara, Santo Domingo, Cuba

Los bananos y plátanos constituyen una importante fuente de carbohidratos en la dieta de los cubanos. Esto se debe principalmente a sus hábitos alimentarios y a la producción de bananos durante todo el año. Existe una gran necesidad de desarrollar nuevos cultivares de banano debido a los bajos rendimientos y susceptibilidad a las enfermedades (principalmente a la Sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*). La aplicación de las técnicas biotecnológica y nuclear ha permitido desarrollar un sistema eficaz de regeneración de las plantas e inducir la variabilidad genética para la selección de mutantes. Sin embargo, el éxito en obtener mutantes deseables está restringido a unas pocas combinaciones de los alelos y, por lo tanto, se necesitan alternativas más eficaces para una temprana selección de mutantes. Anteriormente, se examinaron en condiciones de campo los clones obtenidos por la irradiación gama de los ápices meristemáticos, con la dosis de LD50 obtenida en Seibersdorf (Austria) y en el Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo de la Energía Nuclear (CEADEN) en Cuba. Se establecieron cultivos de suspensiones de células embriogénicas y se está modificando la formación de los embriones somáticos para mejorar la tasa de regeneración de las plantas, especialmente de los genotipos AAB, en colaboración con la KULeuven. Se realizaron las evaluaciones preliminares para estudiar la acción del extracto crudo de *M. fijiensis* sobre los cultivos de suspensiones celulares de 'Navolean' en un medio ZZ sólido. Se utilizaron discos de papel de filtración para evaluar diferentes concentraciones del extracto crudo sobre el crecimiento de los cultivos celulares para seleccionar cultivos celulares tolerantes a las toxinas. Los estudios del efecto del extracto fungoso crudo sobre la absorción de oxígeno se realizaron en el clon 'CEMSA?', así como en las vitroplantas de diferentes cultivares utilizados en el IMTP para los estudios de la Sigatoka negra. Las hojas de las vitroplantas fueron tratadas con diferentes concentraciones de solución de extracto crudo de acetato etílico colocándolas en discos de diferentes tamaños, empezando con los discos de 0.28 cm<sup>2</sup>. La absorción de oxígeno fue medida con la ayuda de los manómetros de Warburg. Basándose en nuestros resultados, se obtuvo un mutante de estatura baja ('Parecido al Rey' 6.44). Se seleccionaron unos pocos mutantes, que eran tolerantes a la Sigatoka negra con rendimiento más alto, en algunos casos (mutantes del 'Parecido al Rey' 6.32 y 'Gran Enano' 6.44 y III-2). Sin embargo, estos caracteres resultaron inestables, afectados probablemente por el ambiente, o condiciones de cultivo *in vitro*. Por lo tanto, estamos buscando otros enfoques alternativos para mejorar las tasas de mutación inducida, por ejemplo, los cul-



tivos de suspensiones de células embriogénicas, en que posteriormente se estableció la masa de las células embriogénicas somáticas. De cada lote de los cultivos masivos de suspensiones de células embriogénicas somáticas, se obtuvieron de 3250 a 6625 embriones somáticos con el 20.7% de germinación y 95% de supervivencia de las plantas en condiciones *ex vitro*. Actualmente se investiga su estabilidad genética en condiciones de campo. La acción del extracto de *M. fijiensis* sobre el cultivo de suspensiones celulares dio como resultado una gran cantidad de células oxidadas a concentraciones más altas del extracto. El contenido citoplásmico compacto de las células dañadas tenía un centro de color oscuro dejando un espacio vacío entre el centro y la pared celular. Cuarenta y cinco días después de la incubación, se descubrió que más del 60% de las células se encontraban en las condiciones descritas, debido a la difusión de la toxina de los discos. Las válvulas de absorción de oxígeno disminuyeron en relación con todos los cultivares testigo del IMTP, y la disminución máxima con respecto a las plantas no tratadas fue: 'Yangambi km5' (38.7%); 'Calcutta 4' (27.0%); 'Pisang berlin' (13.4%); 'Pisang liliin' (20.9%), mientras que la absorción de oxígeno aumentó en un 70% en el clon 'CEMSA ?'. Los cultivares con mayor resistencia a la Sigatoka negra mostraron una tendencia a disminuir la absorción de oxígeno; esto probablemente se debe al tejido dañado, en vez de un efecto de toxicidad del tratamiento con toxinas. Actualmente, los primeros embriones somáticos obtenidos vía suspensiones celulares irradiadas se encuentran en la fase de germinación y se está desarrollando la embriogénesis somática en los genotipos del IMTP.

## Cotransformación de los bananos (*Musa spp.*) mediada por *Agrobacterium*

K.Z. Ahmed\*, S. Remy, R. Swennen y L. Sági

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

\*Dirección permanente: Department of Genetics, Faculty of Agriculture, Minia University, El-Minia, ET-61517, Egipto

La introducción de genes foráneos en el genoma de las plantas es una técnica básica para estudiar la expresión génica y procesos fisiológicos en las plantas en los programas de mejoramiento. El mejoramiento del valor agronómico de los principales cultivos involucra probablemente la introducción de genes múltiples, muchos de los cuales no proporcionarían fenotipos que pudieran ser cribados directamente de los productos iniciales de transformación. Las principales restricciones de las actuales técnicas de transformación consisten en que solo unos pocos genes pueden ser transferidos al mismo tiempo y que se tiene que usar los genes marcadores seleccionables, lo que frecuentemente da como resultado plantas transgénicas con indeseables genes antibióticos de resistencia.

El objetivo del presente estudio consiste en determinar la eficacia de la cotransformación con genes marcadores observables visiblemente utilizando *Agrobacterium tumefaciens* y el banano (*Musa spp.*). Los cultivos de suspensiones celulares de cuatro cultivares fueron infectados con dos cepas

diferentes de *A. tumefaciens*, cada una de las cuales incluía un T-DNA desmenuzado que contenía uno de los tres genes reporteros [Luciferasa (LUC), β-Glucuronidasa (GUS) o Proteína Verde Fluorescente (GFP)], así como un gen marcador *neo* seleccionable. Se recuperaron estructuras multicelulares que expresan múltiples genes y se midieron las frecuencias de cotransformación. La frecuencia de cotransformación fue menor que la suma de la frecuencia de cada transformación individual. Se descubrió una correlación negativa entre la expresión transitoria de dos genes marcadores visuales introducidos conjuntamente para la cotransformación. Se detectaron diferencias significativas en la frecuencia de (co-)transformación entre los cultivares de banano examinados.

