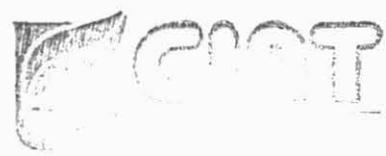


SB  
608  
P53  
C8

# Curso sobre Manejo Integrado de la Enfermedad del Moko en Plátano



UNIDAD DE FORMACION Y DOCUMENTACION

14 JUN 2003

9 al 13 de Junio 2003

220951



Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural



## **CURSO TALLER**

# **MANEJO INTEGRADO DE LA ENFERMEDAD DEL MOKO EN PLATANO**

## **FITOPATOLOGÍA DE YUCA**

**Compilado y Editado por:**

**Lina María Tabares  
John Loke  
Zulma Zamora  
Germán Llano**

**Centro Internacional de Agricultura Tropical  
CIAT**

**Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural**

**ICA - Armenia**

**Junio 9-13, 2003**

## TABLA DE CONTENIDO

IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL PLATANO EN COLOMBIA.....	2
INTRODUCCIÓN GENERAL SOBRE LA ENFERMEDAD DEL MOKO EN PLÁTANO ...	3
CONSERVACIÓN <i>IN VITRO</i> Y LA MICROPROPAGACIÓN COMO UNA HERRAMIENTA PARA LA LIMPIEZA DE MATERIAL VEGETAL .....	6
MEJORAMIENTO Y ECOFISIOLOGÍA DEL CULTIVO DEL PLÁTANO ( <i>Musa</i> AAB Simmonds) .....	10
AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN, CONSERVACIÓN Y CARACTERIZACION DE <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	25
TOMA DE MUESTRAS VEGETALES Y DE SUELO PARA AISLAMIENTO DE <i>Ralstonia</i> <i>solanacearum</i> EN PLATANO .....	26
PRÁCTICA: AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE <i>Ralstonia</i> <i>solanacearum</i> .....	27
DIVERSIDAD GENÉTICA DE <i>Ralstonia solanacearum</i> , AGENTE CAUSAL DEL MOKO EN PLÁTANO Y SU CONTROL .....	31
DETECCION MOLECULAR DE <i>Ralstonia solanacearum</i> MEDIANTE PCR .....	36
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>Ralstonia solanacearum</i> MEDIANTE AFLP Y MICROSATELITES. ....	41
DETECCIÓN SENCILLA Y RÁPIDA DE <i>Ralstonia solanacearum</i> , AGENTE CAUSAL DEL MOKO DE PLÁTANO .....	46
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE ALTERNATIVAS LIMPIAS DE MANEJO INTEGRADO DEL MOKO DE PLÁTANO EN COLOMBIA.....	49

## **CURSO TALLER**

### **MANEJO INTEGRADO DE LA ENFERMEDAD DEL MOKO EN PLATANO**

**Director del curso:**

Elizabeth Alvarez C. Fitopatóloga Ph.D.

**Investigadores Participantes:**

John Loke, Ing. Agrónomo  
Germán Llano, Ing. Agrónomo  
Juan Fernando Mejia, Ing. Agrónomo  
Lina Maria Tabares, Bacterióloga  
Paula Ximena Hurtado, Microbióloga  
Tatiana Espitia, Microbióloga

**Conferencistas:**

Elizabeth Alvarez, Fitopatóloga Ph.D.  
Silverio González, Ing. Agrónomo  
José Ever Vargas, Fitomejorador Ph.D.  
Graciela Mafla, Bióloga  
Jorge Alberto Valencia, Ing. Agrónomo  
Roosevelt Escobar, Lic. Biología y Química  
Gerardo Cayón, Ph.D.  
Rosy Santacruz, Asistente Técnico

## **IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL PLÁTANO EN COLOMBIA**

**SILVERIO GONZALEZ**

**Director Ejecutivo Special. La Tebaida-Quindío**

El cultivo del plátano en Colombia ha sido de mucha importancia social y en la última década presenta un auge no solo social sino económico, ocupando el quinto lugar en importancia agrícola, después del café, la caña de azúcar, la papa y las flores, y el segundo lugar dentro de la canasta familiar participando con el 7.5% del total de la producción agrícola del país.

En la actualidad se calcula que Colombia tiene alrededor de 381.000 Ha sembradas en plátano, con una producción estimada de 2.9 millones de toneladas, de las cuales el 95% se destinan al mercado interno y solo el 5% a la exportación, existiendo un déficit de 300.000 toneladas al año, principalmente en los meses de agosto, septiembre y octubre.

Los principales centros productores se encuentran en la zona cafetera de la región andina donde se cultivan 234.000 Ha (61% del área cultivada en el país) y aporta el 59%, otras regiones de importancia son la orinoquía, la región pacífica, el caribe y la amazonía.

El cultivo de plátano genera cerca de 286.000 empleos permanentes, es decir 57.000 familias y genera alrededor de 430.000 empleos indirectos (transporte, plazas, galerías, supermercados, empresas de insumos, comercializadoras, etc.), aportando 54.5 millones de dólares al producto interno bruto.

El consumo de plátano se calcula en 73.3 kl/persona/año, se cree que ha descendido a 61.9 kl/persona/año, sin embargo el plátano procesado aumento en 0.03 kl/persona/año debido al cambio de costumbres alimenticias.

Este año en las ciudades de Cali y Bogotá ha aumentado el consumo per cápita por la situación económica y el costo de otros productos de la canasta familiar como son la papa, la yuca entre otros.

220952

## **INTRODUCCIÓN GENERAL SOBRE LA ENFERMEDAD EL MOKO EN PLÁTANO**

**DR. JOSÉ EVER VARGAS**  
**Coordinador Seccional ICA- Armenia**

El moko es una enfermedad producida por la bacteria *Ralstonia solanacearum* Raza 2. En nuestro medio ataca el plátano, banano, heliconias y platanillos, pero además se encuentra en forma asintomática en muchas otras especies, especialmente hierbas de hoja ancha, especies solánaceas silvestres y cultivadas, algunas de las cuales aparentemente también pueden adquirir la enfermedad.

Tratándose de una bacteria, existen muchos medios de transmisión. La experiencia ha demostrado que el agua, a través de la escorrentía, ríos y quebradas, así como el transporte indiscriminado de semilla, son las principales vías de transmisión hacia áreas y fincas libres; mientras que el corte con herramientas infectadas, las botas con suelo proveniente de sitios enfermos y los insectos y probablemente los pájaros, son los medios por los cuales la enfermedad se disemina más dentro de los predios que ya la han adquirido. El hombre, cuando se desplazan corteros con herramientas o calzado infectado, también es un medio importante de difusión del problema.

En Colombia, el moko fue detectado primeramente en el Tolima, en 1954, y en el Quindío, en 1971. El registro actual indica que hay 164 fincas en las que se ha hallado moko en el Quindío, con un área enferma total de 100 hectáreas. Esta área es relativamente baja debido al programa continuo de control que ha mantenido el ICA desde 1974, y que ha sido fortalecido e intensificado desde 1997. Si no se llevara a cabo dicho programa de control, teniendo en cuenta la velocidad de difusión investigada por Gálvez y Lozano en 1958, la enfermedad podría invadir toda el área platanera comercial del Quindío en un lapso de 3 a 5 años.

Sobre la situación en el país no se conocen datos, excepto en la zona bananera de Urabá, en la que se estiman unas 340 ha con moko. No obstante, la enfermedad

se ha difundido a lo largo de los principales ríos en departamentos como Tolima y Valle del Cauca, Huila, Caqueta, Amazonas, Putumayo, y en la Zona del Caribe.

Uno de los principales problemas del moko, es que toda planta infectada se

pierde, y todo sitio con una planta enferma, queda inutilizado para producir plátano, banano, heliconias, platanillos y especies solanáceas, hasta cuando se haga un tratamiento efectivo para erradicar la bacteria del suelo. Para tener una idea de las pérdidas económicas, en el ICA Quindío se utiliza un ejercicio que consiste en estimar la producción que se pierde por año en un área enferma determinada ; esto es :  $1.250 \text{ sitios/ha} \times 1,1 \text{ racimos/sitio} \times 15\text{kg/racimox}/300/\text{kg} \times 100 \text{ ha enfermas} = \$618.750.000$  de pérdida por año, en el departamento

El programa de control que se lleva en el Quindío, producto de la investigación del antiguo ICA, y de algunas otras observaciones, se basa en los puntos siguientes :

1. Incremento de la cultura sanitaria, dirigido a productores, comerciantes, transportadores, instituciones, etc.
2. Involucrar a los agricultores afectados como primeros responsables del control en sus predios.
3. Regulación del movimiento de semilla (Resolución 23 de 1997, y 11 de 2000 del ICA Quindío) y campaña para el establecimiento de viveros de producción de semilla limpia.
4. Difusión de programa de prevención : Dejar un área de seguridad sin sembrar musácea, a lo largo de ríos y quebradas, así como de linderos con fincas enfermas ; sembrar semilla certificada ; proveer herramientas, botas y overoles a corteros y trabajadores ocasionales que lleguen ; establecer focos o almodillas de desinfección para visitantes ; tratamiento de aguas para fumigación, desbellote temprano y cualquier otra práctica que se considere útil para prevenir la enfermedad.
5. Tratamiento de focos : aislamiento de focos, eliminación de plantas enfermas y las aparentemente sanas que se encuentran alrededor de ésta, embolsado de racimos enfermos, eliminación de bellotas al término de la floración, control absoluto de malezas, hechura de zanjas en terrenos pendientes, desinfección de herramientas con productos yodados, hipoclorito de sodio u otro bactericida

Como resultado efectivo de las nuevas investigaciones que con la cooperación del ICA y la Federación de plataneros se están adelantando en el CIAT, se espera

poder afinar esta metodología, y encontrar nuevas prácticas que hagan más efectivo el programa de control y la recuperación de sitios enfermos, en un plazo más corto.

Información adicional :

Vargas Sánchez, José Ever. 2001. Consideraciones sobre el Moko del Plátano y Banano (*Ralstonia solanacearum*) en Colombia. En Epidemiología Agrícola. ICA. Boletín 2001.

Vargas Sánchez, José Ever 2001. El moko del plátano y su manejo institucional por parte del ICA Quindío, Memorias Seminario Taller Manejo Integrado de Sigatokas, Moko y Picudo Negro del Plátano en el Eje Cafetero. Sena, Comité Cafeteros, Umata Quindío y N. del Valle, Corpoica, 2001.

Buitrago Gallego, Edgar. Impacto socio - económico de la enfermedad del moko en plantaciones de plátano y banano raza 2 (*Ralstonia solanacearum*) en seis municipios del departamento del Quindío, julio 1998 - Diciembre 2000. En memorias Seminario Taller Manejo Integrado de Sigatokas, Moko y Picudo Negro del Plátano en el Eje Cafetero. Sena, Comité Cafeteros, Umata, Corpoica, 2001.

J.E. Vargas Sánchez, Edgar Buitrago Gallego y Luis Ariel Vargas Sánchez. El Moko del Plátano y Banano. Una amenaza que se cierne sobre su finca. Plegable de Divulgación ICA, 2003.

## CONSERVACIÓN *IN VITRO* Y LA MICROPROPAGACIÓN COMO UNA HERRAMIENTA PARA LA LIMPIEZA DE MATERIAL VEGETAL

**GRACIELA MAFLA**  
**Profesional Especialista Bióloga - CIAT**

La conservación de Recursos Genéticos juega un papel importante en los programas de mejoramiento, pues son estos los más interesados en mantener un acceso permanente a la mayor variabilidad genética de un cultivo y de aquellas especies silvestres relacionadas con él.

Dependiendo de las características genéticas y reproductivas de cada especie, la conservación *ex-situ* puede consistir en una o varias de las siguientes modalidades complementarias: plantaciones en el campo, colecciones en invernaderos, colecciones de semilla y/o polen a baja temperatura, colecciones *in vitro* de órganos y tejidos vegetativos y/o reproductivos y la crioconservación (a temperatura ultrabaja

Muchas especies pueden ser almacenadas en forma de semillas (especies anuales y autógamias) a bajas temperaturas y humedad relativas reducidas, pero, algunos cultivos de importancia económica debido a problemas genéticos, fisiológicos y patológicos tales como la infertilidad, viabilidad muy corta, una segregación genética alta, y deterioración rápida por microorganismos hacen inapropiado esta forma de conservación.

Estos problemas pueden ser reducidos o eliminados por medio de algunas técnicas biotecnológicas. Los métodos de cultivo de tejidos ofrecen vías para la conservación de germoplasma de especies que son propagadas vegetativamente, permitiendo mantener las colecciones en pequeños espacios, libres del ataque de plagas y enfermedades.

En la conservación *in vitro*, se busca una disminución de la tasa de crecimiento del tejido, sea mediante modificaciones en la composición del medio de cultivo, reduciendo la temperatura, por modificación de la concentración de gases, o por medio de la desecación (Withers, 1980).

El uso de la metodología *in vitro* para la conservación de germoplasma comprende las siguiente etapas generales:

1. Excisión del tejido u órgano de la planta madre.
2. Establecimiento del cultivo.
3. Conservación mediante un método adecuado.
4. Recuperación del tejido viable de la fase de conservación.
5. Monitoreo de la viabilidad y la estabilidad.

## 6. Documentación y sistematización del banco.

El tejido empleado para la conservación *in vitro* debe permitir el establecimiento y regeneración de plantas en un amplio rango de genotipos. Además la estabilidad genética debe ser alta. Los meristemas apicales y axilares del tallo son los tejidos que con mayor seguridad mantienen esas características. Por lo tanto, son los tejidos preferidos para la conservación *in vitro* de germoplasma.

Dos tipos de bancos de germoplasma *in vitro* han sido propuestos (Withers and Williams, 1985):

1. Banco genético *in vitro* activo (IVAG en inglés) donde los cultivos son mantenidos en condiciones de crecimiento limitado y
2. Banco genético *in vitro* básico (IVBG en inglés) donde los cultivos son crioconservados.

El IVAG se está desarrollando en alto grado para la yuca, papa, batata, banano, caña de azúcar, café, ajo y constituyen una colección de trabajo (Roca et al., 1989). El IVBG constituye una colección básica, a largo plazo; este tipo de bancos permiten el mantenimiento máximo de la estabilidad genotípica del germoplasma. Todavía no existe una colección completa de germoplasma en crioconservación. Avances básicos logrados recientemente con la yuca prometen su establecimiento en el futuro inmediato.

La Unidad de Recursos Genéticos (URG) del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) conserva y distribuye germoplasma *in vitro* del género *Manihot*. Regulaciones cuarentenarias para *Manihot* han sido aplicadas desde 1980 cuando se estipuló que solamente plantas *in vitro* podrían ser utilizadas para el intercambio a través de todo el mundo y guías técnicas para el movimiento seguro de germoplasma fueron desarrolladas (Frison & Feliu 1991). Las técnicas *in vitro* han sido utilizadas con un doble propósito: 1) para introducir al CIAT un gran número de clones colectados en los principales centros de variabilidad y para conservarlos *in vitro* y 2) para distribuir germoplasma seleccionado desde el CIAT a los programas nacionales. Esta colección se encuentra representada por 5,728 introducciones y está constituida por 3 categorías: 5,022 clones de yuca cultivada (*Manihot esculenta*) procedentes de 23 países, 322 clones de las especies silvestres del género *Manihot* (29 especies) y 384 híbridos. Desde 1994 estos materiales han sido designadas a la FAO dentro del marco del acuerdo FAO-CGIAR y cumple con los estándares para bancos de germoplasma.

Protocolos de introducción, cuarentena, eliminación de patógenos, indexación, micropropagación, conservación, caracterización y distribución han sido desarrollados para el mejor manejo de la colección teniendo como objetivo

principal la utilización de éste germoplasma de parte de los diferentes usuarios que la solicitan.

Cultivos esteriles en medio artificial han sido establecidos a partir de plantas madres libres de enfermedades producidas por medio de la técnica de termoterapia y cultivo de meristemas e indizadas para los diferentes virus conocidos para la yuca (Roca et al 1991).

Las condiciones de crecimiento mínimo en la cual 5,728 clones son mantenidos por un periodo de 12 meses cubriendo un amplio rango de genotipos, son las siguientes:

Temperatura constante 23-25 °C

12 horas día/noche con 1000 lux de iluminación

Medio de Murashige Skoog modificado (MS, 2% sucrose, 0.04 mg/l BAP, 0.05 mg/l GA, 0.02 mg/l NAA, 0.7% agar ).

Tubos de ensayo 25x150 mm cubiertos con papel aluminio y sellados con cinta extensible.

5 tubos son mantenidos por cada clon .

## Referencias

Frison, E.A. and Feliu, E. 1991. FAO/IBPGR technical guidelines for the safe movement of cassava germplasm. Food and Agriculture Organization of the United Nations- FAO- and International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.

Roca, W.M., Rodríguez, J.A., Mafla, G., and Roa, J.C. 1984. Procedures for recovering cassava clones distributed *in vitro*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 8 p.

Roca, W.M., Chavez, R., Marin, M.L., Arias, D.I., Mafla, G., Reyes, R. 1989. In vitro methods of germplasm conservation. Vol 31. Number 2. Genome. pag 813-817.

Roca, W.M., Nolt, B., Mafla, G., Roa, J.C., Reyes, R. 1991. Eliminación de virus y propagación de clones en la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) In: ' Roca, W.M., Mroginski, L.A., Fundamentos y Aplicaciones'. pp 403-421.

Withers, L. 1980. Tissue culture for genetic conservation. IBPGR Report, Rome.91p.

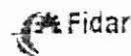
Withers, L.A., and Williams, J.T. 1985. *In vitro* conservation research highlights, international board for plant genetic resources, Rome, Italy.

# Desarrollo participativo de un sistema de propagación *in vitro*, a bajo costo para yuca



R. H. Escobar<sup>1</sup>, C.M. Hernández<sup>2</sup>, J.M. Restrepo<sup>3</sup>, G.I. Ospina<sup>3</sup>, J. Tohme<sup>1</sup> y W.M. Roca<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>CIAT, A.A. 6713 Cali; <sup>2</sup>Comunidad de agricultores del Norte del Cauca; <sup>3</sup>FIDAR, A.A. 25687 Cali; <sup>4</sup>Centro Internacional de la Papa -CIP, A.A. 1558, Lima 12, Perú.



