

MARCHITEZ POR FUSARIUM O MAL DE PANAMÁ: UNA ENFERMEDAD RE-EMERGENTE DE LAS MUSÁCEAS QUE AMENAZA LA SOSTENIBILIDAD ALIMENTARIA.

Luis Pérez Vicente

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal/Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal/Bioversity International RELAC, CUBA

Correo electrónico: lperezvicente@sanidadvegetal.cu

INTRODUCCIÓN.

El Mal de Panamá es una marchitez letal de las musáceas causado por *Fusarium oxysporum f. sp.cubense* (*Foc*). El patógeno presenta tres razas que atacan los clones de *Musa* las cuales están agrupadas en 21 grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs). La raza 1 causó una severa epidemia en América en el pasado siglo que afectó más de 50 mil ha de bananos Gros Michel (AAA) con un costo estimado en la industria de exportación superior a los 2,300 millones de dólares, así como la desaparición del clon Manzano (subgrupo Silk, AAB) del cultivo comercial (Ploetz, 2002). La raza 2 ataca los tipos Bluggoe (Burro Criollo, Burro CEMSA: subgrupo Bluggoe, ABB). El clon Gros Michel fue sustituido por clones Cavendish (subgrupo Cavendish AAA) que se cultivan en la actualidad, los cuales son resistentes a ambas razas.

Los Cavendish habían sido solo afectados por el Mal de Panamá en condiciones de los subtrópicos debido a la depresión de los mecanismos de resistencia a causa de las bajas temperaturas ambientales (Stover, 1972; Ploetz y Pegg 2000; Pérez, 2004; Ploetz, 2005 a) y se consideraban hasta 1990 una solución permanente al problema de la enfermedad. En la década de 1990, a partir del desarrollo de plantaciones de clones Cavendish a gran escala en Malasia peninsular, aparecieron poblaciones patogénicas epidémicas pertenecientes al grupo de compatibilidad vegetativa 01213 en estos clones, denominadas raza tropical 4 (RT 4), las cuales se han diseminado por el sudeste asiático y Australia. Esta raza es capaz de infectar los clones que ocupan el 80% de la superficie mundial (Ploetz, 2005 b) y se mantiene solo bajo control utilizando protocolos costosos de saneamiento no asequibles a pequeños agricultores. El patógeno presenta un alto riesgo de entrada a América (Ploetz, 2007) donde puede causar importantes pérdidas a la producción bananera hoy estimada en 3 mil millones de dólares y a la sostenibilidad alimentaria.

En América están presentes los patosistemas *Foc* R1-Manzano, *Foc* R1-Gros Michel, *Foc* R1-Prata (Brasil). En Cuba se encuentran los patosistemas *Foc* R1-Gros Michel, *Foc* R1-Manzano *Foc* R1 Pisang awak y *Foc* R2-Bluggoe (Burro criollo).

Los factores que contribuyeron a la epidemia de la raza 1 están vigentes en la actual epidemia en Asia.

En el presente trabajo se describen los estudios llevados a cabo en Cuba en relación a las poblaciones del patógeno y sus posibilidades de manejo en el marco de un programa integrado de lucha; se analizan las condiciones que propiciaron la epidemia de la raza 1 en el pasado siglo y de la raza tropical en la actualidad se describe el riesgo y las condiciones que existen para el establecimiento de la raza tropical 4 de *Foc* en nuestro país.

MATERIALES Y METODOS.

1. Epidemiología de la enfermedad en Cuba.

Se realizó un muestreo de plantas con síntomas de marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá a lo largo del país en diferentes clones y localidades. Se construyó una base de datos donde se registraron los clones y localidades. Se tomaron muestras de haces vasculares coloreados, se secaron y llevaron al laboratorio para obtener aislamientos monospóricos de *Foc*. Se realizó un análisis de las condiciones existentes que posibilitaron los brotes.