Anticipamos que el uso simultáneo de los genes reporteros proporcionará un método conveniente para una determinación precisa de la cotransformación y contribuirá a una estrategia para la transformación multigénica.

## Desarrollo reciente en el cribado temprano *in vitro* para detectar la resistencia contra los nematodos endoparásitos migratorios en *Musa*

A. Elsen y D. De Waele

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

Entre los nematodos que parasitan los bananos a través del mundo, *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae* representan nematodos migratorios importantes que causan severas pérdidas de rendimiento en los cultivares comerciales y destinados al consumo local. Actualmente, el control químico es el método más utilizado para manejar los nematodos, aunque los nematocidas son peligrosos, tóxicos y costosos. Por lo tanto, se estimula extensamente el control de los nematodos a través del mejoramiento genético del banano. Muchos cultivares de *Musa* han sido cribados para detectar la resistencia contra estos patógenos de las raíces. La investigación del cribado consume mucho tiempo debido a que debe ser llevado a cabo, tanto en condiciones de campo, como en un invernadero. El cribado *in vitro* podría facilitar y apresurar la incorporación del control genético de los nematodos en los bananos. Sin embargo, un método para el cribado *in vitro* requiere de cultivos asépticos de nematodos. En este trabajo, se discuten el desarrollo de los cultivos asépticos de *R. similis* y *P. coffeae* y el método de cribado *in vitro*.

Se ha comprobado que el callo de alfalfa en el medio modificado de White es un buen sistema aséptico, tanto para *R. similis*, como para *P. coffeae*. Aunque la reproducción es significativamente inferior en comparación con los cultivos en los discos de zanahoria, este sistema tiene muchas ventajas. Los nematodos no solo son cultivados bajo condiciones completamente asépticas, sino que este sistema demanda menos trabajo y ofrece una producción de inóculo más continua. En adición, el cultivo en el callo de alfalfa no alteró el poder patógeno de *R. similis* y *P. coffeae*.

Ambos nematodos podrían infectar y reproducirse

en las raíces de las plantas de 'Grande naine' cultivadas *in vitro*. Para ambos nematodos se observaron lesiones necróticas en las raíces dentro de 2-3 semanas después de la inoculación. En un último experimento, la reproducción de *R. similis* fue examinada *in vitro* en seis diferentes cultivares de *Musa* con una respuesta del hospedante conocida para *R. similis*. Con excepción del 'Yangambi km5', la respuesta de hospedante del resto de los cultivares bajo condiciones *in vitro* correspondió a su respuesta de hospedante bajo condiciones de invernadero o de campo. Se confirmó el estado susceptible de 'Grande naine', 'Gros Michel' y 'Cachaco' igual que el estado resistente de 'Pisang jari buaya' y 'SH-3142'.

## Evaluación para el control de los nematodos de las plantas transgénicas que expresan diferentes tipos de lectinas

K. Carlens, A. Elsen, E. Van Damme<sup>1</sup>, L. Sági y R. Swennen

Laboratory of Tropical Crop Improvement, Kasteelpark Arenberg 13 and <sup>1</sup>Laboratory for Phytopathology and Plant Protection, Willem De Croylaan 42, KULeuven, B-3001 Lovaina, Bélgica

En la gran mayoría de los países africanos donde se cultivan bananos y plátanos almidáceos, los *Musa spp.* representan cultivos alimentarios básicos, cultivados a menudo exclusivamente por pequeños agricultores. Esto se aplica especialmente a los bananos de cocción de los altiplanos y a los bananos cervecedores de África oriental y central. Sin embargo, durante más de dos décadas los rendimientos de los bananos en la región de África oriental han estado declinando firmemente debido en parte a los endoparásitos migratorios o sedentarios: el nematodo barrenador (*Radopholus similis*), los nematodos lesionadores de las raíces (*Pratylenchus coffeae*) y los nematodos noduladores de las raíces (*Meloidogyne spp.*). Con la aparición de las metodologías transgénicas, uno de los métodos atractivos para controlar estos nematodos es la transferencia en los *Musa spp.* designados, de los genes codificadores de lectina. Antes de aplicarlas al banano, el efecto nematocida de varias lectinas o proteínas relacionadas con las lectinas normalmente se examina con respecto a su eficacia contra los nematodos del banano en *Arabidopsis thaliana* transgénica y el tabaco. Se discutirán diferentes sistemas de evaluación *in vitro* junto con los resultados iniciales.

## Enlace de las lectinas con los nematodos fitoparásitos *Radopholus similis* y su efecto sobre el descubrimiento del hospedante

N. Wuyts, A. Elsen, E. Van Damme<sup>1</sup>, D. De Waele, R. Swennen y L. Sági

Laboratory of Tropical Crop Improvement, Kasteelpark Arenberg 13 and <sup>1</sup>Laboratory for Phytopathology and Plant Protection, Willem De Croylaan 42, KULeuven, B-3001 Lovaina, Bélgica

En una serie de experimentos se estudió el efecto de las lectinas sobre el nematodo fitoparásito *Radopholus similis*. Se descubrió que el FITC o lectinas coloidales marcadas con dorado de *Canavalia ensiformis* (ConA), trigo (WGA) y *Helix pomatia* (UPA), se ligan con el nematodo en la región de la cabeza, en los poros de secreción, en los poros del sistema reproductor y en los de los fásmidos. La viabilidad y la respuesta quimiotáctica hacia las raíces de la planta, después del tratamiento de los nematodos con lectinas, fueron examinadas *in vitro* analizando las huellas de su movimiento en los platos con agar. El ensayo incluyó seis lectinas de plantas de cinco clases diferentes y la proteína de banano parecida a la tautomatina. Una concentración de 1% de aglutinina de *Phaseolus vulgaris* (PHA) tuvo un efecto tóxico sobre las hembras de *R. similis*: el 68% de estas mostró poco o ningún movimiento después de la inoculación, en comparación con un promedio de 30% para otras lectinas y 5% para el tratamiento testigo. Una concentración de 0.05% de PHA redujo aún más la viabilidad de las hembras *R. similis* en un 75%. ConA y WGA no alteraron la respuesta quimiotáctica hacia las raíces de la planta, a pesar del enlace que demostraron ambas lectinas a *R. similis*. En contraste, la aglutinina *Galanthus nivalis* (GNA) redujo el movimiento orientado de las hembras de *R. similis* hacia las raíces de la planta. Finalmente, las secreciones de *R. similis* fueron teñidas con Azul brillante R de Coomassie. Estas secreciones aparecen en los ánfidos, el poro de secreción, la vulva, los espículos y los fásmidos. Además, tratados con la GNA produjeron secreciones menos abundantes.