## Introducción

Los agricultores del departamento del Cauca (Colombia) tienen una limitante para la producción sostenible de yuca debido principalmente a la falta de material abundante y fitosanitariamente sano para la siembra. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar e implementar con los agricultores una técnica *in vitro*, simple, eficiente y a bajo costo para la propagación de plantas de yuca de importancia local. El grupo de trabajo incluyó agricultores, un Centro de Investigación Internacional (CIAT) y una ONG (FIDAR), con el apoyo económico del PRGA y el CBN.

## Metodología

- Diseño de un plan de trabajo concertado con agricultores, técnicos e investigadores.
- Integración de un representante de la comunidad campesina en el grupo de investigación del CIAT, para el desarrollo de la metodología de propagación *in vitro*, a bajo costo.
- Establecimiento de un sitio piloto de experimentación en CIAT para el ajuste de la metodología.
- Establecimiento de un sitio piloto de experimentación en la vereda de Santa Ana (Cauca) para la capacitación de mujeres de la zona por el representante de la comunidad, y con la retroalimentación respectiva para el resto del grupo.
- Las estrategias de trabajo incluyeron: desarrollo organizacional, auto-diagnóstico, concertación del plan de trabajo, toma de decisiones y datos, monitoreo, evaluación y retroalimentación.
- La variedad Algodona (MCOL 1522), fué usada para el desarrollo del trabajo porque es preferida por los agricultores.

## Resultados

- Capacitación
- Un agricultor representante de la comunidad, capacitado en CIAT en el diseño, manejo y producción de material *in vitro* de yuca.
- Un grupo de 11 mujeres entrenadas por dicho representante en el laboratorio piloto en la vereda Santa Ana.
- Otros grupos de la zona que acompañaron el proceso.



Figura 1 (Izquierda) Representante de la comunidad impartiendo capacitación al grupo. (Derecha) Reunión con la trabajadora social para discusión del proyecto, talleres de autoestima y solución de conflictos (Santa Ana)

### Equipos e insumos de bajo costo

- Equipos convencionales de laboratorio (pH-metro, balanza, pipetas, autoclaves entre otros) fueron reemplazados por alternativas de bajo costo (cucharas, papel indicador, jeringas, entre otros).
- Un laboratorio rural funcional 6.4 veces más económico que una instalación convencional.
- Reducción en el costo de algunos equipos, 90% en el caso de la cámara de cultivo *in vitro* (el equipo de mayor valor en el proceso).

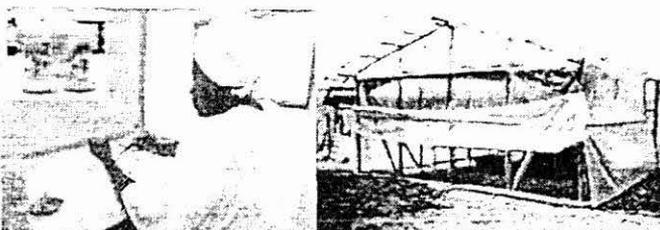


Figura 2. (Izquierda) Mujer campesina realizando labores de propagación *in vitro* en el laboratorio rural. (Derecha) Cuarto de crecimiento *in vitro* en Santa Ana.

### Alternativas de medio de cultivo

- Insumos locales de fácil consecución son utilizados para la preparación del medio de cultivo. Por ejemplo, sacarosa, macro- y micro-nutrientes, e inductores de raíz que normalmente son utilizados en laboratorios de investigación, fueron reemplazados por azúcar de mesa, fertilizantes, y enraizadores comerciales.
- La suplementación con jugos de frutas (piña, banano o coco), y complejos vitamínicos mejoraron la tasa de propagación.
- Se escogieron como alternativas para los reguladores hormonales Hormonagro<sup>®</sup> como fuente de ANA y Proglbb<sup>®</sup> como fuente de GA<sub>3</sub>.

### Tipos de participación en el proceso

- El representante de la comunidad participó en el diseño y construcción del laboratorio piloto rural, y en la selección de los insumos.
- El grupo de mujeres capacitadas, conjuntamente con el representante de la comunidad, adaptaron la experiencia a sus condiciones locales (consultivo).
- Los aspectos técnicos del manejo y de la producción en el laboratorio piloto se definieron entre todos los participantes (colaborativo).

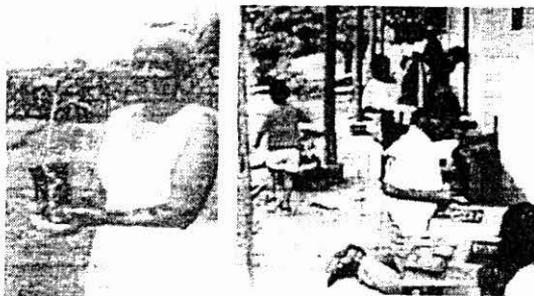


Figura 3 Diferentes participantes del proceso. Detalle del material generado a bajo costo antes de su trasplante a campo. Niños participando de actividades lúdicas cuando sus madres están trabajando en el laboratorio.

### Análisis de género

- Los hombres consideran este tipo de trabajo muy delicado, por lo cual ellos sugieren que lo desarrollen las mujeres.
- Las actividades de capacitación y propagación se hicieron en las horas de la tarde, para respetar las otras ocupaciones del grupo.
- Las mujeres participaron activamente y se identificaron como líderes en el mejoramiento de las condiciones de trabajo de la zona y la calidad de vida de su grupo familiar.
- La autoestima de las participantes se fortaleció mediante un trabajo de identificación y satisfacción de sus necesidades.



Figura 4 Mujeres campesinas sembrando en el campo el material producido *in vitro* para compararlo con el generado mediante estacas convencionales (Perca Negro, Santander)

### Monitoreo

- Se implementó un sistema de prueba y error.
- Se está desarrollando un manual de procedimientos para el manejo del laboratorio, que sirva para apoyar la difusión de la experiencia hacia otras comunidades.
- Las diferentes actividades han sido consignadas sistemáticamente como memorias del grupo.

## Conclusiones

- La participación de hombres y mujeres en la validación y adaptación de la experiencia fué un factor determinante para la orientación de proyectos futuros, teniendo en cuenta las necesidades y perspectivas personales, familiares y de la comunidad.
- Fué necesario incluir actividades complementarias que apoyaran al grupo durante el desarrollo del proyecto, para generar un ambiente de diálogo, tolerancia y discusión de las dificultades del proceso.
- Se consolidó un grupo multidisciplinario. Actualmente se está implementando una difusión de las experiencias a otras regiones de Colombia.
- Se estableció un laboratorio piloto rural manejado por agricultores, con capacidad de producción de material para siembra en la zona.
- Se estableció un esquema combinado de propagación *in vitro* y propagación rápida en campo, que permita reducir el costo por unidad de siembra.

220954

**MEJORAMIENTO Y ECOFISIOLOGÍA**  
**DR. GERARDO CAYÓN\*** *Gutiérrez*

*Musca*

**ECOFISIOLOGÍA DEL CULTIVO DEL PLÁTANO (*Musa* AAB Simmonds)**

## **1. INTRODUCCIÓN**

La producción de los cultivos está controlada por la interacción entre el potencial genético de las plantas y las condiciones ecológicas en las que ellas crecen. Las variaciones del genotipo, del ambiente, y de las prácticas culturales actúan a través de los procesos fisiológicos para controlar el crecimiento. Estos procesos complejos constituyen la maquinaria por medio de la cual el genotipo y el ambiente influyen sobre la producción y calidad de las cosechas. Las plantas silvestres del género *Musa* crecen en los claros y límites de los bosques y en los bordes de las galerías boscosas, en condiciones de semipenumbra y nunca en comunidades densas o a plena exposición solar (Champion 1975). El hombre, al cultivar las musáceas en sistemas densos para obtener rendimientos elevados, ha colocado las plantas en condiciones diferentes a su ambiente natural, sin considerar las consecuencias sobre la especie y el ecosistema.

## **2. TEMPERATURA**

En Colombia el plátano se siembra en zonas ecológicas con temperaturas medias entre 14°C y 38°C. En los pisos térmicos medio y cálido, los lugares con temperaturas que varían entre 18° C y 38° C son considerados aptos para la siembra de los cinco clones de plátano más conocidos (Belalcázar *et al.* 1991), siempre y cuando las temperaturas mínimas medias no sean inferiores a 15°C y las mínimas absolutas no estén por debajo de 8°C. El plátano no debe sembrarse en zonas expuestas a temperaturas menores de 4°C porque se afectan irreversiblemente los procesos metabólicos al modificarse la actividad enzimática celular. A temperaturas bajas la actividad metabólica es muy lenta, retardándose la emisión foliar y la división celular en el meristemo de crecimiento, lo cual reduce el desarrollo y el rendimiento anual, a pesar de que la calidad y el tamaño del fruto no se afectan.

---

\* Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia  
Sede Bogotá. Apartado aéreo 14490, Bogotá.  
[dgcayons@bacata.usc.unal.edu.co](mailto:dgcayons@bacata.usc.unal.edu.co)

A medida que la temperatura disminuye, el crecimiento vegetativo se hace más lento, retardándose la frecuencia de producción de hojas, el ritmo de brotación de colinos y el desarrollo de los racimos. Las temperaturas bajas causan la producción de hojas lanceoladas, y racimos y frutos con formas anormales

(Simmonds 1973). Las hojas expandidas pueden desarrollar síntomas similares a los de la deficiencia de agua y luz, perdiendo la turgencia, se tornan cloróticas y mueren posteriormente (Shmueli 1960). El látex del plátano se coagula en el pericarpio de los frutos a temperaturas inferiores a 12° C, impartiendo una coloración marrón a la subepidermis, fenómeno que retarda la evolución normal de los frutos, perjudicando la maduración y, por lo tanto, la calidad del producto cosechado (Slocum 1933, Puvis 1945). Los límites de la altura sobre el nivel del mar en que es posible establecer plantaciones comerciales de plátano dependen de la tolerancia y respuesta de los clones comestibles a temperaturas bajas.

### **3. ALTITUD**

El plátano es una especie esencialmente del trópico húmedo y se puede cultivar en todas aquellas zonas agroecológicas localizadas entre 30° de latitud norte y 30° de latitud sur, que reúnan las condiciones de clima y suelo favorables para su crecimiento, desarrollo y producción. Fuera de esta zona existen plantaciones en Israel y Egipto (Hemisferio Norte) y Australia y Nueva Gales del Sur en el Hemisferio Sur (Simmonds 1973). La altitud a la cual puede sembrarse plátano exitosamente depende de la temperatura de los lugares. El límite de altitud puede ser 2.000 m.s.n.m. en lugares en que la temperatura media no sea inferior a 18°C, la mínima media superior a 15°C y la mínima absoluta superior a 8°C. Pero si se consideran los factores relativos a la producción y calidad de la cosecha, estos aspectos podrían estratificar o zonificar indirectamente su siembra, por el simple hecho de que los rendimientos se reducen con el incremento de la altitud sobre el nivel del mar, a la vez que el ciclo vegetativo se prolonga. Un ejemplo lo constituye el clon Dominicó, cuyo peso promedio por racimo se reduce de 35 kg a 10 kg con el aumento de la altitud de siembra de 20 m.s.n.m a 1.990 m.s.n.m., mientras que el ciclo vegetativo se incrementa de 10 a 24 meses. El fenotipo de la planta también registra alteraciones, así como la apariencia del racimo, que de una forma cilíndrica y con manos compactas a nivel del mar, pasa a una forma de cono truncado con manos más distanciadas entre sí y separadas del raquis.

Las consideraciones anteriores permiten establecer que, desde un punto de vista económico y comercial, todos los clones comestibles de plátano, se pueden sembrar y explotar desde el nivel del mar hasta 1.350 m.s.n.m., exceptuando el Hartón cuyo límite de elevación es de 800 m.s.n.m. No obstante, como cultivo

de subsistencia, el plátano puede sembrarse en regiones localizadas hasta los 2.000 m.s.n.m. (Belalcázar *et al.* 1991). La altitud influye sobre la duración del período vegetativo dependiendo del clon cultivado. El Hartón sembrado en la zona bananera de Santa Marta (20 m.s.n.m.) tiene un ciclo de 327 días, en el Caquetá (320 m.s.n.m) de 361 días y en Palmira (1.001 m.s.n.m) de 418 días. En términos generales, el período vegetativo de este clon se prolonga aproximadamente 10 días por cada 100 metros de altitud.

#### 4. RADIACIÓN SOLAR

El plátano se cultiva en condiciones muy variadas de radiación solar, desde regiones de gran nubosidad ( $184 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) hasta otras de alta irradiancia promedio ( $1.500 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ). La falta de luz no interrumpe la emisión y desarrollo de las hojas, pero los limbos quedan blanquecinos debido a la ausencia de síntesis de clorofila y las vainas foliares y losseudotallos se alargan demasiado (Skutch 1931). Las plantas de plátano expuestas a radiación solar insuficiente crecieron 70 cm más, en promedio, comparadas con aquellas expuestas a radiación más intensa, y tuvieron un período vegetativo más prolongado, retrasándose la floración tres meses, sin afectar significativamente los rendimientos (Champion 1975). La insolación también influye directamente sobre el proceso de maduración y composición química de los frutos de plátano. En los meses de menor radiación solar, los racimos alcanzan menor peso que aquellos desarrollados durante los meses del año en los cuales se recibe una cantidad de luz adecuada. En general, la variación en la duración del día no ejerce una influencia importante sobre el desarrollo del cultivo. Durante la época de verano, la insolación excesiva causa quemaduras en la curvatura del raquis del racimo, pero muy rara vez en las hojas, y los frutos más expuestos al sol se decoloran adquiriendo un tono amarillo pálido que luego pueden llegar a necrosarse (Champion 1975).

En cultivos permanentes como el plátano, la fotosíntesis se lleva a cabo en estratos acumulados de hojas que se sobreponen sombreándose unas a otras; de esta manera, la RFA incidente es absorbida a medida que atraviesa las capas de hojas aprovechándose la mayor parte de ella, mientras que las hojas inferiores, por recibir menos radiación solar, presentan tasas de fotosíntesis más bajas que las hojas superiores. Esto se debe a que, en los cultivos sembrados en surcos, el grado de absorción de la RFA incidente depende de las distancias entre surcos y plantas y del arreglo de siembra. En los cultivos más densos es mayor la captación de RFA a través del dosel foliar de la comunidad de plantas; sin embargo, esta mayor captación de la luz incidente por parte de las hojas de un cultivo de plátano denso, disminuye la cantidad de radiación en la base de las plantas, impidiendo la brotación y el desarrollo normal de los colinos, lo cual es perjudicial desde el punto de vista de producción de material vegetativo para la siembra (Tabla 1). La concentración de clorofila es mayor en las hojas

de las plantas sembradas a mayores densidades, lo cual concuerda con las características morfofisiológicas de las hojas desarrolladas bajo sombra (Cayón *et al.* 1995).

**Tabla 1. Captación de luz y concentración de clorofila en hojas de Dominico-Hartón en tres densidades de siembra (Cayón *et al.* 1995).**

Densidad (plantas ha <sup>-1</sup> )	Emisión foliar *	Hojas funcionales	Colinos planta <sup>-1</sup>	RFA captada (%)	Clorofila total (mg g peso seco <sup>-1</sup> )
1.666	17	15	5	58,0	7,16
	36	17	8	85,8	8,45
3.333	17	14	2	75,5	9,38
	33	17	5	93,8	10,32
4.998	15	14	1	74,3	9,12
	29	17	3	95,0	11,49

\* Hojas emitidas a partir de siembra

## 5. HUMEDAD RELATIVA

Estudios realizados por Cayón-G. *et al.* (1998), bajo condiciones controladas, para evaluar los efectos del estrés hídrico y la humedad relativa, mostraron que las tasas de intercambio gaseoso de las hojas de plátano Dominico-Hartón tienen una gran correlación con el déficit hídrico en el suelo y con la humedad relativa del ambiente (Tabla 2). En las plantas sometidas a estrés hídrico, las tasas de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática decrecieron como respuesta al déficit de agua. La tasa de fotosíntesis fue mayor en presencia de humedad relativa media, presentando una reducción aproximada de 50% cuando ésta aumentó o disminuyó; la transpiración y la conductancia fueron altas con humedad relativa baja, disminuyendo paulatinamente a medida que la humedad del aire aumentó. Este comportamiento, según Robinson (1984), se encuentra muy relacionado con las respuestas de la planta a los cambios de la temperatura foliar, ocasionados por diferentes niveles de humedad relativa del aire, presentándose disminuciones hasta del 45% cuando la humedad del aire es muy alta. La apertura estomática, en las dos superficies foliares, se redujo drásticamente en las plantas sometidas al estrés hídrico. La tendencia de las plantas de plátano a reducir la transpiración bajo condiciones de estrés hídrico, puede ser el indicio de un mecanismo de resistencia a la sequía, asociado a otros que la planta posee, para economizar agua, ya que ésta especie presenta una gran superficie transpirante (Tai 1977, Robinson y Bower 1988).

Tabla 2. Tasas de intercambio gaseoso en hojas del clon Dominico-Hartón bajo estrés hídrico y tres niveles de humedad relativa (Cayón-G. *et al.* 1998).

	Sin estrés	Con estrés	Humedad Relativa		
			Baja (<53%)	Media (54-61%)	Alta (>62%)
Fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	30,61	15,81	19,86	34,98	14,80
Conductancia ( $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0,16	0,11	0,18	0,15	0,08
Transpiración ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	3,59	3,00	4,59	3,48	1,80

## 6. Viento

En todas las regiones productoras, uno de los daños más comunes y generalizado es el rasgado de las láminas foliares y el desgarre o arranque de sectores del limbo por vientos fuertes con velocidades superiores a  $50 \text{ km.h}^{-1}$ . Los daños ocasionados por vientos de intensidad media ( $20\text{-}50 \text{ km h}^{-1}$ ) se pueden considerar como parciales, incidiendo directamente en el peso y calidad de los racimos que para su llenado requieren que la planta tenga una superficie foliar activa entre  $7,0$  y  $8,0 \text{ m}^2$ . Las pérdidas catalogadas como totales, esto es, la pérdida de plantas por doblamiento o resquebrajamiento del seudotallo y desenraizamiento de la cepa, son ocasionadas por vientos de intensidad severa ( $> 50 \text{ km h}^{-1}$ ).