2. Estructura de las poblaciones de *Foc* en Cuba.

Se analizó la estructura de las poblaciones presentes en función de patogenicidad (razas) y grupos de compatibilidad vegetativa (VCG). Para la identificación de las razas se tuvo en cuenta los clones a partir de los cuales se obtuvieron las muestras y se realizaron inoculaciones artificiales utilizando los diferenciales propuestos por Stover (1962). Para la identificación de los VCGs, se desarrolló el protocolo de Cove (1976) modificado por Puhalla (1985) el cual puede verse en detalle en Batlle y Pérez, (2009). Se realizó un ensayo de reacción de un set de clones de bananos y plátanos (ver tabla) para lo cual se seleccionaron tres aislamientos pertenecientes a la raza 1 (VCG 01210) y raza 2 (VCGs 0124 y 0128) los cuales fueron multiplicados de forma independiente sobre semilla de sorgo y después utilizados 15 gramos de la semilla inoculada de sorgo con cada VCGs independiente para inocular c/u de cinco plantas de cada clon. Se plantaron al campo y se midió la frecuencia y severidad de los síntomas externos e internos desarrollados de acuerdo a las Guías Técnicas del INIBAP para la evaluación al marchitamiento por *Fusarium* (Carlier et al., 2002)

3. La identificación de antagonistas a *Foc* y ensayos de campo para el manejo de Mal de Panamá

Se seleccionaron cepas de *Trichoderma harzianum* A24 y *T. lignorum* y una cepa de *B. brevis* obtenida de suelos arroceros. Se procedió a realizar ensayos de competencia in vitro en PDA contra *Foc* VCG 01210, *Colletotrichum musae* y *Ceratobasidium AGG* (*Rhizoctonia fragarie*) obtenido de vitroplantas en fase de endurecimiento con pudrición de raíces y meristemos. Se utilizó para ensayos *in vivo* un biopreparado a base de *T. harzianum* A24 desarrollado en un sustrato sólido compuesto por una mezcla en proporción 2:1 (p/p) de arroz partido con cáscara de arroz y bagacillo de caña de azúcar estéril inoculado con una suspensión de conidios del antagonista e incubado hasta obtener una cobertura completa del sustrato por el hongo. Se realizó un ensayo en contenedores de 20 L. Las variantes de tratamiento aparecen en la tabla 3; se evaluó el desarrollo de la enfermedad según la metodología ya expuesta (Carlier et al., 2002). Se desarrolló un estudio de campo en una UBPC en Caney del Sitio Palma Soriano en suelos conducibles donde la enfermedad es endémica. Campos afectados severamente por enfermedad fueron eliminados y replantados con plantas sanas las cuales fueron tratados con el biopreparado a base de *T. harzianum* A24 de acuerdo a las variantes que aparecen en la tabla 4). La eficacia de los tratamientos se determinó en función de la frecuencia de plantas enfermas.

4. Revisión de la situación de la raza tropical 4 de *Foc* en Asia y análisis del riesgo de establecimiento e impacto en América y Cuba en particular.

Se realizó una revisión de las características de los daños de la raza tropical 4, las vías posibles para su establecimiento y los factores que contribuyen a su desarrollo epidémico y nocividad en los países donde está presente y se analizaron las condiciones prevalecientes en la actualidad en América y particularmente en Cuba que pueden contribuir a su impacto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Epidemiología de la enfermedad en Cuba.

En la Fig. 1 aparecen las localidades muestreadas. Los clones afectados fueron Gros Michel (un aislamiento) y Manzano (nueve aislamientos pertenecientes a la raza 1) Burro criollo (29 aislamientos), Burro CEMSA (cuatro aislamientos), Pisang awak (Burro Vietnamita; ocho aislamientos) y FHIA 03 (un aislamiento) (aislamientos pertenecientes a la raza 2);



Figura 1. Localidades y provincias muestreadas.

La re emergencia de la enfermedad en Cuba ha sido debida esencialmente a los cambios de la estructura clonal de las plantaciones, por la sustitución de los Cavendish y plátanos AAB por clones pertenecientes al subgrupo Bluggoe (Burro criollo) como el Burro CEMSA y otros en desarrollo y a la ausencia de práctica de producir semilla sana libre. En todos los casos encontrados, la semilla utilizada para las plantaciones procedían de fincas con presencia de la enfermedad y los productores tenían ningún o escaso conocimiento acerca de la enfermedad y su ciclo. Como práctica normal, procedían a eliminar la planta madre enferma y utilizar el hijo asintomático. En el caso de las plantaciones en Sagua de Tánamo, las plantaciones Burro CEMSA se encuentran a lo largo de los márgenes del río Sagua y después de las crecidas del río se producen fuertes afectaciones. En otras localidades, como es el caso del Caney del Sitio, la existencia de una tabla de agua alta a consecuencia de un drenaje interno deficiente, causa hipoxia en las raíces lo que favorece el desarrollo y distribución de la enfermedad. En las provincias occidentales la mayor frecuencia de aislamientos se obtuvo de Burro CEMSA y de Pisang awak (Burro Vietnamita) el cual es muy popularmente comercializado como un Manzano. En ningún caso las plantaciones afectadas provienen de semillas certificadas libres de la enfermedad.