### **Detección temprana de los tipos enanos anormales de banano utilizando los análisis AFLP, TE-AFLP y MSAP**

I. Engelborghs, L. Sági y R. Swennen

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

Se realizaron el análisis AFLP y otras técnicas en banano, con el fin de caracterizar diferentes fenotipos enanos. El plátano enano AAB 'Curare enano' y su fuera de tipo de tamaño normal generado *in vitro* fueron analizados utilizando técnicas AFLP, TE-AFLP, MSAP, cADN-AFLP y cADN-TE-AFLP. El AFLP y TE-AFLP también fueron realizados en cuatro pares de cultivares de banano enanos y normales que ocurren naturalmente.

Se obtuvieron patrones AFLP diferenciales y se observaron polimorfismos de hasta 25% dependiendo de la combinación de los iniciadores y del cultivar. El análisis TE-AFLP generó fragmentos más cortos y en menor cantidad, lo que da como resultado relativamente solo unos pocos polimorfismos entre los cultivares enanos y de tamaño normal. Las variantes somaclonales obtenidas *in vitro* del enano 'Curare enano' podrían haber sido causadas por metilación inducida por las condiciones *in vitro*. El análisis MSAP, basado en la sensibilidad o ausencia de esta a la metilación de un par de enzimas de

restricción isoschisoméricas, parece representar una herramienta valiosa para revelar la metilación diferencial de la citosina. La clonación y secuenciación de los fragmentos diferenciales no revelaron coincidencias homólogas significativas en las bases de datos públicas. El análisis cADN-AFLP entre los tipos enanos y normales de 'Curare enano' reveló un fragmento específico de tipo normal, mientras que el análisis cADN-TE-AFLP dio como resultado un fragmento específico de tipo enano. Las técnicas AFLP y de variantes han mostrado el potencial para diferenciar entre los genotipos estrechamente relacionados. Una mayor cantidad de combinaciones de iniciadores o alteración de las enzimas de restricción aumentará la oportunidad de encontrar una mayor cantidad de secuencias relacionadas con el enanismo.3

### **Establecimiento de los cultivos de suspensiones de células embriogénicas de los cultivares de banano provenientes de India**

P. Suprasanna\*, B. Panis, L. Sági y R. Swennen

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

\*Dirección permanente: Nuclear Agriculture & Biotechnology Division, Bhabha Atomic Research Centre, Trombay, Bombay 400 085, India

El banano (*Musa* spp.) es la fruta principal y la más importante en India, que es el productor de bananos más grande del mundo. Sin embargo, las enfermedades y plagas como la Sigatoka negra y el mal de Panamá, el virus bunchy top y los nematodos siguen siendo las principales amenazas para su producción. La modificación genética utilizando suspensiones de células embriogénicas (ECS) parece ser un enfoque adecuado para el mejoramiento genético integrado. Se ha avanzado en el desarrollo de los protocolos para el establecimiento de las ECS, y principalmente se utilizan las flores masculinas inmaduras y los cultivos proliferantes *in vitro*. Los meristemas proliferantes *in vitro* ('scalps') representan un material de inicio ideal, debido a que pueden ser generados durante todo el año de la mayoría de los cultivares. El método incluye un preclivado de los meristemas proliferantes en un medio de citoquinina concentrada que proporciona competencia embriogénica.

En este estudio se utilizaron varios cultivares importantes indios [( 'Robusta' (AAA), 'Basrai' (AAA), 'Shrimanthi' (AAA), 'Karpooora valli' (ABB)] para la inducción de los 'scalps' y callos embriogénicos de buena calidad. De estos cultivares, 'Robusta' mostró la formación del callo embriogénico, que subsiguientemente fue utilizado para el establecimiento de las ECS. En adición, se estudió el efecto de las citoquininas alternativas como la meta-topolina (MT), el tidiazuron (TDZ) y N-cloro-4-piridil-N'-fenilurea (CPPU), sobre los meristemas aislados del 'Cachaco' (ABB), 'Williams' (AAA), así como en los 'scalps' de 'Robusta'. En los meristemas aislados ('Williams', 'Cachaco'), la CPPU dio como resultado solo el desarrollo de brotes y raíces individ-

uales, mientras que la MT dio como resultado la formación de un callo acuoso y proliferación. El TDZ indujo principalmente la hinchazón de los explantes. El TDZ resultó ser una mejor citoquinina que la MT en la inducción y mantenimiento de los 'scalps' de buena calidad. Estos actualmente se encuentran bajo evaluación con respecto a la inducción embriogénica. Las ECS establecidas serán caracterizadas y utilizadas en los experimentos de crioconservación y transformación genética.