El rasgado de las hojas por acción del viento es un fenómeno de ocurrencia común en las musáceas que, si no implica desprendimiento y pérdida del área foliar activa, no representa un riesgo para el desempeño funcional y productivo de la planta. La supervivencia térmica durante la estación seca y el aumento de la productividad, cuando el agua del suelo es suficiente, parecen ser efectos benéficos del rasgado de las hojas. De hecho, el rasgado de los semilimbos del banano es considerado un factor para la reducción del daño térmico en las hojas (Taylor y Sexton 1972). Según Raschke (1956), en un ambiente expuesto a insolación, las hojas más pequeñas transpiran menos y están a menor temperatura que una hoja más grande. La fotosíntesis neta de las musáceas es afectada por la dimensión de la hoja y la resistencia a la difusión del vapor de agua (Taylor y Sexton 1972).

En un estudio realizado en la zona cafetera central de Colombia sobre el efecto del viento y el granizo sobre las plantas del clon Dominico-Hartón y del híbrido

FHIA 21 (Rose *et al.* 2001) se observó que el impacto del granizo y los vientos fuertes, en los primeros 15 días de desarrollo del fruto, afectó drásticamente el tamaño y calidad de los racimos de los dos materiales evaluados. El peso fresco de los frutos de Dominico-Hartón y FHIA-21 se redujo significativamente cuando el viento y el granizo golpearon la planta en el estado de emisión de la inflorescencia y a los 15 días después de la floración. Los frutos de Dominico-Hartón golpeados por el granizo a los 30-45 días de formados sufrieron menos daños físicos, pero se afectó su calidad general y, también, se observó un aumento significativo de los azúcares totales en la pulpa de los frutos de Dominico-Hartón afectados, pero no en los de FHIA-21. El impacto directo del granizo causó la aparición de áreas necrosadas en la cáscara que luego alcanzaron el interior de la pulpa, comprometiendo la calidad del fruto.

## 7. REQUERIMIENTOS HÍDRICOS

El plátano es muy sensible tanto al exceso como al déficit de agua en el suelo, por lo cual es necesario tomar medidas para regular los niveles de humedad durante el año. Los requerimientos hídricos para crecer normalmente son altos pero dependen del clon, de la irradiación diaria, de la densidad poblacional, de la edad del cultivo y del área foliar. Debido a que las musáceas tienen una área foliar extensa, consumen cantidades grandes de agua. Estudios adelantados en Brasil (Morello 1954), mostraron que la transpiración de plantas de banano, a exposición solar plena, es del orden de  $40-50 \text{ mg.dm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ , debido a que los estomas están completamente abiertos; sin embargo, las tasas de transpiración son más bajas en las hojas inferiores que se encuentran parcialmente sombreadas. Con base en los datos anteriores, y considerando que el clon Dominico-Hartón tiene un área foliar permanente por planta de  $14 \text{ m}^2$ , se estima un consumo diario de 26 litros de agua en días soleados, 17 litros en días seminublados y 10 litros en días completamente nublados. Un cultivo comercial con  $1500 \text{ plantas ha}^{-1}$  y un índice de área foliar = 2.1 ( $2.1 \text{ m}^2$  de área foliar por  $\text{m}^2$  de terreno) consume en un mes  $1170 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  de agua, en ambientes soleados y  $765 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  en condiciones de nubosidad intensa permanente. En la práctica, se requieren alrededor de 150 mm mensuales de precipitación ( $1500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) para satisfacer las necesidades hídricas del clon Dominico-Hartón. En zonas y épocas en que la precipitación o el agua almacenada en el suelo es inferior a  $5 \text{ mm día}^{-1}$ , es necesario aplicar riego suplementario. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el consumo de agua por las plantas de plátano es variable porque ni la radiación ni el área foliar permanecen constantes (Belalcázar *et al.* 1991).

En la Tabla 4 se presentan resultados de experimentos realizados en Palmira (Cayón 1991), los cuales muestran diferencias en las tasas de transpiración y fotosíntesis entre las hojas funcionales de una planta de Dominico-Hartón. Se observa que la actividad fotosintética y la tasa de transpiración son mayores en

las hojas 2, 3 y 4; la menor actividad de la hoja 1 se debe, posiblemente, a que no ha completado su capacidad funcional; las tasas bajas de fotosíntesis y transpiración que presentan las hojas 5 y 6 se deben a la condición de sombreado que le proporcionan las hojas superiores. En las hojas inferiores se reduce la eficiencia en el uso de agua, porque se reducen las tasas de fotosíntesis, mientras que la transpiración continúa a tasas normales, indicando que estas hojas han comenzado su proceso de senescencia.

Tabla 4. Tasas de transpiración y fotosíntesis en hojas funcionales de Dominico-Hartón durante el estado de floración (Cayón 1991).

Hoja	Transpiración* (mg H <sub>2</sub> O dm <sup>-2</sup> min <sup>-1</sup> )	Fotosíntesis* (mg CO <sub>2</sub> dm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> )	Eficiencia en el uso del agua**
1	32,76	12,43	0,006
2	51,48	21,70	0,007
3	49,68	23,61	0,008
4	46,80	23,61	0,008
5	33,84	13,56	0,007
6	37,26	18,25	0,008
7	43,33	17,53	0,007
8	51,48	19,24	0,006
9	44,64	16,32	0,006

\* Con exposición solar plena (>1500  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ )

\*\* mg CO<sub>2</sub> /mg H<sub>2</sub>O

El plátano es poco tolerante a las deficiencias de humedad. En las hojas, como respuesta al agotamiento del agua en el suelo, se aumenta la resistencia de los estomas al flujo de vapor de agua, reduciendo las tasas de transpiración. Otra respuesta al déficit hídrico es el doblamiento de la lámina foliar a lo largo de la nervadura central, poniendo en contacto las dos porciones del envés que son las que presentan las mayores tasas de transpiración (Champion 1975). El plátano absorbe fácilmente el 30% del agua disponible con mayor energía libre; después del agotamiento de esta porción, la absorción es más lenta, hasta el punto que al consumirse el 60%, la planta se encuentra en estado de predeseccación. El cierre de estomas disminuye la tasa de transpiración pero no la detiene, por lo cual el déficit hídrico es cada vez mayor hasta que el limbo se deseca irreversiblemente (Shmueli 1953). Según Champion (1975), la sequía causa reducción de la actividad fotosintética por provocar el cierre prematuro de los estomas durante el día. Por esta razón, el desarrollo general de la planta se retrasa, la emisión foliar es lenta, se reduce el tamaño de las hojas e inflorescencias y se secan rápidamente las hojas más antiguas, las cuales parecen no tolerar los déficits hídricos temporales. Si la sequía se prolonga, las hojas se secan una tras otra, las vainas foliares se marchitan y se produce ruptura delseudotallo. El cormo, por el contrario, es más resistente a las sequías prolongadas, conservando la

capacidad de emitir hojas cuando la disponibilidad de agua vuelve a ser favorable, aún mucho después de la desaparición del seudotallo. El déficit de agua puede causar algunas distorsiones en la morfología de la planta, restringiendo el crecimiento de los pecíolos los cuales quedan muy juntos en el interior del seudotallo, y al salir las hojas la planta adquiere un aspecto de abanico. Cuando esto ocurre en el período de prefloración, se dificulta la salida de la inflorescencia por tener esta que vencer la resistencia de los pecíolos compactados, originando anomalías como la torsión del eje sobre sí mismo o la emisión lateral de la inflorescencia en el seudotallo (Champion 1975).

## **8. SUELO**

El suelo influencia los cultivos a través de sus características físicas y del suministro oportuno y balanceado de los elementos minerales esenciales requeridos para el metabolismo, crecimiento y desarrollo de las plantas. El suelo, como recurso integral básico de todo ecosistema, debe cumplir, además de su función de soporte y espacio vital de las plantas, determinados requisitos de carácter físico-químico indispensables para éstas. No obstante que el plátano se adapta a una variedad amplia de suelos, esto no significa que todos los suelos sean aptos para su desarrollo equilibrado. Para el crecimiento y desarrollo normal de la planta de plátano, al igual que para otras especies cultivadas, se necesita que el suelo tenga disponibles, en cantidades óptimas y balanceadas, ciertos elementos nutritivos; los que no se presenten naturalmente, se deben suministrar a la planta a partir de fuentes alternativas químicas y orgánicas. Los síntomas de deficiencia de elementos en plátano han sido descritos con base en observaciones de campo y estudios experimentales, lo cual ha permitido prevenir los desórdenes fisiológicos derivados de la carencia de un elemento mediante la siembra del cultivo en suelos óptimos o corrigiendo dicha carencia con una fertilización oportuna y adecuada cuando el plátano responde a ella.

## **9. TASAS DE FOTOSÍNTESIS Y PRODUCTIVIDAD**

Las plantas perennes como el plátano deben ajustar su actividad fotosintética y metabólica para producir fotoasimilados que les permitan crecer, llenar estructuras subterráneas de reserva y, posteriormente, generar rebrotes vegetativos. El crecimiento y desarrollo de un cultivo depende, fundamentalmente, del desarrollo progresivo de su área foliar, la cual le permite utilizar más eficientemente la energía solar en el proceso de fotosíntesis. Para obtener un racimo de buen peso y calidad, las plantas de Dominico-Hartón deben mantener, como mínimo, seis hojas funcionales desde la floración hasta los 45 días de edad del racimo; hasta la fase de 12 hojas emitidas, la planta puede resistir defoliaciones severas, pero su efecto sobre el peso del racimo se acentúa a medida que éstas se realizan cerca a la floración (Belalcázar *et al.* 1994). Estudios sobre la contribución fisiológica de los tercios foliares durante el

desarrollo del racimo de plátano Dominico-Hartón (Cayón *et al.* 1995), mostraron que las hojas intermedias (hojas 4, 5 y 6) e inferiores (hojas 7,8 y 9) de la planta mantienen la tasa fotosintética más constante a través del período de llenado de los frutos; los racimos de mayor peso se obtuvieron en las plantas con nueve hojas, seis hojas inferiores y seis hojas superiores, indicando que los tercios foliares medio e inferior están más comprometidos en el llenado de los frutos, y que el tercio superior (hojas 1,2 y 3), más juvenil y activo, probablemente, contribuye más a mantener el crecimiento y desarrollo de la unidad productiva. Desde el punto de vista de la producción, es más importante que las hojas mantengan una tasa de fotosíntesis moderada y constante durante períodos más prolongados.

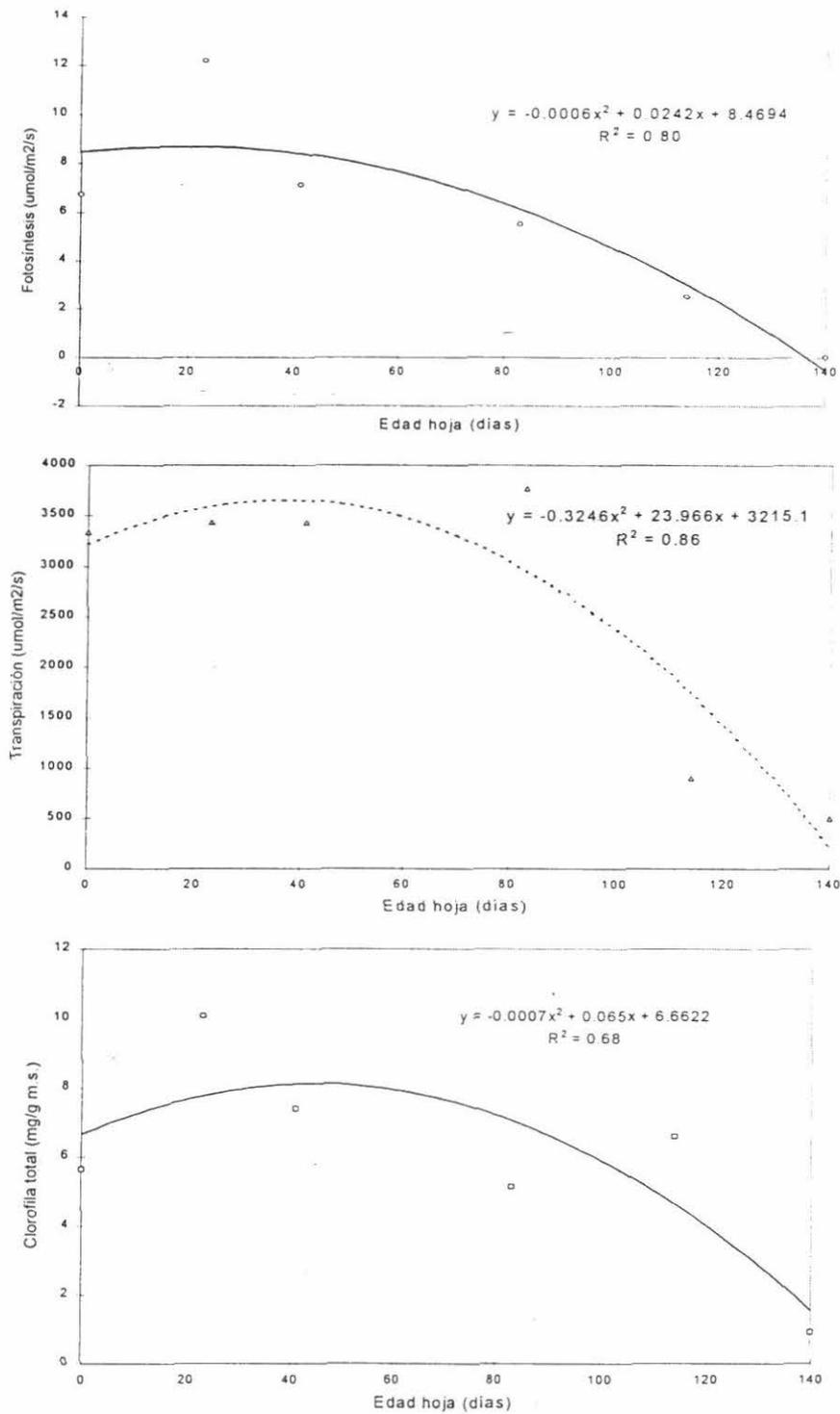
Debido al tamaño de las hojas de plátano, existen diferencias en cuanto a su actividad fisiológica dependiendo del sector foliar considerado. La comparación entre la actividad fotosintética del ápice y el centro de las hojas de varios clones (Tabla 6) indicó, consistentemente, que la tasa neta de fotosíntesis fue superior en el sector foliar central de todos los clones estudiados, siendo superior en el clon Hartón (Cayón *et al.* 1994). La tasa máxima de fotosíntesis estuvo correlacionada con el contenido de clorofila de las hojas, encontrándose mayor concentración del pigmento en el sector central de las hojas de Dominico y Dominico-Hartón. El Hartón y el Pelipita no presentaron diferencias apreciables de clorofila entre los dos sectores foliares, pero en el sector central se llevó a cabo siempre la mayor actividad fotosintética.

**Tabla 6.** Fotosíntesis máxima y concentración de clorofila en dos sectores foliares de cuatro clones de plátano (Cayón *et al.* 1994).

Clon		Clorofila (mg g peso seco <sup>-1</sup> )			Fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
		a	b	Total	
Dominico	Ápice	6,81	3,51	10,32	12,02
	Centro	7,19	3,98	11,17	12,92
Dominico-Hartón	Ápice	5,92	3,78	9,70	9,09
	Centro	7,62	5,09	12,71	12,56
Hartón	Ápice	8,09	5,06	13,15	10,97
	Centro	7,85	5,24	13,09	14,02
Pelipita	Ápice	8,41	5,48	13,89	6,35
	Centro	8,46	5,35	13,81	6,71

En la Figura 1 se presentan los resultados de un estudio realizado en plantas de cinco meses de edad para observar la evolución de la fotosíntesis, transpiración y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (Cayón 2001). En los estados iniciales del desarrollo de la hoja, la fotosíntesis, transpiración y

concentración de clorofila son bajas, se incrementan rápidamente hasta alcanzar valores máximos entre 20 y 40 días después de la expansión completa, y disminuyen gradualmente hasta valores mínimos en la senescencia total. La tasa máxima de fotosíntesis ( $12,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de la hoja se mantuvo por un período relativamente corto (20 días), después del cual disminuyó rápidamente hasta ser mínima en la senescencia total. Durante el período de expansión la concentración de clorofila es baja, debido a que la hoja no está completamente expuesta a la luz solar, de la cual depende el proceso de síntesis y acumulación de clorofilas; cuando la hoja completa su expansión, el incremento de clorofila es notable, manteniéndose constante durante un período intermedio de la edad de la hoja, para decrecer cuando ésta entra en senescencia.



**Figura 1.** Evolución de la fotosíntesis, transpiración y concentración de clorofila durante el desarrollo de la hoja de Dominico-Hartón (Cayón 2001).

En varios estudios realizados para determinar la actividad fotosintética diaria en hojas de varios clones de plátano en el Valle del Cauca y en el Quindío (Belalcázar *et al.* 1991, Cayón *et al.* 1994), se encontró que la tasa fotosintética máxima de los materiales varió entre 6.35 y 16.45  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para las condiciones de Palmira, donde la RFA fluctuó entre 402 y 1635  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ . La máxima tasa de fotosíntesis, entre los clones que recibieron exposición solar plena, correspondió al Maritú. El Pelipita mostró una tasa de 6,35  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  debido a que las plantas se encontraban en condiciones de semipenumbra (Tabla 8). En el Quindío, donde los clones estuvieron expuestos a igual nivel de RFA, se observaron diferencias en la tasa fotosintética de las hojas de acuerdo con la edad, siendo la hoja más joven completamente expandida (hoja 1) la menos eficiente en todos los cultivares estudiados; la mayor actividad fotosintética en la hoja uno correspondió al Pelipita, y en la hoja tres al Cachaco, siendo este último clon el de mayor eficiencia fotosintética (Tabla 9). Esta elevada tasa mostrada por el clon Cachaco es relevante, teniendo en cuenta que el plátano es una especie del grupo de plantas tipo C3 que, por lo general, presentan tasas máximas de fotosíntesis entre 10 y 20  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Salisbury y Ross 1985).

**Tabla 8.** Fotosíntesis máxima de cinco clones de plátano a exposición solar plena en el Valle del Cauca (Belalcázar *et al.* 1991).

Clon	Hoja	Tasa fotosintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	RFA ( $\mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ )
Dominico	2	12,92	1.210
Dominico-Hartón	2	12,56	1.334
Hartón	2	13,88	1.387
Maritú	2	16,45	1.635
Pelipita	6	6,35	403

**Tabla 9.** Fotosíntesis máxima en hojas individuales de cuatro clones de plátano a exposición solar plena en el Quindío (Cayón *et al.* 1994).