2. Estructura de las poblaciones de *Foc* en Cuba.

En la tabla 1 aparecen la frecuencia de las razas y VCGs determinados.

Los aislamientos de la raza 1 pertenecieron en su mayoría al VCG 01210 el cual tiene una muy estrecha distribución mundial, mientras que los de la raza 2 pertenecieron en su mayoría a los VCGs 0124, 0124/0125 y 0128. Todos los aislamientos del clon Manzano y el único de Gros Michel, pertenecieron al VCG 01210 solo presente en Cuba y Florida. Cuatro aislamientos no pudieron ser identificados con ninguno de los probadores de la colección internacional de VCGs por lo que pueden considerarse nuevos VCGs por determinar.

En la Figura 2 y en la Tabla 2 aparecen los resultados de la evaluación de la frecuencia de plantas muertas producto de las infecciones artificiales con diferentes VCG de *Foc* y de la severidad de los síntomas externos e internos que mostraron los clones.

Tabla 1. Frecuencia de los aislamientos por grupos de compatibilidad vegetativa de las poblaciones de *Foc* de Cuba y su relación con las razas patogénicas.

GCV	Raza	Frecuencia (%)	Total de aislamientos
01210	1	19,3	9
01210	2	5,8	3
124	2	50,0	26
0124	1	3,8	2
0124/125	2	9,6	5
128	2	1,9	1
Nuevo GCV.	2	7,7	4
CRN	2	3,8	2
Total de aislamientos	-	-	52

Tabla 2. Reacción de diferentes clones a inoculaciones artificiales con diferentes razas y GCV de *Foc*. Severidad promedio.

Variedades	Grado medio *. Síntomas externos			Grado medio. Síntomas internos del rizoma a la cosecha		
	01210 **	0124	0128	01210	0124	0128
Manzano criollo	4.6	1.0	1.0	3.8	1.0	1.0
Gros Michel	5.0	1.0	1.0	6.0	1.0	1.0
Burro Criollo	1.8	4.6	3.2	2.2	5.0	3.4
Pelipita	1.6	1.4	5.0	1.2	1.8	5.0
<i>Musa acuminata</i> 2	1.8	1.0	2.4	1.8	1.0	2.6
Pisang lilin	2.4	2.0	1.2	2.6	1.2	1.4
Calcutta 4	2.0	2.0	1.2	1.4	2.0	1.4
Pisang awak	1.6	3.2	2.4	1.4	3.2	2.0
Pisang Jari Buaya	1.8	3.2	1.0	2.0	3.2	1.0
Paka	1.0	3.0	1.0	1.0	3.0	1.0
Yangambi Km. 5	4.4	3.6	2.6	4.0	3.6	2.4
FHIA 02	1.0	1.8	1.0	1.0	1.8	1.0
FHIA 03	2.0	3.6	2.2	2.2	4.2	1.6
FHIA 04	1.0	1.6	1.0	1.0	1.6	1.0
FHIA 18	2.2	1.6	1.2	2.4	1.4	1.0
FHIA 21	1.8	1.6	1.0	1.0	1.6	1.0

* Síntomas externos: Grado 1, sano; grado 5, planta muerta

Síntomas externos: Grado 1, sano; grado 5, > de 2/3 partes del tejido vascular del cormo colonizado

** 01210 (raza 1); 0124 (raza 2); 0128 (raza 2)

La reacción de los clones Manzano, Gros Michel y Burro Criollo (Bluggoe, ABB) se ajustó a la expresión esperada de acuerdo a la clasificación de razas informada por Stover (1962). Esta clasificación no tiene sentido genético y aunque ha tenido valor práctico por incluir clones de gran cultivo, no puede considerarse que las poblaciones contenidas en una raza sean homogéneas en su patogenicidad. En la tabla 2 puede apreciarse que los clones Pelipita, Pisang Jari Buaya y Paka mostraron una reacción diferente frente a los aislamientos pertenecientes a los VCGs 0124 y 0128 procedentes de Burro criollo y por tanto pertenecientes

a la raza 2. Así mismo, Esto argumenta a favor de considerar la caracterización de las poblaciones mediante compatibilidad vegetativa o VCGs. Los clones híbridos de la FHIA a excepción el FHIA 03 mostraron una alta resistencia a todos los aislamientos.