### **Técnicas RAPD, SSR y AFLP en la detección de polimorfismo entre los progenitores y retoños irradiados en dos cultivares comestibles del banano de Filipinas**

D.M. Hautea, G.C. Molina, N.B. Coronado, H.F. Galvez, C.H. Balatero y R.B. Quillo

Institute of Plant Breeding, College of Agriculture, University of the Philippines Los Baños, 4031 College, Laguna, Filipinas

En este informe se resumen los resultados de nuestros esfuerzos para evaluar la utilidad de las técnicas de los marcadores de ADN, como el ADN polimorfo amplificado aleatoriamente (RAPD), microsátélites o repeticiones de secuencias simples (SSR) y polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), para caracterizar las alteraciones genómicas en mutantes inducidos de los dos cultivares de banano de Filipinas. Los mutantes fueron inducidos en los dos cultivares de banano comestibles más populares de Filipinas por radiación gama y de neutrones rápidos de los cultivos de puntas apicales *in vitro*. Se seleccionaron clones promisorios que luego fueron evaluados utilizando los marcadores moleculares. En el banano, se utilizan varias técnicas de marcadores de ADN para investigar relaciones genéticas entre las accesiones de *Musa* y determinar las diferencias en las variantes somaclonales y mutantes inducidos por radiación. En este estudio, las técnicas RAPD, SSR y AFLP se utilizaron con éxito bajo condiciones locales y resultaron ser útiles para la caracterización de los clones de banano irradiados y no irradiados. Los marcadores RAPD, SSR y AFLP también mostraron suficiente polimorfismo para diferenciar entre los dos cultivares utilizados. Sin embargo, los marcadores SSR y AFLP resultaron ser más reproducibles. Uno de los logros más significativos en este proyecto CRP es el desarrollo de una técnica de teñido con plata no radioactiva, de buena calidad para el análisis AFLP, que podría ser adoptada con facilidad bajo condiciones de laboratorio en los países en vías de desarrollo. Los marcadores AFLP mostraron, tanto una alta reproducibilidad, como una alta capacidad de discriminación. Se identificaron los marcadores polimórficos AFLP (Tabla 2) que resultaron ser útiles para la impresión de las huellas genéticas de los bananos y otras especies de *Musa*. El AFLP fue la única técnica de marcadores evaluada, que fue capaz de detectar la variación en los perfiles de ADN de los clones de mutantes inducidos, sus retoños del primer ciclo y los clones testigo no irradiados (Figura 2), que de otra manera no se puede distinguir morfológica-

Tabla 2. Resumen de los polimorfismos detectados en los marcadores AFLP utilizados en el análisis de los clones progenitores irradiados, retoños del primer ciclo y los clones no irradiados de los cultivares Lakatan y Latundan.

Pares de iniciadores selectivos	No. de bandas	No. de bandas polimórficas	% de polimorfismos
E-ACG/M-CTC	35	11	31.4
E-ACG/M-CTG	32	20	62.5
E-ACG/M-CTT	18	14	77.8
E-AGC/M-CAA	40	20	50.0
E-AGC/M-CAC	34	14	41.2
E-AGC/M-CAG	29	14	48.3
E-AGC/M-CAT	31	14	45.2
E-AGC/M-CTA	21	7	33.3
E-AGC/M-CTC	29	19	65.5
E-AGC/M-CTG	32	18	56.2
Promedio	34	15.1	51.1

mente. Los resultados indican que el AFLP es ideal y muy útil para los propósitos de impresión de huellas genéticas con otros sistemas de marcadores, debido a su proporción múltiple alta, es decir, se puede resolver una mayor cantidad de bandas (=loci) por gel. Mientras que aún debemos investigar más combinaciones de iniciadores, estos resultados sugieren la utilidad potencial de esta técnica para detectar la variación genómica entre los cultivares y para detectar las alteraciones de los genomas en

los mutantes inducidos de banano, incluyendo a aquellos que muestran fenotipos muy similares. La variación detectada entre los clones progenitores irradiados y los retoños sugiere, que la cantidad de ciclos de propagación vegetativa para la técnica de cultivo de puntas apicales utilizada (Novak *et al.* 1989) puede no ser suficiente para eliminar completamente las quimeras en las poblaciones mutadas. Los resultados obtenidos podrían proporcionar base suficiente para una aplicación más exitosa de las técnicas de mutación y de marcadores moleculares para el mejoramiento de los bananos en Filipinas.

#### Bibliografía

Novak F.J., R. Afza, M. Van Duren & M.S. Omar. 1989. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*). *Trop. Agric. (Trinidad)* 67 (1):21-28.

#### Pruebas de alimentación de ratas con el banano transgénico que expresa un péptido antifúngico de cebolla

S. Remy, G. Flo<sup>2</sup>, I. Deconinck, S. Lievens<sup>2</sup>, M. Cokelaere<sup>2</sup>, E. Decuyper<sup>1</sup>, L. Sági y R. Swennen

Laboratory of Tropical Crop Improvement and <sup>1</sup>Laboratory of Physiology and Immunology of Domestic Animals, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Leuven, Belgium  
<sup>2</sup> Subfaculteit Geneeskunde KULAK, Sabbelaan 53, Kortrijk, Países Bajos

Plantas transgénicas del banano de postre 'Williams' con un gen que codifica el péptido antifúngico Ace-AMP1 de cebolla (*Allium cepa*) fueron producidas mediante bombardeo con partículas, con el fin de mejorar la tolerancia contra el ataque del patógeno fúngico *Mycosphaerella fijiensis*. Las pruebas ELISA de los extractos de la pulpa liofilizada de banano mostraron que la concentración del péptido Ace-AMP1 alcanzó un 0.0316% de la cantidad total de proteínas solubles o seis veces más sobre la señal básica medida en la pulpa de banano no transformada. Hemos examinado si este nivel de expresión tuvo algún efecto sobre las ratas alimentadas con una dieta que contenía la pulpa de banano transgénico.

Mientras que el contenido energético fue comparable en la pulpa transgénica y la del testigo, la mate-

ria seca y el contenido de proteínas fueron respectivamente más bajos y más altos en la pulpa transgénica que en la pulpa del testigo. Veinte por ciento de la pulpa liofilizada de los bananos testigo o transgénicos fue incorporado en el alimento regular de los roedores y proporcionado a las hembras y machos de las ratas Wistar. La alimentación con comida transgénica durante seis semanas no causó diferencias en el consumo del alimento, tasa de crecimiento y peso de los órganos internos, en comparación con la dieta del testigo. Asimismo, un análisis complejo de la sangre no mostró efecto alguno en las ratas que consumían comida de banano transgénico.