Clon	RFA ( $\mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ )	Tasa fotosintética ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
		Hoja 1	Hoja 3
Dominico	1.705	9,66	15,80
Dominico-Hartón	1.873	7,82	12,67
Pelipita	1.576	11,93	16,11
Cachaco	1.830	10,80	21,68

El estudio y análisis del desempeño ecofisiológico de las plantas es de vital importancia para aumentar la productividad de los cultivos y ampliar la adaptación de una especie de interés económico a condiciones ambientales diversas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

BELALCÁZAR, S.; CAYÓN, G.; LOZADA, J.E. 1991. Ecofisiología del cultivo. In: Belalcázar, S. (ed.). El cultivo del plátano en el trópico. ICA-INIBAP-CIID-COMITECAFE Quindío. Feriva, Cali. pp. 91-109.

BELALCÁZAR, S.; VALENCIA, J.A.; ARCILA, M.I. 1994. Influencia de la defoliación sobre la producción de plátano Dominico-Hartón (*Musa* AAB Simmonds). En: ACORBAT. X Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical (10, 1991, Tabasco, México). Memorias. Editores Miguel A. Contreras; José A. Guzmán; Luis R. Carrasco, San José, C.R., CORBANA. pp. 525-534.

CAYÓN, G.; LOZADA, J.E.; BELALCÁZAR, S. 1994. Estudios comparativos sobre la actividad fotosintética de clones de plátano (*Musa* AAB, ABB Simmonds) en Colombia. En: ACORBAT. X Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical (10, 1991, Tabasco, México). Memorias. Editores Miguel A. Contreras; José A. Guzmán; Luis R. Carrasco, San José, C.R., CORBANA. pp. 549-558.

CAYÓN, G. 1991. Evolución de la clorofila y la fotosíntesis durante el desarrollo de la hoja de plátano Dominico-Hartón en tres densidades de siembra. En: Informe Anual de Progreso 1991. Programa de Fisiología Vegetal. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Palmira. p 16.

CAYÓN, G. 2001. Evolución de la fotosíntesis, transpiración y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (*Musa* AAB Simmonds). *InfoMusa* 10 (1): 12-15.

CAYÓN S., G.; LOZADA Z., J.E.; BELALCÁZAR C., S. 1995. Contribución fisiológica de las hojas funcionales del plátano (*Musa* AAB Simmonds) durante el llenado del racimo. En: ACORBAT. XI Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical (02, 1994, San José, Costa Rica). Memorias. Editora Vicky Morales Soto. ACORBAT. pp. 725-739.

CAYÓN S., G.; LOZADA Z., J.E.; BELALCÁZAR C., S. 1995. Respuestas fisiológicas del plátano Dominico-Hartón (*Musa* AAB Simmonds) en densidades altas de siembra. En: ACORBAT. XI Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical (02, 1994, San José, Costa Rica). Memorias. Editora Vicky Morales Soto. ACORBAT. pp. 687-699.

CAYÓN GUTIÉRREZ, M.G.; EL-SHARKAWY, M.A.; MEJÍA DE TAFUR, S. 1998. Efectos fisiológicos del estrés hídrico en el clon de plátano Dominico-Hartón (*Musa* AAB Simmonds). *InfoMusa* 7 (2): 12-14.

CHAMPION, J. 1975. El Plátano. Traducción 3a. ed. inglesa, por Palomeque, F. Blume, Barcelona. 247 p.

MORELLO, J. 1954. Transpiração e balanço da agua da bananeira nas condições do Estado de Sao Paulo. *Botánica* 10: 27-97.

PUVIS, J. 1945. Contribution a etude de la pigmentation des bananes en Guinée française. *Fruits* 1 (4).

RASCHKE, K. 1956. Über die physikalischen Beziehungen zwischen arneubergangzhal, Strahlungsaustausch, Temperatur and Transpiration eines Blattes. *Planta* 48: 200-238.

ROBINSON, J. C. 1984. Banana transpiration studies. *Information Bulletin of the Citrus and Subtropical Fruit Research Institute*. No. 143. pp. 17-19.

ROBINSON, J. C.; BOWER, J. P. 1988. Transpiration characteristics of banana leaves (cv."Williams") in response to progressive depletion of available soil moisture. En: *Memorias de la IV reunión sobre agrofisiología del banano*. (J. A. Guzmán; R. Romero, eds.). pp. 53-65. ASBANA, Costa Rica.

ROSE, CH.; LARA, L.M.; CAYÓN, G.; Giraldo, G. 2001. Efecto del granizo y el viento sobre el desarrollo y calidad de los frutos de plátano Dominico-Hartón y FHIA 21. *INFOMUSA* (Francia) 10 (2): 13-17.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. 1985. *Plant Physiology*. Walsworth, Belmont. 540 p.

SHMUELI, E. 1953. Irrigation studies in the Jordan Valley. I. Physiological activity in relation to soil moisture. *Bull. Res. Council Israel* 3: 228-247.

SHMUELI, E. 1960. Chilling and frost damage in banana leaves. *Buw. Res Council Israel*. 8 (3,4): 225.

SIMMONDS, N.W. 1973. *Los Plátanos*. Blume, Barcelona. 539 p.

SKUTCH, A.F. 1931. Some reaction of the banana to pressure, gravity and darkness. *Plant Physiology* 6:73.

SLOCUM, A.F. 1933. Effect of low temperatures upon cell structure. Bull. 48. Res. Depart. U.F.C.

TAI, E. A. 1977. Banana. In: Ecophysiology of tropical crops. P. de T. Alvim; T. T. Kozlowski (eds.). Academic press, New York. pp. 441-460.

TAYLOR, S.E.; SEXTON, O.J.. 1972. Some implications of leaf tearing in musaceae. Ecology 53: 143-149.

**AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN, CONSERVACIÓN Y  
CARACTERIZACION DE *RALSTONIA Solanacearum***

## **TOMA DE MUESTRAS VEGETALES Y DE SUELO PARA AISLAMIENTO** *DE Ralstonia solanacearum* EN PLATANO

1. Desinfectar con yodo, la herramienta con que se tome la muestra.
2. Tomar muestras de diferentes partes de tejido afectado, de manera que se tome un área entre la parte afectada y la sana.
3. Colocar las muestras en bolsa de papel, posteriormente envolver en bolsa plástica y guardar en nevera de icopor con hielo, identificando apropiadamente cada muestra (variedad, finca, fecha, etc.).
4. Las muestras de suelo se toman por capas de 10 a 15 cm, normalmente hasta una profundidad de 30 cm, aunque para estudios específicos, podría tomarse a mayor profundidad.
5. Las muestras de suelo se colocan en bolsa plástica debidamente identificada y se conserva en nevera de icopor con hielo.
6. Las muestras se deben enviar al laboratorio lo más pronto posible.

## PRÁCTICA: AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE *Ralstonia solanacearum*

TATIANA ESPITIA<sup>1</sup>, PAULA HURTADO<sup>1</sup>, LINA MARÍA TABARES<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Microbióloga Universidad de Los Andes <sup>2</sup> Bacterióloga - CIAT

### AISLAMIENTO DE *Ralstonia solanacearum*

220955

#### INTRODUCCIÓN

*Ralstonia solanacearum* es una bacteria habitante natural del suelo, con una distribución global y con amplio rango de hospederos, causante de marchitamientos en muchos cultivos, y uno de los principales patógenos vegetales en el trópico. *Ralstonia solanacearum* es una especie que presenta varias razas, con base en el rango de hospederos que ataca y en los grupos fenotípicos que difieren en su versatilidad metabólica.

Debido a que *Ralstonia solanacearum* no es observable a simple vista, es necesario utilizar microscopio para ver cada célula. Sin embargo es posible observarlas cuando se encuentran en un medio apropiado y en gran cantidad, de este modo en una colonia de un medio de cultivo puede haber  $10^8$  células y así pueden ser visibles al ojo humano.

Para el aislamiento de microorganismos en general existen medios de cultivo que ofrecen todos los requerimientos que ellos necesitan para su crecimiento. Adicionalmente existen medios de cultivos selectivos y diferenciales, que nos permiten como su nombre lo indica, seleccionar y diferenciar una bacteria en particular. Para seleccionar bacterias como *R. solanacearum* se usan los medios TZC y SMSA-E. En el primero es factible ver las colonias de color rojo, ya que contiene un colorante que sólo estas bacterias pueden asimilar y expresan el color. En el segundo, las bacterias pueden ser observadas de color morado, por un colorante que actúa de manera similar.

#### OBJETIVO

Determinar mediante técnica de cultivo en placa la presencia de la bacteria  
*Ralstonia solanacearum*.

## PROCEDIMIENTO:

### Aislamiento de Suelo

Pesar 10 g de suelo y disolverlos en 90 ml de agua destilada estéril.



Agitar por media hora a temperatura ambiente.



Dejar decantar por 15 minutos.



Realizar las diluciones en agua destilada estéril según el esquema.

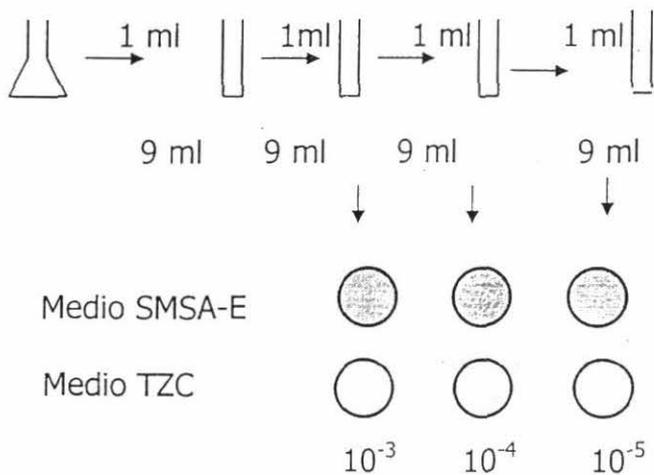


Sembrar sobre cajas de Petri con los medios de cultivo TZC y SMSA-E, e incubar a 30°C.



Observar las colonias de color rojo en TZC y morado SMSA-E, crecidas de 24 a 48 horas.

### Esquema de Diluciones



### **Aislamiento de Agua**

Tomar directamente la muestra y realizar las diluciones en agua destilada estéril según el esquema.



Sembrar sobre cajas de Petri con los medios de cultivo TZC y SMSA-E, e incubar a 30°C.



Observar las colonias rojas y moradas respectivamente crecidas de 24 a 48 h.

### **Aislamiento de Tejido**

Observar la sintomatología de la planta, realizar cortes delgados de tejido sano y enfermo de 2mm a 4mm aproximadamente.



Lavar con agua destilada durante media hora.



Desinfectar con hipoclorito al 1% durante 3 minutos.



Lavar 3 veces con agua destilada estéril, agitando vigorosamente.



Macerar en mortero estéril con buffer de macerado.



Sembrar cada muestra sobre cajas de Petri, con los medios de cultivo TZC y SMSA-E, e incubar a 30°C.



Observar las colonias rojas y moradas, crecidas de 24 a 48 horas

**Buffer para macerado de tejido:** Tampón fosfato 50 mM (pH 7.0):  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 4.26 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.72 g, agua destilada 1 Lt. Llevar a pH 7.0,  
autoclavar durante 15 minutos a 121°C.

### Medios de cultivo.

TZC Solución stock: Disolver 1 g de 2,3,5 Triphenyl tetrazolium chloride en 100 ml de agua destilada, colocar en una frasco en el cual no pase la luz y autoclavar 8 min o esterilizar por filtración. Almacene en refrigeración.

Medio TZC:

Destroxa	10 g
Peptona	10 g
Casaminoácidos	1 g
Agar	18 g
Agua destilada	1000 ml

Autoclavar y adicionar 5 ml de TZC solución stock, para obtener una concentración final de 0.005% y servir en cajas de petri.

Medio SMSA-E

Bactopeptona:	10 g
Glicerol	5 ml
Casaminoácidos	1 g
Bacto agar	15 g
Agua destilada	1000 ml



Esterilizar 15 minutos a 121°C.

Adicionar al medio, cuando se encuentre a una temperatura de 50 C:

1%	Polyimyxin B sulphate	2.5	ml
1%	Crystal violet	125.0	µl
1%	Tetrazolium salts	1.25	ml
1%	Bacitracin	6.25	µl
0.1%	Penicilina	125.0	µl
1%	Cloranfenicol	125.0	µl

Si se desea una inhibición de hongos contaminantes, adicionar:

1%	Cicloheximide	2.5	ml
----	---------------	-----	----

## DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Ralstonia solanacearum*, AGENTE CAUSAL DE MOKO EN PLÁTANO, Y SU CONTROL

### Colaboradores

Elizabeth Alvarez, Lina María Tabares, Germán Llano y John Loke—CIAT  
Silverio González y Rosinelly Pérez—Special, La Tebaida, Quindío  
Ever Vargas y Luz Piedad Estrada—ICA, Quindío  
Ana Lucía Gaviria y Yaneth Rivera—Universidad del Quindío, Armenia, Quindío

### Introducción

El plátano es un alimento básico en la canasta familiar de los colombianos y su exportación constituye un factor importante en la generación de divisas para la economía nacional. Este producto es cultivado en Colombia en una extensión de 350.000 Ha. distribuidas por todo el país; el volumen de su producción supera los 2.5 millones de toneladas anuales, destinadas en un 99% al mercado interno y el resto a la exportación. En las grandes zonas de producción: la Zona Cafetera, los Valles Interandinos, la Región Caribe y los Llanos Orientales, el cultivo ha significado una alternativa sostenible frente a los serios problemas de otros renglones productivos, generando 99.5 jornales/año por hectárea productiva, mejorando así la calidad de vida de los habitantes de estas regiones.

La zona cafetera central de Colombia (departamentos del Valle, Risaralda, Quindío y Caldas) posee la mayor área productora de plátano del país, con una superficie estimada de 40,000 hectáreas tecnificadas. En esta zona se han dado pasos importantes para el desarrollo de cultivos tipo empresarial, a partir de la asociación de pequeños productores en proyectos productivos encadenados a iniciativas de comercialización e industrialización de plátano. El cultivo tiene además, potencial de exportación, debido a que la demanda mundial de esta fruta se está incrementando.

El Moko, causado por la bacteria *Ralstonia solanacearum*, es una enfermedad devastadora en todas las zonas de Colombia. En el país se encuentran reportadas cerca de 467 hectáreas cultivadas con plátano, afectadas por Moko y sólo en la región de Urabá se encuentran 338 hectáreas de banano contaminadas; lo que representa pérdidas anuales cercanas a los 16.300 millones de pesos.

Además de esto, el deterioro ambiental ocasionado por el uso indiscriminado de sustancias tóxicas como formol para el control de Moko, causa un desequilibrio ecológico y afecta la salud humana.

Actualmente, se vienen utilizando métodos de control con éxito moderado, debido a la carencia de investigación en tecnologías más efectivas. Las únicas herramientas de control manejadas por los agricultores son el uso de semilla limpia sumado a prácticas culturales, las cuales no son efectivas a corto plazo para una erradicación real de la enfermedad.

## Objetivo

La meta de este estudio es proteger los cultivos de plátano y banano contra la enfermedad del Moko, en zonas productoras a nivel nacional. Si no se detiene su progreso, la producción seguirá en deterioro y se pueden acabar los cultivos, pues la enfermedad se propaga en forma geométrica cuando no se ejerce control adecuado.

A continuación se presentan los objetivos específicos del estudio:

- Obtener información detallada sobre las pérdidas y prácticas de manejo de la enfermedad del Moko en Quindío.
- Conformar una colección de aislamientos del patógeno, y determinar mediante técnicas moleculares, los niveles de variación existentes en la población de la bacteria causante del Moko en diferentes fincas y regiones.

## Materiales y métodos

**Encuestas y muestreo.** Durante dos muestreos, se visitaron 36 fincas productoras de plátano en los Municipios de Montenegro, Quimbaya, La Tebaida y Armenia (Quindío). En cada finca se realizó una encuesta de 40 preguntas, con el objetivo de analizar el manejo agronómico del cultivo de plátano y su efecto sobre la enfermedad del Moko. Se tomaron en total 304 muestras: Tejido vegetal (137), suelo (146), agua de fumigación de reservorios y quebradas (18) e insectos (3), para aislar *Ralstonia solanacearum*, el agente causante del Moko.

**Muestras de agua.** Las muestras de agua se diluyeron en agua destilada estéril tomando 1 ml de agua y adicionándolo a 9 ml de agua, se sembraron diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  en TZC.

**Muestras de insectos.** Las muestras de insectos se procesaron de igual forma que las muestras de tejido.

**Muestras de suelo.** Las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente y se pasaron por un tamiz de 2 mm. Luego se tomaron 10 g de cada muestra y se adicionaron a 100 ml de agua destilada estéril. Los erlenmeyers se agitaron 20 minutos y posteriormente se prepararon las diluciones tomando 1 ml de la muestra original el cual se agregó a 9 ml de agua destilada estéril hasta llegar a la dilución  $10^{-3}$ . finalmente se sembró 0.1 ml de cada una de las diluciones en medio TZC.

**Purificación.** Las colonias obtenidas en medio TZC se purificaron mediante siembra por agotamiento en dicho medio.

**Pruebas bioquímicas.** Las bacterias purificadas se sembraron en Agar Nutritivo para su identificación como *R. Solanacearum*. Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas

- Oxidasa: *R. solanacearum* es oxidasa positiva.
- KOH al 3%: *R. solanacearum* es positiva a esta prueba (Gram negativa).

Estas pruebas se realizaron por duplicado.

**Conservación.** Las cepas obtenidas se conservaron mediante dos métodos: liofilización y tubos inclinados con medio de cultivo Agar Nutritivo.

## Resultados y Conclusiones

**Aislamiento de *R. solanacearum*.** En el muestreo se obtuvieron 73 cepas de *R. solanacearum* identificadas mediante pruebas bioquímicas (**Tablas 1 y 2**). Se procesaron 144 muestras de tejido, de las cuales, 61 muestras (42.3%) fueron positivas. En las muestras de suelo se obtuvo mayor porcentaje de aislamiento de la bacteria,.

En las muestras de tejido se obtuvo un menor porcentaje de aislamiento de la bacteria, lo que indica que pudieron presentarse fallas en el aislamiento ya sea porque las plantas tenían un estado avanzado de la infección o porque bacterias saprofitas que crecen en el tejido enfermo pueden inhibir al patógeno, dificultando así su aislamiento.