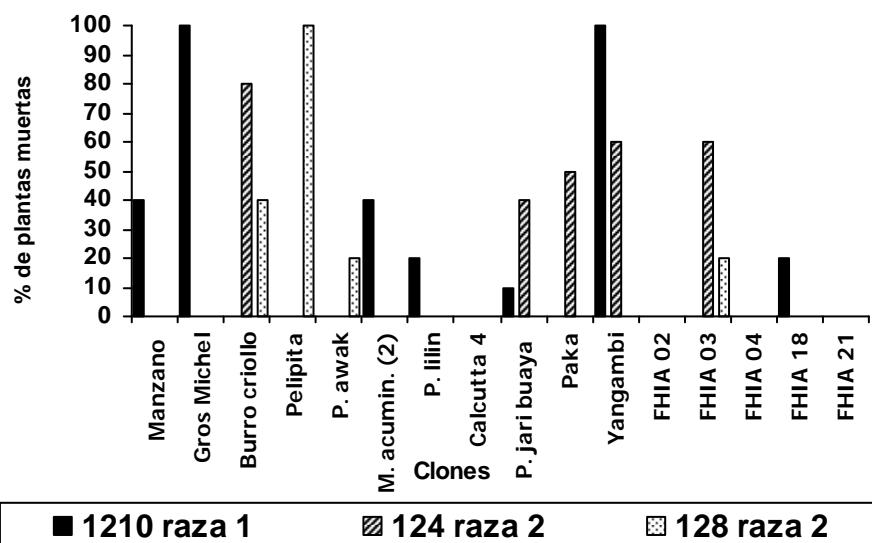


Figura 2. Reacción de los clones a las inoculaciones artificiales con diferentes GCV y razas de *Foc*. Porcentaje de plantas muertas.

3. La identificación de antagonistas a *Foc* y ensayos de campo para el manejo de Mal de Panamá

Los resultados del estudio de la eficacia de *T. harzianum* aparecen en la tabla 3 y 4. Cuando el suelo es colonizado por *T. harzianum* la infección de plantas sanas es inhibida. Tanto en los ensayos de contenedores como en suelo conducible en áreas de producción el uso combinado del antagonista con material sano de plantación permitió un buen efecto inhibitorio del desarrollo de la enfermedad.

Tabla 3. Eficacia de *T. harzianum* en el control de *Foc*. Ensayo de contenedores

No.	Variante	Plantas afectadas (%)	Severidad (1 a 5)
1	Testigo sin inocular y sin tratar	0	0
2	Inoculada con <i>Foc</i> y sin tratar con <i>T. harzianum</i>	100	4.5
3	Inoculadas con <i>Foc</i> y tratadas con <i>T. harzianum</i> el mismo día	40	2.5
4	Inoculadas con <i>Foc</i> y tratadas con <i>T. harzianum</i> 7 días antes	0	0

Tabla 4. Resultados de aplicaciones de *T. harzianum* en suelos conducibles a *Foc* en 170 ha en fincas comerciales de Caney del Sitio, Palma Soriano, prov. Santiago de Cuba (Pérez Vicente et al., 2009).

Variante	Variedad	Plantas afectadas (%)	Observaciones
Sin tratamiento	Burro CEMSA	> 60	Campo fue destruido.
20 g/planta con 8 x10 ⁹ conidios /g	Burro CEMSA	< 1	En producción por más de 5 años.
Sin tratamiento	FHIA 03 FHIA 23	> 30	Campo fue destruido.
20 g/planta con 8 x10 ⁹ conidios/g	FHIA 03 FHIA 23	< 1	En producción por más de 5 años.

Se identificó un aislamiento de *Bacillus sp.* que produce metabolitos extracelulares inhibitorios del crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Foc* R1 y R2, *Colletotrichum musae* agente causal de la antracnosis y *Rhizoctonia fragarie* causantes de pudriciones de raíces de plátanos. Estos metabolitos no inhiben el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma spp.*

4. Revisión de la situación de la raza tropical 4 de Foc en Asia y análisis del riesgo de establecimiento e impacto en América y Cuba en particular.