#### Crioconservación para la eliminación del virus del mosaico de pepino y de la enfermedad del rayado en el banano (*Musa spp.*)

B. Helliot<sup>1</sup>, B. Panis<sup>2</sup>, R. Swennen<sup>2</sup> y P. Lepoivre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de Phytopathologie, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, 5030 Gembloux, Belgium

<sup>2</sup> Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

Los bananos y plátanos (*Musa spp.*) están amenazados por varias plagas y enfermedades, incluyendo importantes enfermedades virales que limitan la producción bananera y el movimiento de germoplasma a través de las fronteras. Esto demora dramáticamente la distribución de las variedades de alto rendimiento recién seleccionadas, a los pequeños agricultores.

Por lo tanto, INIBAP estableció un sistema para el movimiento internacional seguro de germoplasma de *Musa*. Este sistema implica que todo el germoplasma que se mantiene en la colección internacional de germoplasma de *Musa* de INIBAP (basada en la KULeuven, Bélgica) sea evaluado por diferentes centros de inducción de virus (África del Sur, Australia y Francia). Actualmente, alrededor del 25% de la colección que comprende un número significativo de variedades potencialmente importantes y mejoradas, está infectado con los virus. Los virus más comunes en este germoplasma infectado son el BSV (virus del rayado del banano) y también el CMV (virus del mosaico del pepino), BBTV (virus bunchy top del banano), BanMMV (virus moderado del mosaico del banano) y BBrMV (virus del mosaico de las brácteas del banano).

Por lo tanto, la Unidad de Fitopatología (FUSAGx, Bélgica) está llevando a cabo un programa de eliminación de los virus en colaboración con el Laboratorio de Mejoramiento de Cultivos Tropicales (KULeuven, Bélgica). Se evalúan diferentes técnicas *in vitro*, como la termoterapia, quimioterapia, cultivo de meristemas y crioterapia. Plantas del cultivar de banano 'Williams BSJ' (AAA) fueron infectadas naturalmente con el BSV o mecánicamente con el CMV o BBTV. A partir de este material se produjeron cultivos proliferantes *in vitro*. Los agregados meristemáticos aislados fueron crioconservados a través de la vitrificación utilizando la solución PVS-2. El estado de salud del material regenerado primero fue verificado en las plantas *in vitro* a través de ELISA. Luego, el material putativo libre de virus fue evaluado nuevamente después de la aclimatación en el invernadero. Las tasas de erradicación

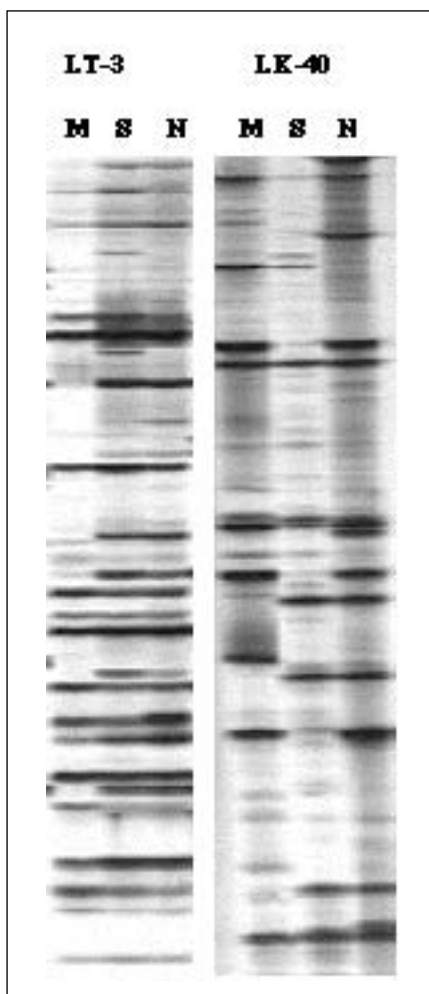


Figura 2. Impresiones de huellas genéticas mediante AFLP, de los clones de banano irradiados (M), retoños del primer ciclo (S) y clones no irradiados (N) de 'Latundan' (LT-3) y 'Lakatan' (LK-40).



de virus después de la crioconservación para el CMV y BSV alcanzaron un 30% y un 90% respectivamente. En comparación, la frecuencia de plantas libres de virus regeneradas directamente de los meristemas altamente proliferantes, que refleja la erradicación espontánea, alcanzó un 0% y un 52% para el CMV y BSV respectivamente. El cultivo convencional de meristemas dio como resultado 0% de plantas libres del CMV y 76% de plantas libres del BSV.

En conclusión, la crioconservación parece ser una técnica muy promisoriosa para erradicar los virus del germoplasma de *Musa* permitiendo la distribución más rápida del germoplasma de interés.

### **Sistema de detección luminiscente ultrasensible en la biotecnología del banano: del etiquetado de promotores, hasta la hibridación Southern**

S. Remy, G. De Weerd, I. Deconinck, R. Swennen y L. Sági

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

La obtención de imágenes digitales utilizando una cámara CCD enfriada se está convirtiendo en una herramienta cada vez más versátil en la investigación biotecnológica. Un sistema de cámara ultrasensible, que consiste de una cámara CCD de digitalización lenta enfriada en el nitrógeno líquido conectada a un programa poderoso de análisis de imágenes, es capaz de detectar niveles muy bajos de emisión de luz de varias fuentes de señales y es utilizada para registrar los resultados para diferentes aplicaciones en la biotecnología del banano.

El sistema reportero más sensible, la luciferasa bioluminescente (LUC), es utilizado en el etiquetado de los promotores mediado por T-ADN. Ya que la integración del gen *luc* sin promotores es aleatoria, el nivel de la expresión LUC es subóptima en la mayoría de los transformantes a cibar que requieren una detección muy sensible. Se presentarán resultados preliminares del cribado *in vivo* de la expresión LUC en los cientos de cultivos celulares etiquetados con promotores putativos.

Durante varios años la quimioluminiscencia ha sido un método ampliamente utilizado en nuestro laboratorio para realizar los análisis no radioactivos. Aunque la exposición y el desarrollo de una película de rayos X es una técnica sensible, también es muy laboriosa y costosa debido a que es necesario realizar exposiciones múltiples para poder evaluar los resultados. En adición a la flexibilidad aumentada y mayor sensibilidad de detección, las señales pueden ser capturadas más rápido con una cámara CCD, que con la película. Se puede obtener buenos resultados con una sola exposición ajustando la escala de grises de la imagen capturada como se demostrará más adelante.