Se aisló *R. solanacearum* de las siguientes muestras de suelo de sitios con plantas afectadas por Moko: al lado de la planta, 0-30 cm, 60 cm de profundidad, 5 m y 10 m arriba del foco, 10 m y 20 m abajo del foco. También se aisló la bacteria de suelo tratado con formol y cubierto con plástico y suelo tratado con formol un año.

De los siguientes sitios sin cultivo de plátano, la detección del patógeno también fue positiva: cultivado hace 6 meses, 2, y 4 años y tratado con Basamid®.

**Tabla 1.** Muestras de Obtención de aislamientos de *Ralstonia solanacearum*, agente causal de Moko de plátano, de diferentes tejidos de plantas de plátano infectados.

Muestra	Muestras con <i>R. solanacearum</i> (No.)	Muestras sin <i>R. solanacearum</i> (No.)
Tallos	5	8
Colino	1	1
Raquis	1	0
Total	7	9

**Tabla 2.** Obtención de aislamientos de *Ralstonia solanacearum* de muestras de agua.

Muestra	Muestras con <i>R. solanacearum</i> (No.)	Muestras sin <i>R. solanacearum</i> (No.)
Quebrada o nacimiento	3	2
Lago	1	0
Reservorio de agua para fumigación	0	1
Acueducto	3	5
Total	7	8

Se aisló *R. solanacearum* de las siguientes plantas arvenses: Cadillo, Emilia, Ciperaceae, Lechuguilla, Hierba Mora, Arracacha, y Maíz.

**Encuestas.** De las encuestas realizadas a productores se puede resaltar lo siguiente (ver **Tabla 3**):

- Las fincas visitadas reportan plantas infectadas por Moko durante los últimos cinco años.
- Herramientas, colinos de plantas y agua de quebradas aparentemente diseminan la enfermedad.
- Hay muy pocas alternativas de control para reducir el inóculo del patógeno presente en suelo infectado.

**Tabla 3.** Diagnóstico participativo del Moko en plátano y prácticas de manejo en el Departamento Quindío.

Diagnóstico	Valor
<b>Estudio de pérdidas</b>	
Número de agricultores entrevistados (No.)	21
Porcentaje de productores de plátano que reportan Moko (%)	95
Area afectada por Moko (%)	11
Aumenta del área afectado en los últimos 5 años (%)	43
Aislamientos de <i>R. solanacearum</i> obtenidos (No.)	73
Prácticas de manejo recomendadas para disminuir el Moko en plátano (porcentaje aplicado por agricultores)	
Tratamiento del suelo con un desinfectante	52
Desinfección de herramientas	90
Uso de herramienta exclusiva para plantas afectadas	57
No cambiar frecuentemente el personal que cosecha	29
Agricultores que aplican las prácticas de control recomendadas por ICA <sup>a</sup>	86

<sup>a</sup>Instituto Colombiano Agropecuario.

## DETECCIÓN MOLECULAR DE *Ralstonia solanacearum* MEDIANTE PCR

TATIANA ESPITIA<sup>1</sup>, PAULA HURTADO<sup>1</sup>, LINA MARÍA TABARES<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Microbióloga Universidad de Los Andes <sup>2</sup> Bacterióloga – CIAT

### INTRODUCCIÓN

La técnica de PCR o Reacción en Cadena de la Polimerasa, se basa en la amplificación de un fragmento específico del ADN de un organismo en particular, en este caso *Ralstonia solanacearum*. Es una técnica sencilla que permite la identificación de organismos causantes de enfermedades en plantas, empleando simplemente su material genético o ADN, ya que se encuentra un fragmento que solo ella y ninguna otra bacteria lo tiene.

Mediante el empleo de las Técnicas Moleculares como herramienta para una detección rápida del patógeno, se consigue conocer de una manera rápida la presencia del patógeno y al tener una mayor sensibilidad de detección, evitar la espera que conlleva aislar e identificar la bacteria por los medios tradicionales (medios de cultivo y pruebas bioquímicas).

Para un análisis inicial del ADN de la bacteria de interés se deben realizar dos pasos básicos:

1. Lisis o rompimiento celular.
2. Separación del ADN cromosomal

Tomar una colonia de la bacteria y ponerla en un tubo eppendorf con 100 $\mu$ l de agua para PCR (agua HPLC).



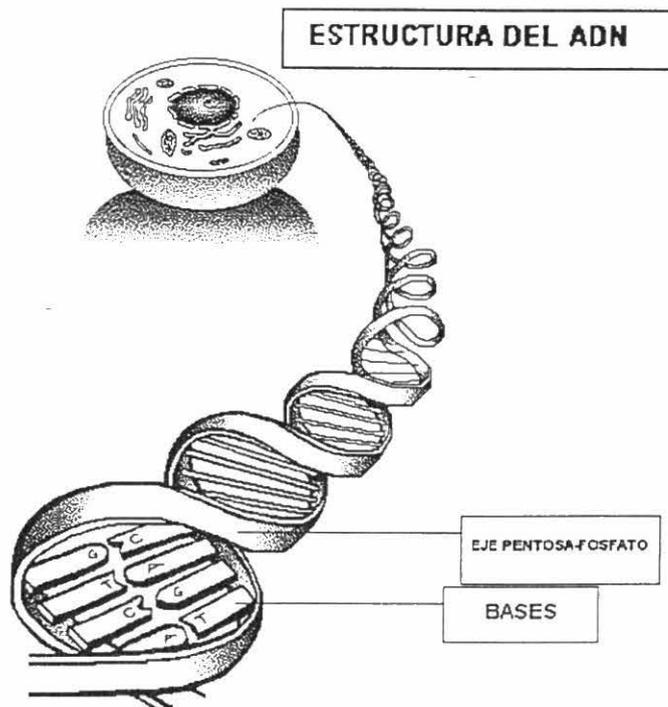
Poner los tubos en un frasco con agua en ebullición durante 5 minutos



Centrifugar a 12.000rpm durante 3 minutos.



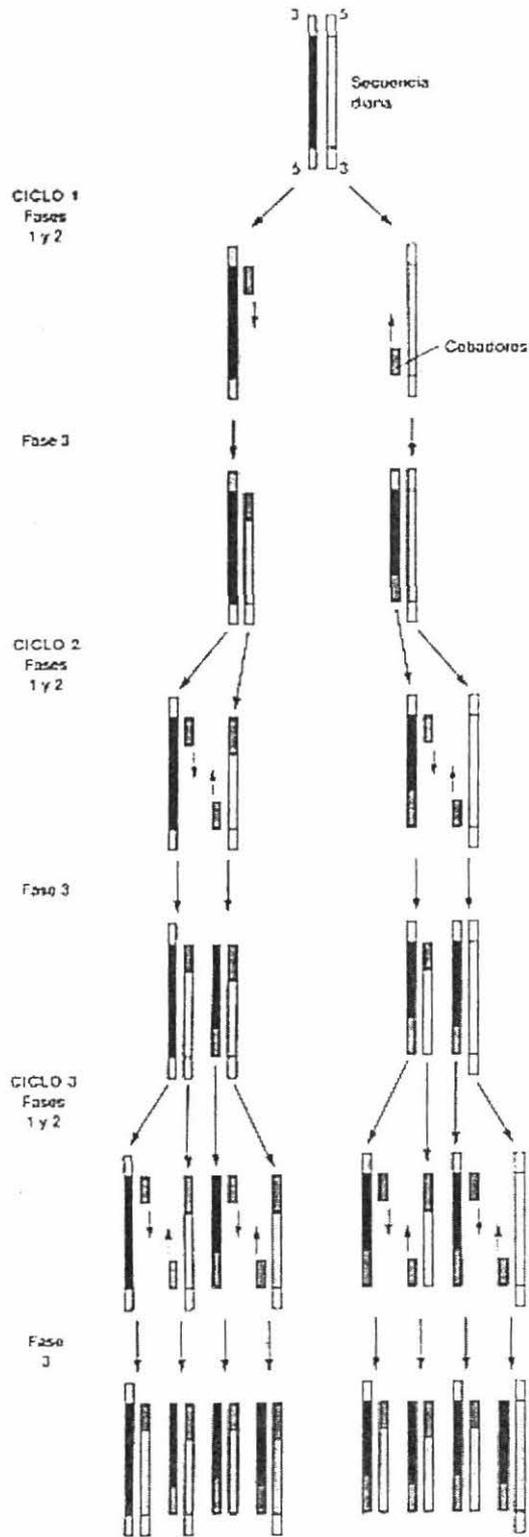
Tomar 5 $\mu$ l del sobrenadante para la reacción de PCR



La reacción de PCR es una simulación de lo que pasa en la bacteria cuando se esta reproduciendo, su ADN se replica y da origen a nuevas bacterias con una copia idéntica de su ADN. De este modo tenemos que adicionar en un tubo de reacción todo lo que encontramos en la célula, pero solo vamos a multiplicar un fragmento de este ADN, muchas veces para poder después verlo y compararlo con otros.

1. Buffer PCR: Para dar estabilidad a los componentes de la reacción.
2. MgCl: Ayuda a la síntesis del ADN
3. dNTP's: Adenina, Timina, Guanina y Citosina, componentes del ADN necesarios para la síntesis de nuevo.
4. Primer: Iniciador de la reacción.
5. Taq Polimerasa: Enzima que sintetiza el nuevo ADN.

Después de tener la mezcla se pone el ADN y se lleva al termociclador, para cambiar las temperaturas en cada paso de amplificación.



**Figura 1.** Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En tres ciclos la secuencia diana ha sido amplificada para introducir ocho copias.

## Pasos del PCR:

1. Denaturación: Abrir el ADN de cadena doble a cadena sencilla.
2. Apareamiento: Para que el iniciador se pegue al ADN y empiece la síntesis.
3. Síntesis: La enzima Taq hace las copias del ADN.
4. Terminación: Se finaliza todo el proceso después de varias repeticiones.

## PCR específico para detectar *R.Solanacearum*

El empleo de los cebadores Y2 y OLI-1(específico), para amplificar el ADN de *R. solanacearum*, permite obtener un fragmento de ADN aproximado de 300 pares de bases y confirmar que muestras tienen la bacteria y cuales no.

Los test de diagnóstico basados en la amplificación de la cadena polimerasa (PCR), permiten una rápida detección de un patógeno, así el patógeno se encuentre en una pequeña cantidad en las muestras en estudio, esto a su vez nos permite una mayor sensibilidad y garantizar un buen diagnóstico.

### Reacción de Amplificación para *R. solanacearum*

Componente	Concentración Inicial	Concentración Final	Cantidad
Buffer PCR	10X	1X	2.5 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub>	25mM	1.5mM	1.5 $\mu$ l
dNTPs	25mM	0.2 mM	0.2 $\mu$ l
Primer OLI-1	20 $\mu$ M	0.5 $\mu$ M	0.62 $\mu$ l
Primer Y2	20 $\mu$ M	0.5 $\mu$ M	0.62 $\mu$ l
TAQ	5U/ $\mu$ l	0.5 U	0.1 $\mu$ l
Agua			
ADN	5ng/ $\mu$ l	10 ng/ $\mu$ l	2 $\mu$ l

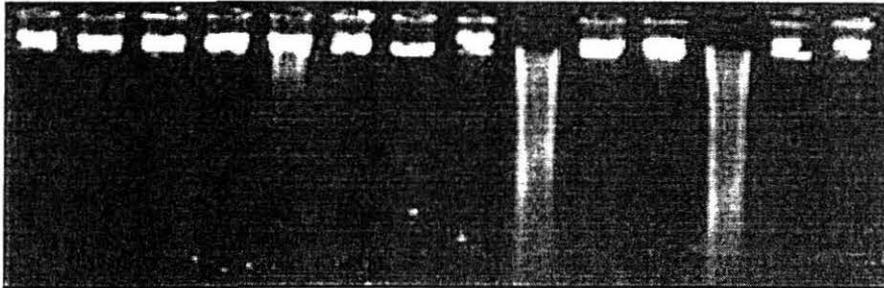
## Visualización de los fragmentos de ADN amplificados en Geles de Agarosa.

La visualización de los fragmentos de ADN amplificados mediante PCR se realiza mediante una electroforesis, que consiste en el movimiento de las moléculas (ADN) con carga negativa bajo la influencia de un campo eléctrico.

Para realizar la electroforesis se emplean medios de soporte, los mas utilizados son los geles, estos se sumergen en una solución buffer que permite la conducción del campo eléctrico a lo largo de todo el sistema.

Los geles forman un tipo de red, a través migran las moléculas que se van a separar.

Para observar el ADN de *Ralstonia solanacearum*, empleamos geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de Etidio, un colorante altamente tóxico, que se intercala entre el ADN y con luz UV fluoresce de color naranja, permitiendo visualizar el ADN.



**Figura 2.** ADN de diferentes aislamientos de *Ralstonia solanacearum*

220958

## **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Ralstonia solanacearum* MEDIANTE AFLP y MICROSATÉLITES RAMS.**

**TATIANA ESPITIA<sup>1</sup>, PAULA HURTADO<sup>1</sup>, LINA MARÍA TABARES<sup>2</sup>**

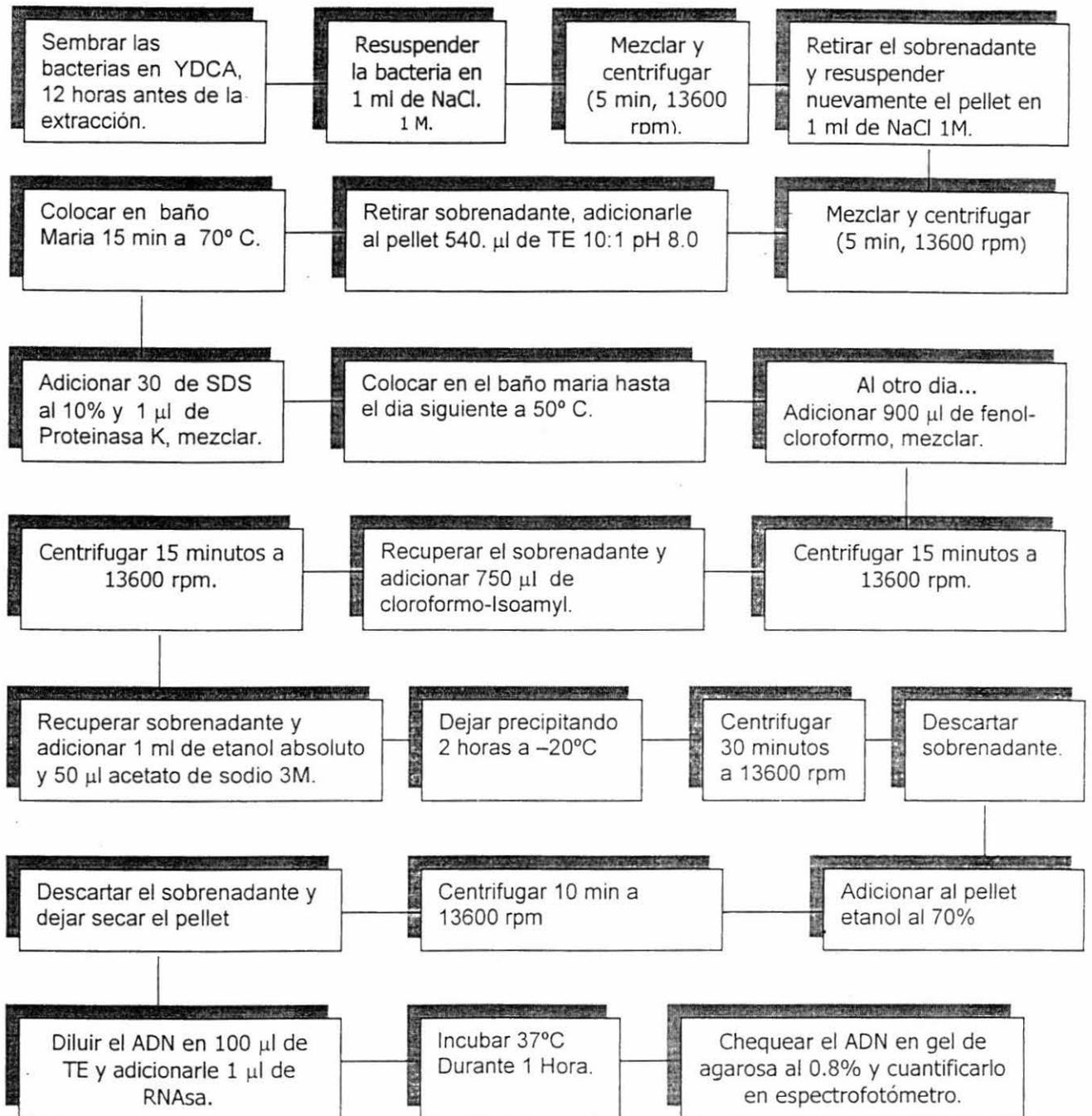
<sup>1</sup> Microbióloga Universidad de Los Andes <sup>2</sup> Bacterióloga - CIAT

### **INTRODUCCIÓN**

La caracterización molecular consiste en estudiar mas a fondo el ADN de un organismo, para poder compararlo con otros organismos relacionados y determinar diferencias o similitudes entre ellos. Estas diferencias y similitudes nos permiten estudiar poblaciones bacterianas, sus variaciones y encontrar patrones que nos guían a entender su comportamiento, cuando afectan cultivos de plantas de interés y cuando tratamos de controlarlos.

### **Extracción de ADN**

Para la realización de los diferentes análisis del genoma, se debe partir de tener una ADN puro, con alto rendimiento y de buena calidad. Para su extracción se realiza el procedimiento descrito en la figura 3



**Figura 3.** Esquema para extracción de ADN de bacteria.

## **Polimorfismo de longitud en los fragmentos amplificados (AFLP)**

Esta es una novedosa técnica basada en PCR que permite obtener complejos patrones de ADN a través de la amplificación selectiva de fragmentos de restricción a partir de la digestión total de ADN genómico de cualquier origen y complejidad (Vos et al., 1995). La generación de tales patrones es realizada sin el previo conocimiento de alguna secuencia y usando un número limitado de cebadores, gracias al ingenioso principio del sistema.

La técnica normalmente implica tres pasos:

### *1. Digestión con endonucleasas de restricción.*

El ADN previamente aislado es cortado simultáneamente con dos enzimas de restricción, una de corte frecuente y otra de corte esporádico, *MseI* y *EcoRI*, respectivamente. *MseI* tiene un lugar de reconocimiento de 4 pb, mientras que *EcoRI* reconoce una secuencia de 6 pb.