De acuerdo a Molina (2009) y Ploetz (2007) Foc RT4 (VCG 01213) apareció en Asia en áreas de selva donde se plantaron Cavendish para la exportación al mercado japonés. En menos de 10 años se ha distribuido al todo el sudeste asiático y el Pacífico a partir del movimiento de material infectado y a lo largo de plantaciones afectadas en los márgenes de los ríos. En Malasia costó en los 90 más de 8 millones USD/año y las tasas de incremento de la infección en Cavendish alcanzó las 50 plantas/ha/mes, a los dos años de registrarse las primeras plantas infectadas (Lee *et al.*, 2001) y se abandonó la industria de exportación. En Filipinas se incrementó de 700 casos en el 2005 a 15,000 casos en el 2007; hoy hay más de 60 mil casos registrados de Mal de Panamá; en Taiwán de 60 mil ha de cultivo en 1970 solo quedan poco más de 6 mil en plantaciones anuales a alta densidad. Se está distribuyendo por el sudeste de China a lo largo del río Pearl donde existían ya en el 2007 >65 mil ha afectadas. Las transnacionales en Filipinas manejan la enfermedad con el uso del programa de control de la marchitez bacteriana o Moko causado por *Ralstonia solanacearum* que se base en inspección, erradicación, cuarentena y desinfección con dazomet, programa incosteable para productores no exportadores.

Entre los factores de riesgo establecimiento e impacto de la RT 4 en América y Cuba en particular, se encuentran:

- Falta de conocimiento y percepción en América y Las Antillas sobre las vías de introducción, su impacto y tácticas de manejo. Los concededores de la enfermedad en el pasado siglo no están activos.
- Dependencia de la producción en un número reducido de clones (Cavendish; plátanos AAB; tipos Burro y Pisang awak, ABB). En Cuba existen más de 60 mil ha de clones susceptibles a la raza 2.
- La RT 4 es virulenta sobre clones que ocupan el 80 % de la superficie mundial del cultivo; según registros estadísticos en América (Lescot, 2008), los bananos y plátanos son importantes: i) para la economía de los países productores (genera empleos para atender 1,28 millones ha de cultivo e ingresos por 3 mil millones de dólares) y ii) para la seguridad y sostenibilidad alimentaria (se producen 23 millones de tm de las cuales, se consume localmente entre el 41.3 y 69.4 %).

- Síntomas similares a los de las demás razas y largo período de latencia; la evidencia de su presencia y una epidemia en el campo puede ocurrir después de muchos años de su introducción
- Ausencia de protocolos de exclusión y falta de acceso de los productores a semilla limpia certificada, lo que determina que usen su propio material infectado.
- No hay un programa nacional de manejo de las razas de *Foc* presentes en Cuba.
- Limitadas opciones de manejo químico y biológico
- Falta de recursos para investigación y extensión sobre diagnóstico, biocontrol y manejo integrado de la enfermedad.
- Fácil diseminación por diferentes vías para ser introducido.
- La convivencia con la enfermedad puede requerir cambios en los sistemas de producción de bananos y ser extremadamente costosa.

Recomendación de un programa de manejo de la enfermedad.

1. Cuarentena y prohibición de introducción de germoplasma de *Musa* y otras especies hospedantes de países donde está RT4. Solo introducir desde centros de cuarentena en terceros países.
2. Capacitar a productores y técnicos sobre la enfermedad, su nocividad, forma de reconocerla y como se disemina. Diagnóstico de los casos y caracterización de las poblaciones de *Foc*:
 - Acuerdos de las Reuniones de MUSALAC 2008 en Panamá y 2009 en Venezuela
 - Acuerdo de la Reunión de Grupos de Interés del OIRSA en El Salvador en el 2009
3. Vigilancia y organización de la información sobre brotes.
4. Organizar programas de multiplicación de semilla sana libre del patógeno.
 - Cultivo de tejidos
 - Control químico y biológico en viveros para multiplicación.
5. Identificar antagonistas y desarrollar su producción para su uso en el marco del manejo integrado:
 - medidas de exclusión con uso de semilla sana,
 - mejora de las condiciones de cultivo y de las propiedades biológicas de los suelos de las fincas para permitir el antagonismo
 - saneamiento y rotaciones con clones resistentes o cultivos no hospedantes.