En adición a la luminiscencia, la cámara también puede detectar señales fluorescentes, lo que se demuestra por la habilidad de monitorear la expresión de la proteína fluorescente verde en los cultivos transgénicos de banano. Se demostrará la cuantificación de la intensidad de la luz mediante el análisis por computadora.

### **Transformación, mediante el bombardeo de partículas y Agrobacterium, de una amplia serie de cultivares de banano**

G. Arinaitwe\*, S. Remy, H. Strosse, R. Swennen, y L. Sági

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica  
\*Dirección permanente: Makerere University, Faculty of Agriculture and Forestry, Department of Crop Science, P.O. Box 7062 Kampala, Uganda

La transformación genética del banano (*Musa* spp.) mediante el bombardeo de partículas y *Agrobacterium* se realiza solo en unos pocos laboratorios a escala mundial. En general, se reporta que las frecuencias de transformación dependen del cultivar. De este modo, existe una necesidad de optimizar los protocolos de transformación establecidos para cualquier tipo particular de banano. En este estudio, se compararon dos métodos de transformación y se investigó el efecto de los parámetros físicos en cuatro cultivares de banano: 'Grande naine' (AAA), 'Obino l'ewai' (AAB), 'Orishele' (AAB), y 'Three hand planty' (AAB). La frecuencia de transferencia de ADN fue medida supervisando la expresión de la  $\beta$ -glucuronidasa y del gen de la proteína fluorescente verde. Los resultados indican grandes diferencias entre los dos sistemas de transformación. Una expresión de genes transitoria y estable mucho más significativa en todos los cultivares de banano fue obtenida con el método basado en *Agrobacterium*. Se optimizaron los efectos de la edad y volumen de las suspensiones celulares y el alcance de la infección. Los cultivares fueron categorizados en base a su competencia para la transformación y su capacidad para la regeneración. Se realizarán análisis molecular y bioquímico para confirmar la integración y expresión de los transgenes en diferentes cultivares.

### **Crioconservación de las suspensiones de células embriónicas de banano para el apoyo al mejoramiento del banano**

B. Panis, H. Strosse, S. Remy, L. Sági y R. Swennen

Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, B-3001 Lovaina, Bélgica

La iniciación de los cultivos de células embriónicas es aún difícil y consume mucho tiempo, independientemente del material de inicio utilizado (flores masculinas inmaduras, embriones cigóticos inmaduros o meristemas proliferantes *in vitro*). La respuesta embriónica es muy baja y lenta. Realmente, para la mayoría de los cultivares, menos del 1% de los explantes iniciales se convierte en callos embriónicos adecuados para la iniciación de una suspensión celular y se necesitan de 9 a 26 meses antes de que se establezca una suspensión celular. Además, una vez establecidas, estas suspensiones celulares están sujetas a la variación somaclonal y a la contaminación microbiana y un período prolongado de cultivo puede resultar en una capacidad morfológica más baja y eventualmente,

en su pérdida total.

Hasta ahora, los protocolos de transformación del banano dependen de suspensiones de células embriónicas. El bombardeo con partículas, así como los protocolos basados en *Agrobacterium*, dieron como resultado plantas transgénicas de banano. La hibridación somática y la electroporación de protoplastos también dependen del aislamiento de los protoplastos regenerables a partir de suspensiones de células embriónicas. Finalmente, las suspensiones de células embriónicas pueden ser utilizadas para la propagación masiva como una alternativa a los cultivos de puntas apicales.

Por lo tanto, la conservación segura de estas suspensiones mediante la crioconservación, es de importancia extrema. Se desarrolló una técnica de crioconservación que involucra la crioprotección con 7.5% de DMSO (sulfóxido de dimetilo) y 180 g/L de sacarosa, seguida por un congelamiento lento a 1°C/min hasta -40°C e inmersión en nitrógeno líquido. Actualmente, 651 criotubos que contienen suspensiones de células embriónicas pertenecientes a 48 líneas celulares independientes y 14 cultivares diferentes, están almacenados en nitrógeno líquido a largo plazo. Recientemente, suspensiones de células de banano fueron recuperadas después de cinco años de almacenamiento en nitrógeno líquido. La habilidad de producir embriones somáticos sigue intacta. También se examinó su aptitud para la transformación mediada por *Agrobacterium* y se comparó con una suspensión de células de la misma línea celular que no estaban crioconservadas. La expresión transitoria del gen marcador introducido y la eficacia de regeneración de las plantas transgénicas fue comparable.

### **Eventos de oxidación inducidos por los metabolitos de la enfermedad de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano (*Musa* spp.) y análisis de factibilidad de la selección temprana para la resistencia a esta enfermedad**

J.P. Busogoro<sup>1</sup>, B. Panis<sup>2</sup>, J. Messiaen<sup>3</sup>, P. Van Cutsem<sup>3</sup>, R. Swennen<sup>2</sup> y P. Lepoivre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unité de Phytopathologie, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Bélgica

<sup>2</sup> Laboratory of Tropical Crop Improvement, KULeuven, Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Lovaina, Bélgica

<sup>3</sup> Unité de recherche en Biologie Végétale Cellulaire, Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix, Rue de Bruxelles 61, 5000 Namur, Bélgica

Se estudiaron los mecanismos de acción de las toxinas de *M. fijiensis* en la enfermedad de la Sigatoka negra (*black leaf streak disease*, BLS). El extracto crudo de acetato etílico (EaCE) de los filtrados del cultivo del patógeno y el juglone (5-hidroxi-1,4-naptoquinona), que es un metabolito purificado de EaCE, fueron inyectados en las hojas de dos cultivares de banano. Los cultivares 'Grande naine' y 'Fougamou' sirvieron como referencia susceptible y referencia parcialmente resistente, respectivamente. Estos bioensayos indujeron la necrosis y

mostraron una disminución del índice de vitalidad, determinado de acuerdo a los datos de fluorescencia de clorofila (Lichtenthaler *et al.* 1986). El cultivar 'Grande naine' fue más sensible que 'Fougamou', independientemente del bioensayo (inducción de necrosis o fluorescencia de clorofila) que se toma en cuenta. La dependencia de luz de la toxicidad revelada por estos ensayos, el efecto temprano sobre la fluorescencia de clorofila (Harelimana *et al.* 1997) y el abultamiento de los cloroplastos de 'Grande naine', después de inyectarlo con EaCE, son indicativos de que los protoplastos podrían ser el objetivo potencial para las toxinas de *M. fijiensis*.