De esta forma, tres tipos de fragmentos son producidos: fragmentos *MseI-MseI* (que han sido cortados en ambos extremos por la enzima *MseI*), fragmentos *MseI-EcoRI*, y fragmentos *EcoRI-EcoRI*. De estos fragmentos, los *MseI-EcoRI* son los predominantemente amplificados, ya que los abundantes (más del 90%) fragmentos *MseI-MseI* no son amplificados. Según Vos et al 1995, este comportamiento puede ser explicado por la baja temperatura de alineamiento del cebador *MseI*, haciendo menos eficiente la síntesis de fragmentos *MseI-MseI* en comparación a los *MseI-EcoRI*. Por otro lado, estos fragmentos poseen una repetición invertida en sus extremos que pueden facilitar la formación de un bucle que impida su amplificación.

Esta situación limita, en primera instancia, el número de fragmentos que van a amplificarse. Adicionalmente, los fragmentos *MseI-EcoRI* se encuentran en el rango de tamaño óptimo (menor a 1 kb) para amplificar bien y ser separados en geles de poliacrilamida

### *Ligación de adaptadores.*

La digestión del ADN genómico genera fragmentos con extremos cohesivos cuya secuencia es conocida. Esto permite el diseño de adaptadores *MseI* y *EcoRI*, los cuales consisten de una doble cadena de ADN con un extremo cohesivo, complementario al producido por la respectiva enzima de restricción. La ligación de los mismos adaptadores a todos los fragmentos de secuencias diferentes, permite su utilización como lugar de unión con cebadores específicos. De esta forma, un par de cebadores permite la amplificación de una gran variedad de fragmentos cuya secuencia es desconocida.

## *2. Reacciones de amplificación.*

Este paso consta de dos reacciones consecutivas. En la primera, o preamplificación, los fragmentos son amplificados con cebadores que llevan en su extremo un nucleótido selectivo (A, G, C o T), y su función es limitar aún más el número de fragmentos a amplificarse. En la segunda reacción, los productos obtenidos en la anterior, son utilizados como molde para la amplificación con cebadores que esta vez portan en su extremo tres nucleótidos selectivos. El resultado final es la amplificación de un pequeño grupo de fragmentos a partir de los cientos de miles que se obtienen en la digestión.

La estrategia de amplificar en dos pasos conduce a la obtención de patrones de ADN más limpios y reproducibles, con el beneficio adicional de generar suficiente ADN molde para realizar miles de reacciones.

La visualización de los productos de la segunda amplificación se realiza en geles denaturantes de poliacrilamida, en donde los polimorfismos son determinados con base en la presencia o ausencia de bandas.

Estas características la convierten en una técnica robusta y confiable, en la cual, pequeñas variaciones (p.e. termocicladores, concentración del ADN molde, perfil térmico) en los parámetros de amplificación la afectan muy poco.

Los AFLPs permiten, de esta forma, obtener rápidamente numerosos fragmentos (entre 50-100) de los cuales más del 80% pueden servir como marcadores genéticos, con la única desventaja de ser marcadores dominantes.

Entre las ventajas de esta técnica están

Pueden ser obtenidos de cualquier organismo con ADN y sin el previo conocimiento de alguna secuencia del genoma.

- Los artefactos producidos durante el PCR son minimizados por la alta astringencia (alta temperatura de apareamiento), eliminando las uniones no específicas entre cebador y molde. Esto se encuentra confirmado por la gran reproducibilidad de los resultados.
- Los análisis de AFLPs requieren mínimas cantidades de ADN, y muestras parcialmente degradadas pueden ser usadas.
- Se pueden generar marcadores con gran rapidez.
- Los marcadores obtenidos con AFLPs presentan herencia mendeliana.
- Un número ilimitado de marcadores puede ser generado utilizando diferentes combinaciones de cebadores (variando los nucleótidos selectivos).

## Microsatélites RAMs

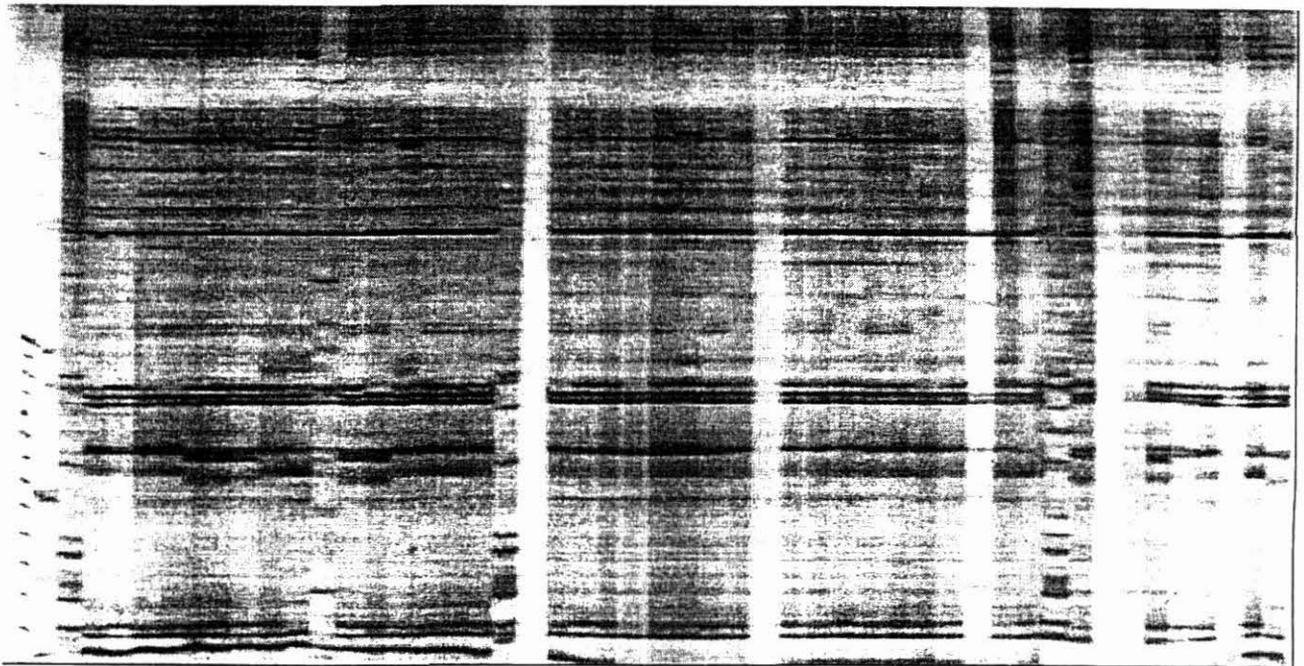
Los microsatélites son regiones de secuencias pequeñas repetidas de ADN, generalmente de dos a tres nucleótidos, que pueden o no estar asociadas con genes. Dado que, la secuencia por si misma no codifica para formar ninguna proteína, y debido a que las secuencias de ADN repetitivo pueden recombinarse y expandirse más frecuentemente que otros tipos de secuencia, estas regiones son a menudo altamente variables y consecuentemente útiles para medir similitudes o diferencias entre especies o variedades relacionadas.

Estas regiones pueden amplificarse por PCR usando pares de oligonucleótidos que flanquean la región repetitiva y muestran un alto polimorfismo debido a la variación en la longitud de la unidad repetitiva. Se encuentran distribuidos al azar a lo largo del genoma, se pueden detectar en todos los genomas eucarióticos, son locus específicos y multialélicos, se heredan de una manera codominante y son somáticamente estables.

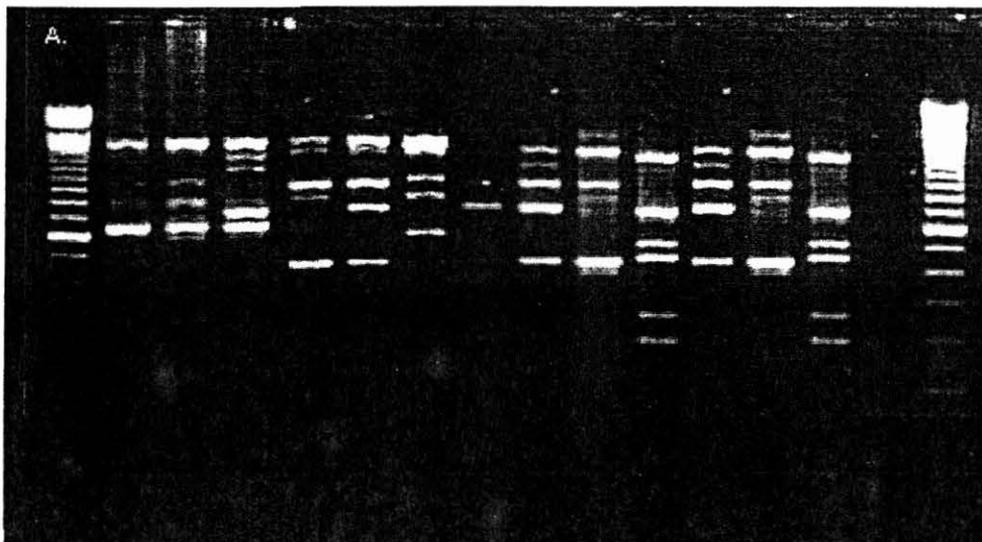
Este método es muy eficiente y proporciona tantos datos para estudios entre especies, como microsatélites resultan. Sin embargo, la necesidad de clonación, secuenciación y sintetización de los cebadores específicos de la especie, reduce la universalidad de esta técnica.

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo método para medir la diversidad genética en plantas y animales con cebadores basados en microsatélites. La técnica combina los beneficios de los análisis microsatélites con el universalmente utilizado análisis RAPD. Esta metodología también es aplicable en estudios sobre hongos.

La técnica de Zietkiewicz, fue llamada RAMS. Se seleccionan cuatro cebadores (GT, ACA, CCA, CGA) con una longitud de 18 bases y con un extremo 5' degenerado, el cual sirve de anclaje para asegurar la unión del cebador al inicio del microsatélite. La técnica fue utilizada para generar marcadores de ADN de los hongos *Armillaria cepistipes*, *Gremmeniella abietina*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora cactorum*, *Phlebiopsis gigantea* y *Stereum sanguinolentum*. La técnica es reproducible y aplicable a todos los hongos, incluyendo miembros de los Phycomycetes, Ascomycetes y Basidiomycetes, y permite detectar polimorfismos de ADN interespecíficos e intraespecíficos. Los RAMS han sido utilizados recientemente para el estudio de cuatro especies de *Myrothecium* que muestran su fácil implementación en comparación con el AFLP(**figura 5**)



**Figura 4.** Patrones de AFLP, obtenidos mediante la combinación de primers EC/MA .



**Figura 5.** Patrones de bandas obtenidos con el cebador ACA (RAMs).

## DETECCIÓN SENCILLA Y RÁPIDA DE *Ralstonia solanacearum*, AGENTE CAUSAL DEL MOKO DE PLÁTANO

Elizabeth Alvarez, Lina María Tabares, Germán Llano y John Loke—CIAT  
 Abraham Oleas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, IASA-ESPE, Sangolquin, Ecuador  
 Silverio González, Rosinelly Pérez—Special, La Tebaida, Quindío  
 Ever Vargas—ICA, Quindío

### Introducción

En Colombia no tenemos herramientas para detectar *Ralstonia solanacearum* en una forma rápida y de bajo costo. Es muy importante tener una técnica que permita determinar si los focos tratados, realmente están desinfectados, si el agua de fumigación se encuentra está libre de bacteria, etc. En este estudio presentamos los avances del desarrollo de un método para analizar la presencia de la bacteria en muestras de agua, suelo y tejido vegetal.

### Objetivos Específicos

1. Establecer la viabilidad del desarrollo de un medio líquido para la detección rápida y precisa de *Ralstonia solanacearum* en el campo.
2. Determinar la posibilidad de aislar la bacteria de suelo, agua y planta, *in situ*.
3. Tener un método para conservar *Ralstonia solanacearum* durante viajes de campo, para evitar el transporte de muestras afectadas entre departamentos y CIAT (u otros laboratorios de diagnóstico).

### Materiales y Métodos

Se usó un medio líquido y el medio TZC sólido, descrito previamente en la Actividad 1. Se usaron tubos de ensayo de 50 ml con tapa de rosca.

Tratamientos:

1. 10 ml agua destilada estéril (testigo negativo)
2. Una cepa de *R. solanacearum* (cepa 8, procedente de una planta de plátano afectada por Moko, 24 horas de crecimiento), se agregó agua destilada estéril para obtener una dilución  $10^{-5}$  (testigo positivo)
3. Cepa 8, dilución  $10^{-6}$  (testigo positivo)
4. Cepa 8, dilución  $10^{-7}$  (testigo positivo)
5. Agua de río, Montenegro, Quindío
6. Agua de lavadero en una finca, Montenegro, Quindío
7. Suelo lote, G7U, 60 cm, planta de plátano afectada por Moko al lado de foco, Quindío

8. Suelo pasteurizado hace varios años, (depósito, CIAT)
9. Similar a 8 pero esterilizado en autoclave (testigo negativo)

De cada muestra se sembró 0.1 ml en TZC sólido (2 cajas por muestra). También se agregaron 0.1 ml de cada muestra al medio líquido (2 tubos por muestra). La incubación se realizó a 37° C, sin luz.

## Resultados y Conclusiones

El método de detección evaluado permite una rápida detección de la bacteria *Ralstonia solanacearum*, conforme se observa en la **Tabla 1**.

Es muy importante tener en cuenta que una detección positiva en TZC no necesariamente indica la presencia de colonias patogénicas de *R. Solanacearum*, capaces de causar Moko. Estamos en el proceso de hacer la prueba más específica.

**Tabla 1.** Evaluación del crecimiento de *R. solanacearum* en los medios TZC sólido y líquido.

Tratamiento	TZC-sólido		TZC-líquido	
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 1	Rep. 2
1	- <sup>a</sup>	-	-	-
2	++++++	++++++	+++	+++
3	++++++	++++++	+	- <sup>b</sup>
4	-	-	-	-
5	+	+	+	+++
6	++	+++	++	+
7	++++	++++++	+++	+++
8	+++++++	+++++++	+	+
9	-	-	-	-

<sup>a</sup> - = ausencia de crecimiento; + = presencia de bacteria de color rojo, leve; +++++++ = presencia de bacteria de color rojo, abundante <sup>b</sup>Error operacional.

La detección en medio líquido es igual de sensible que en medio sólido. Se prefiere una temperatura de 37° C a otra inferior.

Se podría cuantificar la cantidad de inóculo en las muestras de campo inoculadas en el medio líquido mediante espectrofotometría.

Para reducir la presencia de bacterias gram positivas se sugiere la ejecución de micro ensayos con antibióticos añadidos al medio TZC líquido.

Utilizando el medio líquido se puede obtener rápidamente una colección del patógeno.

Al momento de evaluar se recomienda usar la prueba de KOH (3%) para establecer si la bacteria es gram negativa, usando un portaobjeto y un palillo.

## DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE ALTERNATIVAS LIMPIAS DE MANEJO INTEGRADO DEL MOKO (*Ralstonia solanacearum*) DE PLÁTANO EN COLOMBIA

Colaboradores

Elizabeth Alvarez, Lina María Tabares, Germán Llano y John Loke—CIAT  
Silverio González, Rosinelly Pérez, Especial, La Tebaida, Quindío  
Ever Vargas—ICA, Quindío

### OBJETIVO

El presente proyecto tiene como objetivo general, reducir el impacto de la enfermedad del Moko en plátano, mediante la generación de alternativas de manejo sostenible, basadas en un mayor conocimiento del agente causal. El objetivo específico de este estudio es la identificación de la mínima concentración inhibitoria de 24 productos para desinfectar herramienta de trabajo y suelo contaminado con *R. solanacearum*.

### Materiales y Métodos

**Desinfectantes líquidos.** Se utilizaron los siguientes productos (presentación líquida): formol (37%, de un almacén químico); específico (Creolina, Cresovec®); ácido fosfórico (Productos Químicos Panamericanos S.A., Cali, para uso en campo, 35%); ácido fosfórico (reactivo, 85%); limpio (Patojito® = hipoclorito de sodio a 5%); thinner (almacén de pintura); Agrodine® SI (Electrowest, Medellín, 2 clases: expuesto 12 horas a la luz y sin exponer a luz), yodoformo (2 clases: expuesto 12 horas a la luz y no expuesto a luz), presentación espumosa de yodo; lixiviado de raquis de plátano obtenido mediante compostaje (fresco); Ecolife; zumo de limón; extracto de hoja de fique; y macerado de semillas de limón.

**Desinfectantes sólidos.** Basamid®; lixiviado de raquis de plátano (obtenido mediante compostaje) liofilizado; urea; Calfos®; swinglea (se licuaron 100 g de hojas en una solución de 1 L de alcohol al 50%); costal de fique (fragmentos); macerada de tallos de planta lápiz (planta desnuda); y Kocide101® (oxicloruro de cobre).

**Tubos de ensayo.** Se dispensaron 4 ml de caldo nutritivo en el primer tubo de una serie de 14 tubos por producto evaluado. A los otros tubos se agregaron 2.4 ml de caldo nutritivo. Se pipetearon 0.4 ml de la solución analizada

(desinfectante), en el primer tubo. De los productos sólidos se utilizaron 0.4 g. Luego se mezclaron mediante un Vortex y se transfirieron 2 ml al segundo tubo. Se repitió este procedimiento en los siguientes tubos hasta el no. 12. Se descartaron 2 ml del tubo no. 12. El tubo no. 13 tenía el medio de cultivo y la solución (desinfectante). El tubo no. 14 solo tenía el medio de cultivo.

**Inóculo.** La cepa 201 (2)  $10^{-2}$ , aislada de suelo infectado con Moko, se sembró en medio de TZC, incubándose 24 horas a 35° C. Para la inoculación de los tubos de ensayo, se preparó una solución madre de buffer fosfato así: 34 gramos de fosfato monobásico de potasio en un litro de agua destilada. Luego se preparó 1.25 ml de solución fosfato buffer madre en un litro de agua destilada. De esta solución se dispensaron 9 ml en tubos de ensayo. En esta solución se preparó el inóculo, suspendiendo la bacteria en el buffer. La concentración se preparó a una absorbancia de 0.3 en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm. Con la cámara de Neubauer se determinó la concentración de  $2.1 \times 10^8$  bacterias/ml. Cada tubo se inoculó con 0.1 ml de la suspensión bacterial.