Conclusiones:

1. Hay una re-emergencia del mal de Panamá en Asia causado por *Foc* RT 4 (VCG 01213). En Cuba el cambio de la composición clonal ha permitido la re emergencia de las razas 1 y 2 pertenecientes a los VCGs 01210, 0124, 0125 y 0128.
2. Los factores que determinaron la epidemia de la raza 1 del pasado siglo se encuentran vigentes en la actualidad y pueden conducir a nuevas epidemias de no adoptarse medidas de manejo
3. La clasificación racial existente no tiene sentido genético y necesita de investigación básica

4. Se identificaron cepas de *T. harzianum* y *Bacillus* sp. con efecto antagonistas sobre Foc R1 y R2.
5. La entrada de la RT 4 a América y Cuba puede tener un gran impacto sobre la economía y la sostenibilidad alimentaria
6. Se propone un programa de prevención y manejo basado en regulaciones cuarentenarias, producción de semilla sana, uso de antagonistas y capacitación de agricultores y productores.

BIBLIOGRAFIA

- Batlle, A. y Pérez-Vicente, L. Variabilidad genética de las poblaciones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en bananos y plátanos de Cuba. *Fitosanidad* vol. 13 (3): 169-186. 2009.
- Carlier, J.; D. De Waele; J. Escalant: «Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* y nematodos», Guías Técnicas INIBAP, 6. Ed. IPGRI. Francia. 2002.
- Cove, D.J. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity* 36, 191-203. 1976.
- Lee, Yit Meng, Teo Leng, and Ong Kin Pim. Fusarium wilt of Cavendish banana and its control in Malaysia. In: Banana Fusarium wilt management: towards sustainable cultivation. Ed: Molina, A.B., Masdek, N.H., Liew, K.W. INIBAP-ASNET, Los Baños. Pp: 252-259. 2001.
- Lescot. T. 2008. Banana production and commercialization. Memorias de ACORBAT 2008, Guayaquil, Ecuador.
- Molina. A.B., Fabregar, E.G., Sinohin, V., Fourie, G. and Viljoen, A., Tropical Race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing new Panama wilt epidemics in Cavendish varieties in the Philippines. *Phytopathology*, 98:S108. 2005
- Molina A.B. Estado de la Incidencia en Asia del marchitamiento por Raza Tropical 4 de *Fusarium* en el cultivo del banano. Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza Tropical 4 de *Fusarium*, BBTV y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, America Latina y el Caribe. San Salvador, El Salvador 29 al 31 julio de 2009.
- Ploetz, R. C., and Pegg, K. G. Fusarium wilt. Pages 143-159 in: Diseases of Banana, Abacá and Enset. D. R. Jones, ed. CABI Publishing. Wallingford, UK. 2000.
- Ploetz, R.C. Panama Disease: An Old Nemesis Rears its Ugly Head. Part 1: The Beginnings of the Banana Export Trades. Feature history. *APS Net*. August 2005
- Ploetz, R.C. Panama Disease: An Old Nemesis Rears its Ugly Head. Part 2: The Cavendish Era and Beyond Feature history. *APS Net*. October 2005
- Ploetz, R.C. Assessing threats that are posed by destructive banana pathogens. In: Abstracts of papers of the ISHS/PROMUSA SYMPOSIUM: Recent advances in banana crop protection for sustainable production and improved livelihoods. White River South Africa. Sept. 10-14. 2007.
- Pérez, L. 2004. Fusarium wilt (Panama disease) of bananas: an updating review of the current knowledge on the disease and its causal agent. Memorias XV ACORBAT, Oaxaca, México. Oct 2004. Pp 1-14.
- Pérez-Vicente, L., Batlle Viera, A., Chacón Benazet, J. y Montenegro, V. Eficacia de *Trichoderma harzianum* A34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* agente causal de la marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá de los bananos en Cuba. *Fitosanidad* 13 (4): 259-264. 2009

Puhalla, J.E., 1985. Classification of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63, 179-183

Stover, R.H. Fusarial wilt (Panama disease) on banana and other *Musa* species. *Phytopathological Paper* 4. CMI. CAB. England. Pp 117. 1962.