Se desarrolló un protocolo mecánico (Leegood y Malkin 1986) para aislar cloroplastos fisiológicamente intactos de las hojas de banano. Un nuevo bioensayo basado en la adición del juglone a las suspensiones de los cloroplastos de banano fue utilizado para analizar el impacto de los metabolitos de *M. fijiensis*. Al llevar a cabo la reacción de Hill (Allen y Holmes 1986) con la suspensión tratada de este modo, con el fin de medir la habilidad de los cloroplastos de transferir electrones, se demostró claramente un efecto inhibitorio directo del juglone sobre esta actividad fisiológica. Además, este efecto nuevamente fue más alto en los cloroplastos de 'Grande naine' que en los de 'Fougamou'.

Ya que los cloroplastos constituyen uno de los sitios de producción activa de oxígeno en las plantas (Sutherland 1991, Foyer *et al.* 1997), sus interacciones directas con el juglone en los bananos condujeron a una nueva hipótesis. Por lo tanto, se sospechó que los eventos de oxidación son el origen de los daños fisiológicos en los cloroplastos aislados. De hecho, la participación de los metabolitos de naphthoquinona en el proceso de oxidación es común (Medentsev y Akimento 1998). Su propiedad de autooxidación, que es responsable por la oxidación del NADH y NADPH, conduce a la remoción de estas moléculas del sistema de fosforilación oxidativa, como fuentes potenciales de los equivalentes de reducción para la cadena respiratoria.

En el caso de la BLS, la evaluación de esta hipótesis fue efectuada considerando posibles interac-

ciones entre el juglone y los sistemas antioxidantes del banano. Hemos observado que el juglone causa una oxidación *in vitro* del ácido ascórbico, el antioxidante más abundante en las plantas (Smirnoff 2000). La ocurrencia de los fenómenos oxidativos inducidos por este metabolito en los bananos también fue evaluada analizando los patrones de las dismutasas superóxidas (SOD) a varios intervalos de tiempo, después de la inyección de juglone en las hojas de los dos cultivares de referencia. Realmente, se asume que las dismutasas superóxidas desempeñan un papel central en la defensa contra el estrés oxidativo (Beyer *et al.* 1991, Scandalias 1993). Nuestras observaciones preliminares mostraron que hubo un efecto represivo en una isoforma SOD en 'Grande naine', mientras que en 'Fougamou' parece ocurrir un efecto estimulador sobre otra isoforma SOD. Basándose en los resultados obtenidos con los dos sistemas antioxidantes analizados anteriormente, podemos suponer que el juglone priva parcialmente a los bananos de su capacidad antioxidante. Es necesario realizar más investigaciones en esta área con el fin de determinar exactamente todos los mecanismos afectados por los metabolitos del patógeno durante el desarrollo de la BLS.

Finalmente, también se efectuó el primer ensayo de selección *in vitro* para detectar la resistencia a la BLS. Por lo tanto, se mezclaron diferentes concentraciones de juglone con suspensiones de células embriónicas de dos líneas de THP (cultivar 'Three hand planty'), así, como con las suspensiones que contenían embriones somáticos de las mismas líneas celulares. Después de la incubación durante la noche, el material fue transferido a un medio fresco libre de juglone. En general, ambos materiales vegetales necrosaron y no mostraron ningún aumento de peso durante el período de incubación después del tratamiento. Sin embargo, de los embriones somáticos de una de las líneas tratadas, se obtuvieron algunas plantas de tejidos que no necrosaron con 50 ppm de juglone. Estas plantas regeneradas serán evaluadas con respecto a su eventual resistencia a la BLS, mediante los

ensayos descritos arriba, así, como por la inoculación artificial de las plantas con el patógeno. Estas plantas regeneradas constituirán material valioso para futuros análisis del papel que desempeñan las toxinas de *M. fijiensis* en el desarrollo de la enfermedad BLS.

## Bibliografía

- Allen J.F. & N.G. Holmes. 1986. Electron transport and Redox Titration. Pp. 103-141 *in* Photosynthesis energy transduction. A practical approach (M.F. Hipkins and N.R. Baker, eds). IRL Press, Washington, USA.
- Beyer W., J. Imlay & I. Fridovich. 1991. Superoxide dismutase. *Prog. Nucl. Acid Res.* 40:221-53.
- Foyer C., G. Noctor & J.F. Morot-Gaudry. 1997. L'oxygène: bienfait ou danger pour les plantes? *Biofutur* 169:27-29.
- Harelimana G., P. Lepoivre, H. Jijakli & X. Mourichon. 1997. Use of *Mycosphaerella fijiensis* toxins for the selection of banana cultivars resistant to black leaf streak. *Euphytica* 96:125-128.
- Leegood R.C. & R. Malkin. 1986. Isolation of sub-cellular Photosynthetic Systems. Pp. 9-26 *in* Photosynthesis energy transduction. A practical approach. (M.F. Hipkins and N.R. Baker, eds). IRL Press, Washington, USA.
- Lichtenthaler H.K., Buschmann C., Rinderle U. and Schmuck G. (1986) Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. *Radiation and Environmental Biophysics* 25: 297-308.
- Medentsev A.G. & V.K. Akimenko. 1998. Naphthoquinone metabolites of the fungi. *Phytochemistry* 47:935-959
- Scandalias J. G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol.* 101:7-12.
- Smirnoff N. 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* 3:229-235.
- Sutherland M.W. 1991. The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39:79-93.