**Incubación y evaluación.** Se incubaron los tubos a 25° C con luz durante el día. Después de aproximadamente 60 horas se evaluaron los tubos por turbidez. De cada producto se sembraron varias replicas en medio de cultivo TZC para confirmar que la turbidez fue causada por *R. solanacearum*. Además se realizaron las pruebas químicas KOH y Oxidasa al crecimiento bacterial

## Resultados y Discusión

Se seleccionaron los desinfectantes más eficientes para el control de *Ralstonia solanacearum*, agente causal del Moko de plátano y banano

Formol, Koccide 101®, ácido fosfórico (80%), Ecolife®, Basamid® y ácido fosfórico (35%), fueron los más efectivos, teniendo en cuenta la concentración mínima inhibitoria (**Tabla 1**). Según los costos de cada producto, formol, Calfos, ácido fosfórico (35%), jugo de limón y Koccide 101 fueron los productos más efectivos. Calfos y jugo de limón fueron las opciones más ecológicas. Se recomienda evaluar estos desinfectantes en ensayos de invernadero y campo. Yodoformo, muy usado en el campo, es efectivo solamente a una concentración de 5% o mayor.

Los productos que se sugieren evaluar en el futuro son: semillas, zumo y cáscara de la toronja; sal; Long Life®; Phytol 27® (bactericida y fungicida sistémico); cloro para piscina (granulado); detergente Fab; lixiviado de limón; semilla de noni, entre otros.

**Tabla 1. Evaluación *in vitro* de 24 sustancias químicas por su acción inhibitoria de la bacteria *Ralstonia solanacearum*.**

No. cons.	Producto	Costo por unidad (US\$)	Concentración mínima inhibitoria	
			(%)	(US\$/L)
1	Formol	0.54/L	0.117	0.0006
2	Calfos®	0.06/50 kg	5	0.0029
3	Acido fosfórico (35%)	1.01/L	0.625	0.0063
4	Jugo de limón	0.18/L	5	0.0091
5	Koccide 101®	7.97/kg	0.156	0.0124
6	Thinner	0.58/L	2.5	0.0145
7	Acido fosfórico (80%)	10.87/L	0.156	0.017
8	Urea 46%	0.18/50 kg	10	0.0176
9	Blanqueador Patojito®	0.27/galon	10	0.0272
10	Ecolife®	29/L	0.234	0.0452
11	Basamid®	14.50/kg	0.322	0.047
12	Específico (Creolina)	4.08/galon	1.25	0.051
13	Agrodine®, expuesto a luz	9.24/L	1.25	0.1155
14	Yodoforo	10.87/L	5	0.5437
15	Yodoforo, expuesto a luz	10.87/L	5	0.5437
16	Lixiviado de plátano, liofilizado	7.25/100 g	10	0.7249
17	Agrodine®	9.24/L	10	0.9243
18	Solución de isodine	20.84/120 ml	10	2.0841
19	Costal de fique	0.18/kg	Sin control	-
20	Extracto de hojas de fique	0	Sin control	-
	Extracto de hojas de swinglea		Sin control	
21	(preparado en 50% etanol)	0		-
22	Lixiviado de plátano, fresco	0.36	Sin control	-
23	Planta lápiz	0.18/kg	Sin control	-
24	Semillas de limón	7.25/kg	Sin control	-

## Referencias

- Gálvez, G. y C. Lozano. 1974. Marchitamiento bacterial (Moko) del plátano y banano causado por *Pseudomonas solanacearum* y su control en Colombia. Revista ICA. Vol 9. No. 2 p. 137-157.
- Hanudin. 1997. Bacterial wilt in java: distribution, races, biovars, and its control. 2<sup>nd</sup> IBWS Congress 22-27 June 1997, Guadeloupe, French West Indies. Segunung Ornamental Research Station, Sindanglaya-Cianjur, Indonesia.

# MINIMA CONCENTRACION INHIBITORIA (MIC)

## ALCANCE

La eficacia inicial de los posibles agentes antimicrobianos pueden ser hallados por este procedimiento, el cual dá aproximaciones determinadas de la susceptibilidad del organismo utilizado a decrecientes concentraciones del producto analizado.

## PRINCIPIO

Los tubos de caldo contienen decrecientes concentraciones del producto a analizar que son inoculados con microorganismos. Despues de un adecuado período de incubación, los tubos son examinados por la presencia ó ausencia de crecimiento. La actividad del producto es la menor concentración en la cual es inhibido el crecimiento del microorganismo comparado con la actividad bactericida del Fenol al 5%.

## MEDIOS, DILUYENTES Y MICROORGANISMOS

Caldo tripticasa de Soya (TSB)  
Cajas de Tripticasa de Soya ó Agar Nutritivo  
Solución buffer fosfato  
Solución estandarizada de Fenol al 5%

Cultivos stock de microorganismos a utilizar  
Salmonella typhi  
Staphylococcus aureus  
Pseudomona aeruginosa  
Bacillus subtilis

## EQUIPOS Y MATERIALES

Tubos de ensayo 13 X 100 mm con tapa

Tubos 20 X 150 mm con tapa

Gradillas apropiadas

Pipetas 1 - 2 ml estériles

Dispensador automático 5.0 ml.

Incubadora 35 +/- 2°C

Incubadora 25 +/- 2°C

Baño María 46 +/- 2°C

Agitador

Balanza

Mechero Bunsen

Dispensador automático 0.1 ml

## PROCEDIMIENTO

### I. PREPARACION DE MEDIOS Y DILUYENTES

1. Prepare solución stock de buffer fosfato así: 34 gramos de Fosfato Monobásico de Potasio a un litro con agua destilada.

Luego prepare 1.25 ml de solución fosfato buffer stock a un litro con agua destilada. Dispense 9 ml en los tubos de 20 X 150 mm, esterilice y enfríe. Utilice esta solución para preparar las diluciones del inóculo.

2. Prepare caldo Trypticase de Soya de acuerdo a las instrucciones de la etiqueta.
3. Dispense 4 ml en el primer tubo para cada fila de 12 (12 tubos/muestra/organismo) y 2.4 ml de Trypticase de Soya en los tubos restantes de 13 X 100 mm. Esterilice y enfríe. Luego de autoclavarlos, los volúmenes serán de 3.6 ml y 2.0 ml respectivamente.
4. El agar tripticase de Soya y agar Nutritivo se preparan según las instrucciones de la etiqueta.
5. Fenol al 5%: Pese 50 gramos de Fenol en un beaker y disuelva en agua destilada; complete a un litro.

**Estandarización:** Estandarice con solución 0.1N de KBr-KBrO<sub>3</sub> como sigue: Transfiera 25 ml de solución stock de fenol a un balón de 500 ml y lleve a volumen con agua.

Transfiera una alícuota de 15 ml a un erlenmeyer, adicione 30 ml de solución de KBr-KBrO<sub>3</sub> y 5 ml de HCl. Tape inmediatamente, agite frecuentemente durante 30 minutos y deje reposar por 15 minutos más.

Remueva la tapa y adicione 5 ml de solución de KI al 20%. Tape inmediatamente para evitar que los vapores de Bromo escapen. Agite suavemente, retire la tapa y lávela con agua adicionando estos lavados al erlenmeyer. Titule con Tiosulfato de Sodio 0.1N usando almidón como indicador.

1ml KBr-KBrO<sub>3</sub> 0.1N = 0.001569 gramos Fenol

$$\% \text{ Fenol sln Stock} = \frac{(30 - \text{ml Tiosulf } 0.1\text{N}) 0.001569 \times 1333 \times 100}{1000}$$

30 = ml KBr-KBrO<sub>3</sub> 0.1N adicionado

0.001569 = gramos de Fenol equivalente a 1 ml de KBr-KBrO<sub>3</sub> 0.1N

1333 = Factor de dilución

1000 = Volumen original de solución stock de fenol

Si es necesario, ajuste la solución stock a una concentración entre 4.95 y 5.05% por adición de agua ó de Fenol. Conservese en frasco ambar, en frío y protegido de la luz.

**Preparación de KBr-KBrO<sub>3</sub> 0.1N:** Disuelva aproximadamente 2.8 gramos de KBrO<sub>3</sub> y 12 gramos de KBr en agua hervida y diluya a un litro para una solución aproximadamente 0.1N.

**Estandarización:** Transfiera 30 ml a un frasco y adicione 25 ml de agua, 5 ml de solución KI al 20% y 5 ml HCl. Agite suavemente y titule con Tiosulfato de Sodio 0.1N usando almidón como indicador.

$$N = \frac{\text{ml. Tiosulfato} \times N}{V (\text{bromuro bromato})}$$

## II. PREPARACION DE LOS MICROORGANISMOS PARA EL TEST

### A. BACTERIAS

1. Todos los organismos deben ser sometidos a un crecimiento en TSB por 24 horas a 35°C.

2. La turbidez del inóculo debe ser comparado con el tubo No. 1 de la escala de Mac Farland con solución buffer fosfato para luego realizar diluciones hasta  $10^{-3}$  del cultivo en la solución buffer fosfato.

Estas diluciones son preparadas así: 1 ml del cultivo madre (ya comparado con el tubo No. 1 escala Mac Farland), se lleva a un tubo con 9 ml de solución fosfato buffer; esta es una dilución  $10^{-1}$  y así consecutivamente hasta la dilución  $10^{-3}$ .

### III. PREPARACION DE MUESTRAS

- 1 Debido a que los valores encontrados son independientes de la concentración inicial, muestras líquidas pueden ser analizadas puras ó en alguna otra dilución, teniendo en cuenta multiplicar por el factor de dilución.
- 2 Mezclas duras como jabones deben ser diluidas primero.
- 3 El jabón es normalmente preparado en una solución al 10% como sigue:
  - a Rayar 5 gramos de jabón en un recipiente.
  - b Combine 1 gramo de jabón y 9 ml de agua destilada estéril en tubos de 20 X 150 mm.
  - c Coloque en un baño a  $47^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , agitando periódicamente hasta que el jabón se disuelva completamente.

NOTA: Mantenga la solución de jabón a esta temperatura para que no se solidifique.

### IV DILUCIONES

Utilice técnica aséptica.

- 1 Coloque una fila de 12 tubos de 13 X 100 mm en una gradilla preparados según el punto 3 del procedimiento I.
- 2 Pipetee 0.4 ml de la solución a analizar en el primer tubo de la fila de 12 (total volumen 4 ml).

- 3 Mezcle y transfiera 2 ml del primero al segundo tubo.
- 4 Repita este procedimiento en el resto de los tubos.
- 5 Descarte 2 ml del último tubo de la fila.
- 6 Inocule cada tubo con 0.1 ml (de ser posible, usar un pipeteador automático) del microorganismo diluido a  $10^{-3}$
- 7 Inocule un tubo control que contenga solamente medio de cultivo.
- 8 Incube los tubos por 48 horas a  $35^{\circ}\text{C}$  (*Pseudomonas* spp y levaduras se incuban a  $25^{\circ}\text{C}$ ). Cuando la solución inicial ha quedado turbia, despues de las 48 horas incubar en platos con agar nutritivo por 24 horas mas.
9. Paralelamente se analiza Fenol al 5% previamente estandarizado siguiendo el procedimiento anteriormente expuesto.
10. Cada análisis debe hacerse por lo menos por triplicado.

## V. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

1. El MIC se expresa en partes por millon (ppM) y es reportado como el último tubo en el cual no hay crecimiento (tabla 1) ó en los platos subcultivados.
2. El reporte de MIC es tomado del último tubo en el cual no hubo crecimiento o en los platos subcultivados.
3. El Fenol se reporta de la misma manera que la muestra analizada (ppM)
4. Se hace una comparación de las ppM del producto y las ppM del Fenol al 5%, las ppM del producto deben ser igual ó menor a las ppM del Fenol al 5%.

TABLA 1

Tubo #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.0 %	1000	500	250	125	62.5	31.2	15.6	7.8	3.9	1.9	1.0	0.5
2.0 %	2000	1000	500	250	125	62.5	31.2	15.6	7.8	3.9	1.9	1.00
5.0 %	5000	2500	1250	625	312.5	156.25	78.13	39.06	19.53	9.77	4.88	2.44
100 %	100000 ppm	50000	25000	12500	6250	3125	1563	781	391	195	98	49

### MIC Vs. INDICE DE FENOL

	MIC	INDICE DE FENOL
<b>COSTO POR ANALISIS</b>	\$1464,00	\$7017,00
<b>AHORRO DE TIEMPO</b>	10 minutos/muestra/bacteria	30 minutos/muestra/bacteria
<b>MATERIAL UTILIZADO</b>	12 tubos	42 tubos y frascos para diluciones
<b>VERSATILIDAD</b>	Utiliza producto concentrado y se diluye a medida que se vá haciendo el análisis	Se hacen diluciones previas y/o tentativas para encontrar el resultado
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>	El coeficiente de variación es cero	El coeficiente varia de manera notoria



## B10

### BACTERIAL WILT IN JAVA: DISTRIBUTION, RACES, BIOVARs, AND ITS CONTROL

**Hanudin**

Segunung Ornamental Research Station, P.O. Box 8, Sindanglaya-Cianjur, 43253, Indonesia.

---

Bacterial wilt of tomato occurs in several countries of Asia, Africa and America; and is capable of reducing production of tomato by up 90%. Study on distribution of races, biovars and its control was conducted at laboratory and greenhouse of Segunung Ornamental Research station (1,100 m asl) from 1993 to 1996. Isolates of *Ralstonia solanacearum* were collected from various agroecological regions of Java-Indonesia. Only two biovars sense Hayward, biovars 2 and 3, were found. Isolates of biovar 2 were found only on potato of Lembang-Bandung (1,250 m asl) and tomato of Landbouw-Cianjur (1,100 m asl). Biovar 3 isolates which were pathogenic to solanaceous crops were found in both the lowland and highland areas of Java. A biovar 4 isolate (ACH 319) collected from *Solanum nigrum* of Australia was used as a control. The altitude did not always affect the distribution of biovars. All of the isolates collected from lowland and most of the highland isolates were members of race 1, except isolate Pot 6 which was collected from potato in Lembang and belonged to biovar 2/race 3. ACH 114 from Australia was the check for race 3.

Amending soil using 428 kg/ha Urea + 5000 kg/ha CaO (at soil bulk density = 1 g/cm<sup>3</sup>) raised soil pH for each weekly observation. Population of *R. solanacearum* in amended Alluvial and Regosol soil, was gradually reduced till 35 days after amended (DAA), when the observation period was finished. Whereas on Andosol and Latosol the amendment was effective no more than 14 DAA and ineffective at 35 DAA. Among the treatments, Regosol and Alluvial soil incorporated with Urea+CaO at 3 weeks prior to transplanting, was effective in suppressing bacterial wilt in greenhouse.

Those treatments caused 80 and 50% suppression of bacterial wilt when compared to control. Whereas on Andosol and Latosol, Urea+CaO was not effective in suppressing wilt incidence of tomato.

[Welcome](#)

[Poster B](#)

[Scientific  
Program](#)

[Autor List](#)

[Contact Us](#)



## T25

### THE SUPPRESSION OF *RALSTONIA SOLANACEARUM* BY MARIGOLDS.

Terblanche J., de Villiers D.A.

Agricultural Research Council: Tobacco and Cotton Research Institute, Private Bag X82075, Rustenburg 0300, Republic of South Africa.

---

The purpose of this study was to evaluate likely rotational crops in the greenhouse for rhizosphere suppression of race 1 of *Ralstonia solanacearum*. When compared with pasture sorghum, soybeans, cotton, tef, Mexican marigold and pyrethrum, African/French marigolds (*Tagetes erecta/patula*) produced the best results. When planted in a container with a susceptible tobacco cultivar the marigolds not only reduced the pathogen population in the soil, but also prevented the tobacco plants from developing symptoms.

HPLC tests confirmed that the roots of French marigolds (*Tagetes patula*) contain and excrete butenylbithiophene (BBT) and acetoxybutenylbithiophene (BBTOAc). These thiophenes are natural broad spectrum biocides which act as fungicides, bactericides and nematocides.

*In vitro* tests with the extracted BBT and BBTOAc confirmed the inhibitory effect that the two thiophenes have on *R. solanacearum*.

The accumulation of secondary metabolites in plant tissue can, in some cases, protect the host against the penetration of plant parasites.

[Welcome](#)

[Biological  
Control](#)

[Scientific  
Program](#)

[Autor List](#)

[Contact Us](#)



## T27

### MANAGING BACTERIAL WILT OF TOMATO THROUGH HOST RESISTANCE AND VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAE

Sood A.K., Kalha C.S., Prarashar A.

Himachal Pradesh Krishi Vishvavidyala, Department of Plant Pathology, Palampur 176062 (H.P.), India.

Tomato germplasm received from national and international sources was subjected to rigorous screening against race 1 biovar III of *Ralstonia solanacearum*. The cultivars/lines were preliminarily screened by the rapid method of Kishun and Chand (1988). The resistant entries so found were subsequently evaluated by growing in a wilt infested plot at Palampur (India) during 1994 to 1996.

The entries BWR-5 (FR), BT-18, LE-79, BL-312, Hawaii 7996 (USA), Hawaii 7998 (USA and Japan), BF-Okitsu 101 (Japan), CRA 66 (Guadeloupe), Rodade (Australia), R 3034-3-10-N-UG (Philippines), TML-114-85-5-N Spreading (Philippines), TML-46-N-12-N early NT (Philippines), and Caraibo (Guadeloupe) were found to have stable resistance (<10% BW) even under high temperature as compared to 100 per cent incidence in the susceptible cultivars Roma and L 390.

Five isolates of vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) were also evaluated for control of bacterial wilt in a nursery, tomato cv. Roma was raised in 15 cm plastic pots containing VAM enriched soil. Plants raised in sterilized soil without VAM served as control. *Glomes mosseae* was found to be highly effective in promoting germination seedling vigour and completely controlling the disease till the termination of a potted experiment 48 days after challenge inoculation with *R. solanacearum* (race 1/biovar III) followed by *G. fasciculatum* in which disease appeared after 35 days of challenge inoculation and 100 per cent wilt occurred after 44 days. In the control treatment seed germination and seedling vigour were poor and wilt started appearing just after 14 days of challenge inoculation and all the plants completely wilted after 20 days. In the remaining VAM isolates the appearance of disease symptoms was delayed for 20-22 days and complete wilting was obtained after 32-38 days of challenge inoculation. Efforts to integrate disease resistance with VAM have been initiated.