# Publicaciones de INIBAP



## Disponibles en la sede de Montpellier:

- INIBAP 2002. Networking bananas and plantains: Annual Report 2001.
- INIBAP/CTA 2002. The Global *Musa* Genomics Consortium. Strategy for the Global *Musa* Genomics Consortium: Report of a meeting held in Arlington, USA, 17-20 July 2001.
- INIBAP/CTA/CIRAD 2001. J. Daniells, C. Jenny, D. Karamura & K. Tomepke. *Musalogue*: a catalogue of *Musa* germplasm. Diversity in the genus *Musa* (E. Arnaud & S. Sharrock, compil.).
- INIBAP/CTA 2001. B. Panis, & N.T. Thinh. Cryoconservación de germoplasma de *Musa* (J.V. Escalant & S. Sharrock, eds). Guías Técnicas INIBAP 5.
- CIRAD/INIBAP 2000. Bananas (en inglés).
- INIBAP. 2000. G. Orjeda (compil.). Evaluating bananas: a global partnership. Results of IMTP Phase II.
- INIBAP/CRBP/CTA/CF. 1999. C. Picq, E. Fouré & E.A. Frison (eds). Bananas and food security/Les productions bananières: un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire. Proceedings of an International Symposium held in Douala, Cameroon, 10-14 November 1998.
- INIBAP/FHIA. 1999. F.E. Rosales, E. Arnaud & J. Coto (eds). A tribute to the work of Paul H. Allen: a catalogue of wild and cultivated bananas.
- INIBAP/CIID/EARTH. 1999. F.E. Rosales, S.C. Tripon & J. Cerna (eds). Producción de banano orgánico y, o, ambientalmente amigable. Memorias del taller internacional organizado en la EARTH, Guácimo, Costa Rica, 27-29 de Julio 1998.
- INIBAP/RF/SDC. 1999. E.A. Frison, C.S. Gold, E.B. Karamura & R.A. Sikora (eds). Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. Proceedings of a workshop on banana IPM held in Nelspruit, South Africa, 23-28 November 1998.
- INIBAP 1999. E. Akyeampong (ed.). *Musa* Network for West and Central Africa. Report of the second Steering Committee meeting held at Douala, Cameroon, 15-16 November 1998.
- INIBAP 1999. K. Shepherd. Cytogenetics of the genus *Musa*.
- INIBAP 1998. E. Akyeampong (ed.). *Musa* Network for West and Central Africa. Report of the first Steering Committee meeting held at Douala, Cameroun, 8-10 December 1998.
- INIBAP 1998. E.A. Frison & S.L. Sharrock (eds). Banana streak virus: a unique virus-*Musa* interaction? Proceedings of a workshop of the PROMUSA virology working group held in Montpellier, France, 19-21 January 1998.
- INIBAP 1998. C. Picq (ed.). Segundo seminario/taller de la Red regional de información sobre banano y plátano de America Latina y el Caribe. San José, Costa Rica, 10-11 de Julio 1997.
- INIBAP/CTA/FHIA/NRI/DFID 1998. B.K. Dadzie. Post-harvest characteristics of black Sigatoka resistant banana, cooking banana and plantain hybrids. INIBAP Technical Guidelines 4.
- INIBAP 1998. G. Orjeda en colaboración con los grupos de trabajo de PROMUSA sobre Sigatoka y Fusarium. Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka y marchitamiento por Fusarium. Guías Técnicas INIBAP 3.
- INIBAP/ACIAR 1997. E. Arnaud & J-P Horry (eds). *Musalogue*, a catalogue of *Musa* germplasm: Papua New Guinea collecting missions 1988-1989.

- INIBAP/CTA/FHIA/NRI/ODA 1997. B.K. Dadzie & J.E. Orchard. Evaluación post-de los híbridos de bananos y plátanos: Criterios y métodos. Guías Técnicas INIBAP 2.
- INIBAP/CTA 1997. P.R. Speijer & D. De Waele. Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes. INIBAP Technical Guidelines 1.
- INIBAP/The World Bank 1997. E.A. Frison, G. Orjeda & S. Sharrock (eds). *PROMUSA*: A Global Programme for *Musa* Improvement. Proceedings of a meeting held in Gosier, Guadeloupe, March 5 and 9, 1997.
- INIBAP-IPGRI/CIRAD. 1996. Descriptores para el banano (*Musa* spp.).

## Disponibles en la oficina regional de Asia y el Pacífico:

- INIBAP-ASPNET 2001. A. B. Molina, V. N. Roa & M.A.G. Maghuyop (eds). Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific Vol. 10. Proceedings of the 10th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee (RAC) meeting held at Bangkok, Thailand, 10-11 November 2000.
- INIBAP-ASPNET/MARDI 2001. A. B. Molina, N. H. Nik Masdek & K.W. Liew (eds). Banana Fusarium wilt management: towards sustainable banana cultivation. Proceedings of an international workshop on the management of Fusarium wilt disease held in Genting, Malaysia, 18-20 October 1999.
- INIBAP-ASPNET 2000. V. N. Roa & A. B. Molina (eds). Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific. Proceedings of the 9th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee (RAC) meeting held at South China Agricultural University, Guangzhou, China, 2-5 November 1999.
- INIBAP-ASPNET/FFTC 2000. A.B. Molina, V.N. Roa, J. Bay-Petersen, A.T. Carpio & J.E.A. Joven(eds). Managing banana and citrus diseases. Proceedings of a regional workshop on disease management of banana and citrus through the use of disease-free planting materials held in Davao City, Philippines, 14-16 October 1998.
- INIBAP-ASPNET 2000. R.V. Valmayor, S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua & R.R.C. Espino. Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia.
- INIBAP-ASPNET 1999. V.N. Roa & A.B. Molina (eds). Minutes: Eighth meeting of INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee (RAC) hosted by the Queensland Horticulture Institute (DPI) in Brisbane, Australia, 21-23 October 1998.
- INIBAP-ASPNET 1998. Minutes: Sixth meeting of INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee (RAC) hosted by the Vietnam Agricultural Science Institute (VASI) in Hanoi, Vietnam, 21-23 October 1997.
- INIBAP-ASPNET 1997. V.N. Roa & R.V. Valmayor (eds). Minutes: Sixth meeting of INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee (RAC) hosted by National Research Center on Banana (ICAR) in Tiruchirapalli, India, 26-28 September 1996.
- INIBAP-ASPNET 1996. R.V. Valmayor, V.N. Roa & V.F. Cabangbang (eds). Regional Information System for Banana and Plantain – Asia and the Pacific (RISBAP): Proceedings of a consultation/workshop held at Los Baños, Philippines, 1-3 April 1996. (ASPNET Book Series N° 6).