[Welcome](#)

[Biological  
Control](#)

[Scientific  
Program](#)

[Autor List](#)

[Contact Us](#)



## T28

### EFFICACY OF BOTANICALS AND HEAT KILLED CELLS OF *RALSTONIA SOLANACEARUM* AGAINST BACTERIAL WILT *IN VITRO* AND IN THE FIELD

Singh R.

Indian Institute of Horticultural Research. Division of Plant Pathology. Hessaraghatta Lake post, Bangalore-89, India.

---

Various botanicals viz. Garlic (*Allium sativum*), Neem (*Azardicta indica*), Pongamia (*Pongamia glabra*), Castor (*Ricinis communis*), and heat killed cells of *Ralstonia solanacearum* were tested for their efficacy *in vitro* and in the field against *R. solanacearum*. Autoclaved and unautoclaved extracts of garlic pods, neem leaves, neem seeds, deoiled cakes of neem, pongamia and castor were tested *in vitro* at 1.2 and 5% by zone inhibition method. In the field efficacy of these products was seen on tomato cv Pusa Ruby in a wilt infested plot. Tomato seeds were pretreated for 15 mn in 5 and 10% aqueous extracts of various botanicals before sowing in the nursery. Heat killed cells of *R. solanacearum* in aqueous suspension of O.D. 0.8 and 0.9 were also used as seed treatments. Month old seedlings from this nursery were planted in a wilt infested plot after pretreating their roots with the above treatments for 15 mn. Incidence of wilt was noted. Autoclaved extracts of all the botanicals except neem leaves showed antibacterial activity *in vitro*. Best control of bacterial wilt (64% over check) in the field was obtained with 10% garlic pod extract and with heat killed cells of *R. solanacearum* (O.D. 0.9). Neem seed extracts also gave considerably good control (52-54% over check) of bacterial wilt. Various cakes performed poorly.

 [Welcome](#)

 [Biological Control](#)

 [Scientific Program](#)

 [Autor List](#)

 [Contact Us](#)



## T29

### THE DEVELOPMENT OF A BIOLOGICAL CONTROL AGENT AGAINST *RALSTONIA SOLANACEARUM* RACE 3 IN KENYA.

Smith J.J.<sup>1</sup>, Offord L.C.<sup>1</sup>, Kibata G.N.<sup>2</sup>, Muimi Z. K.<sup>2</sup>, Trigalet A.<sup>3</sup>, **Saddler G.S.<sup>1</sup>**.

<sup>1</sup> International Mycological Institute, Egham, Surrey, United Kingdom.

<sup>2</sup> Kenyan Agricultural Research Institute, Nairobi, Kenya.

<sup>3</sup> Institute National de la Recherche Agronomique, Toulouse, France.

In Kenya, potato cultivation occurs between 1200 and 2800m over an area of 75000-100000 ha per year. Socio-economic pressures result in near continuous potato cultivation in these areas and losses due to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2-A) have been serious in recent years. Accordingly, control strategies that are affordable to the farmer are urgently required. This research addresses the potential of biological control of bacterial wilt in Kenya by pre-inoculation with non-pathogenic mutants of the wild type organism.

From a survey of *R. solanacearum* race 3 comprising 46 isolates from Kenya, 10 isolates were selected for development as biocontrol agents against the wild type by mutation to non-pathogenic forms. Selection was based on a multi-faceted approach evaluating siderophore, bacteriocin, pectinase and cellulase production by agar plate methods, pathogenicity and genomic fingerprinting by macro-restriction analysis; the fragments resolved by pulsed field gel electrophoresis. Whereas agar plate and pathogenicity assessments proved poorly discriminatory, the genomic fingerprinting revealed hitherto unrealised genetic diversity within *R. solanacearum* race 3 that allowed a rational selection of Kenyan isolates for mutagenesis. Non-pathogenicity was induced by one of two methods 1) Transformation by a omega ( $\Omega$ ) interposon that shared homology to the *hrp* region; 2) Sequential insertion and forced eviction of the *sacB* gene of *Bacillus subtilis*. Preliminary biocontrol assessments under growthroom conditions recorded a significant level of protection, with a delay in disease onset of 50%.

[Welcome](#)

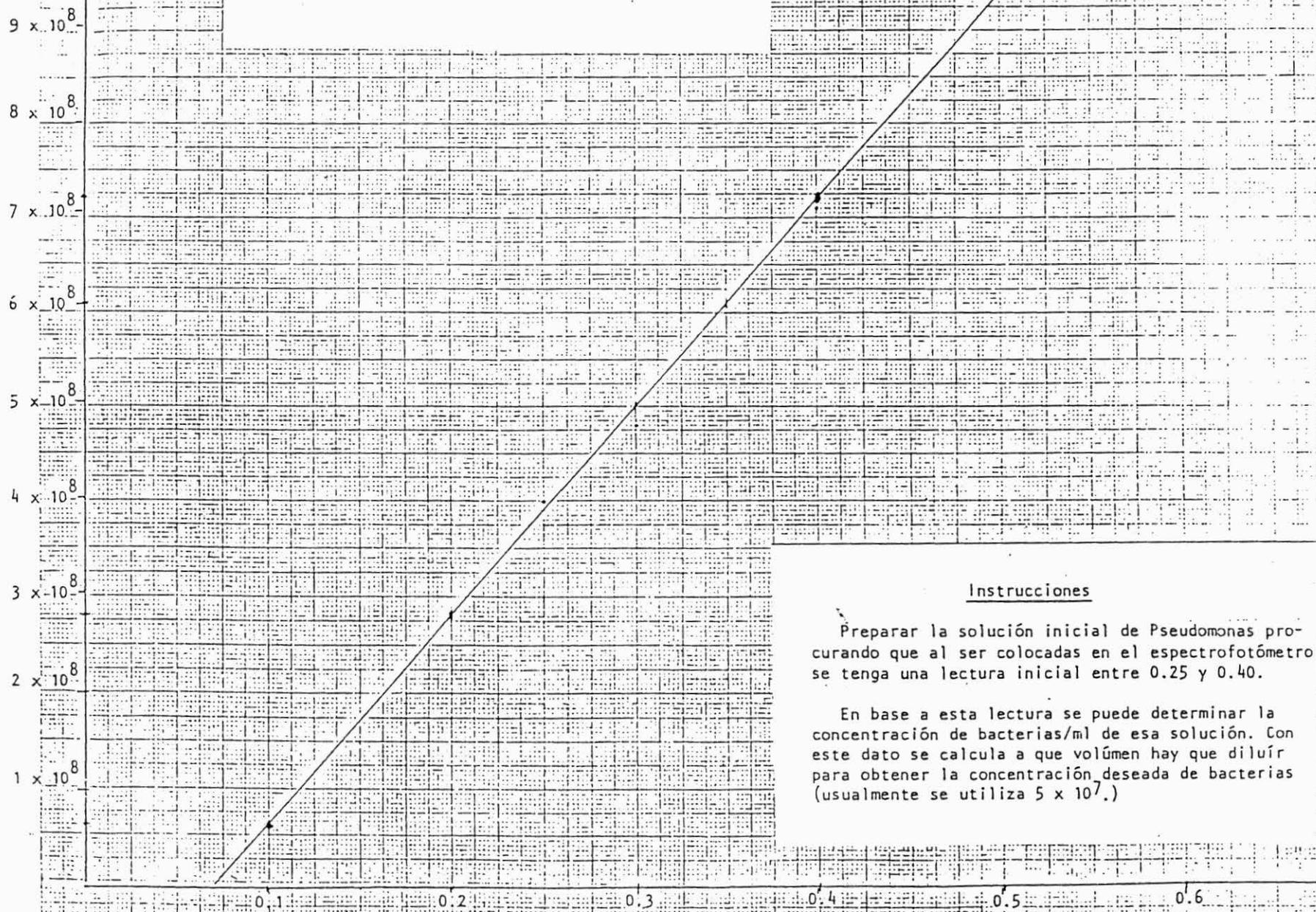
[Biological  
Control](#)

[Scientific  
Program](#)

[Autor List](#)

[Contact Us](#)

Concentración bacterias/ml Vs lectura espectrofotómetro



#### Instrucciones

Preparar la solución inicial de Pseudomonas procurando que al ser colocadas en el espectrofotómetro se tenga una lectura inicial entre 0.25 y 0.40.

En base a esta lectura se puede determinar la concentración de bacterias/ml de esa solución. Con este dato se calcula a que volúmen hay que diluir para obtener la concentración deseada de bacterias (usualmente se utiliza  $5 \times 10^7$ .)

## EFFECT OF GREEN MANURE, ORGANIC MANURE AND CHEMICALS ON THE INCIDENCE OF BACTERIAL WILT (*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*) IN POTATO

D.B.KELANIYANGODA, S.K.THARMARAJAH<sup>1</sup> AND L.G.HERAT<sup>2</sup>  
Regional Agricultural Research and Development Centre, Bandarawela.

### ABSTRACT

On-station and on-farm experiments were conducted at the Regional Agricultural Research and Development Centre, Bandarawela and a farmer's field at Bindunuwewa, during Yala 1993-Yala 1997 period to investigate the feasibility of environment-friendly integrated management of bacterial wilt [*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*] disease in potato. Soil amendments such as Walsuriyakantha (*Tithonia diversifolia*) (10t/ha) + CaO (2t/ha)+ Urea (200 kg N/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) + Cowdung (10t/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) + Poultry manure (10t/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) alone could suppress bacterial wilt [*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*] disease in potato cultivation.

KEY WORDS :- Amendments, Disease incidence, Integrated disease management

### INTRODUCTION

Potato and tomato are major cash crops grown in the upcountry of Sri Lanka. The total extent cultivated is estimated at 9,500 ha and 4,500 ha, respectively. These two crops are popular among the farmers and are grown at least once in the cropping sequence in this region. The major problem confronted by the potato farmers is bacterial wilt caused by *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*. This disease is widespread all over the upcountry region. The yield loss due to bacterial wilt varied from 5-25%, thus incurring heavy financial losses to the farmers. Bacterial wilt is an economically important disease affecting a wide range of hosts of high commercial value. The disease is particularly serious in tropical and subtropical environments.

Present address: <sup>1</sup> Regional Agricultural Research and Development Centre, Makandura

Present address: <sup>2</sup> Horticultural Research and Development Institute, Gannoruwa, Peradeniya

*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* is a soil-borne pathogen which can persist for considerable periods of time in many different soil types around the world (Kelman, 1953; Buddenhagen and Kelman, 1964; Hayward, 1991). Control of bacterial wilt is difficult because the pathogen is soil-borne and has a wide host range covering 44 families of plants (Hayward, 1991).

The use of resistant varieties, sanitation, crop rotation, alternation of cultural practices, selection of disease-free planting materials, and more recently the use of microbial antagonists are some of the bacterial wilt management practices.

Bacterial wilt resistance in plants is controlled genetically. Trigalet and Demery (1990) reported the involvement of oligogenes which conferred resistance to *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*. However, the genetic basis of resistance breaks down due to changes in the host or pathogen under conditions of high temperature (Mew and Ho, 1977). The effect of location as well as the location x variety interaction have been shown to be highly significant in a multiplication evaluation conducted in South Asia (Hanson and Wang, 1996).

The use of microbial antagonists has been noted as a promising control strategy. Biological control has an immense potential in management of bacterial wilt. The basic idea in biological control is to utilize a rhizosphere colonizer that would antagonize *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* at the root infection site which would result in reduced infection (Schroth and Hancock, 1982; Chen and Ehandi, 1984; Weller, 1988; Trigalet *et al.*, 1994; Holloway, 1995). Avirulent mutants of *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* have been used in the biological control of bacterial wilt (Kempe and Sequeira, 1983; McLaughlin and Sequeira 1988; Trigalet and Demery, 1990; Hayward, 1991). Certain bacteria like *P. fluorescens*, *Bacillus polymyxa* and *Bacillus* spp. and Actinomycetes have been found to delay the development and reduce incidence of bacterial wilt (Nesmith and Jenkins, 1985; Aspira and Cruz, 1986; Liao 1989; Anuratha and Gnanamanikam, 1990; Hsu *et al.*, 1992).

In addition to the above control measures, the use of soil amendments with organic matter has been adopted for controlling certain soil borne diseases, including bacterial wilt (Sun and Huang, 1985; Chang and Hsu, 1988; Hartman *et al.*, 1993; French, 1994).

The primary objective of this study was to develop a suitable environment-friendly integrated management strategy for control of bacterial wilt in potato. In this context, on-station experiments and on-farm technology adaptation trials were conducted and are reported in this paper.

## MATERIALS AND METHODS

### On-station research

#### Experiment-1 Yala 1993 and Yala 1994

The experiment was carried out at the Regional Agricultural Research and Development Centre, Bandarawela research field over two seasons viz. Yala 1993 and Yala 1994. The field was already infested with bacterial wilt at the commencement of the experiment. The treatments consisted of different green manure, organic manure and chemicals and their combinations (Table 1).

Table 1. Details of treatments - Yala 1993 and Yala 1994

Treatment	Application Rate
Walsuriyakantha ( <i>Tithonia diversifolia</i> ) (WS)	1kg/m <sup>2</sup>
Walsuriyakantha + Cowdung (CD)	1kg +1kg/m <sup>2</sup>
Sun hemp ( <i>Crotalaria juncea</i> L.) (SH)	1kg/m <sup>2</sup>
Sun hemp + Cowdung	1kg +1kg/m <sup>2</sup>
Walsuriyakantha + CaO (CO) + Urea (U)	1kg +200 g + 20g/m <sup>2</sup>
Sun hemp + CaO + Urea	1kg +200 g + 20g/m <sup>2</sup>
Untreated control	-

Note: Method of application: Treatments 1-4 were applied to the furrows 7 days before planting and treatments 5 and 6 were applied to the furrows 14 days before planting whereas urea was incorporated at planting.

The experiment was done in a randomized complete block design with four replications. The plot size adopted was 3.0 x 2.5m. The recommended fertilizers 190kg/ha urea, 330kg/ha superphosphate and 190 kg/ha, muriate of potash were applied as basal. Urea and Muriate of Potash were applied one month after planting and a top dressing mixture @ 190kg/ha and 196 kg/ha, respectively, one month after

planting. Seed size (28-55mm) tubers of the potato variety 'Desiree' were planted at a spacing of 45 cm x 25 cm. All the plots were kept completely weed free. Hilling was done 4 weeks after planting. Supplementary irrigation was provided whenever necessary. The control of pests and diseases other than bacterial wilt was carried out as recommended by the Department of Agriculture.

Potato plants infected with bacterial wilt were counted at weekly intervals starting from emergence (two weeks after planting). Tuber weights of diseased and healthy plants were also recorded.

#### Experiment -2 Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997

Based on the findings from Experiment -1, Experiment-2 was designed with slight modification in the treatment structure as detailed in Table 2 and carried out in a naturally bacterial wilt infested research field at the Regional Agricultural Research and Development Centre, Bandarawela during Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997 seasons. The other experimental details were the same as for Experiment-1.

Table 2. Details of treatments - Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997

Treatment	Application Rate
1. Walsuriyakantha ( <i>Tithonia diversifolia</i> )	1kg/m <sup>2</sup>
2. Walsuriyakantha + Cowdung	1kg +1kg/m <sup>2</sup>
3. Walsuriyakantha + CaO+ Urea	1kg +200 g + 20g/m <sup>2</sup>
4. Walsuriyakantha + Poultry manure (PM)	1kg +1kg/m <sup>2</sup>
5. Untreated control	-

Note: Method of application: Treatments 1-2 and 4 were applied to the furrows 7 days before planting and treatment 3 was added to the furrows 14 days before planting whereas urea was incorporated at planting.

#### B. On-farm technology adaptation trials

An on-farm technology adaptation trial was conducted over two seasons (Yala 1995 and Yala 1996) in a naturally bacterial wilt infested farmer field at Binduunuwewa. The technology adaptation trial details were same as for Experiment-2.

RESULTS

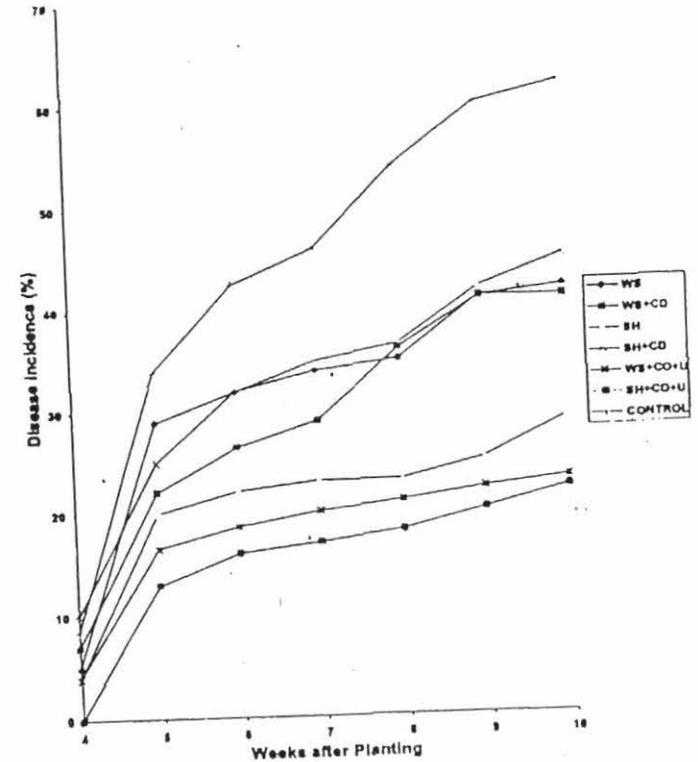
A. On-station research

Experiment- 1 Yala 1993 and Yala 1994

Untreated plants showed the highest percent wilting of 62% and 51% in 1993 Yala and 1994 Yala respectively. The disease incidence was drastically minimized by SH+CO+U treatment in 1993 Yala (22%) and 1994 Yala (18%) (Figs. 1 & 2). It was also evident that there was no significant difference in bacterial wilt suppression between the treatments WS+CO+U, SH and SH+CO+U in 1993 Yala. In 1994 Yala, treatment SH+CD showed a similar performance to the other three treatments WS+CO+U, SH and SH+CO+U. The treatments WS+CO+U, SH and SH+CO+U suppressed wilt incidence at 9 weeks after planting to 22-29% and 18-25% in 1993 Yala and 1994 Yala, respectively. It was evident that these treatments were more effective in bringing down the bacterial wilt disease incidence. Based on the above results, treatments that showed better bacterial wilt suppression were re-tested during Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997 in Experiment -2.

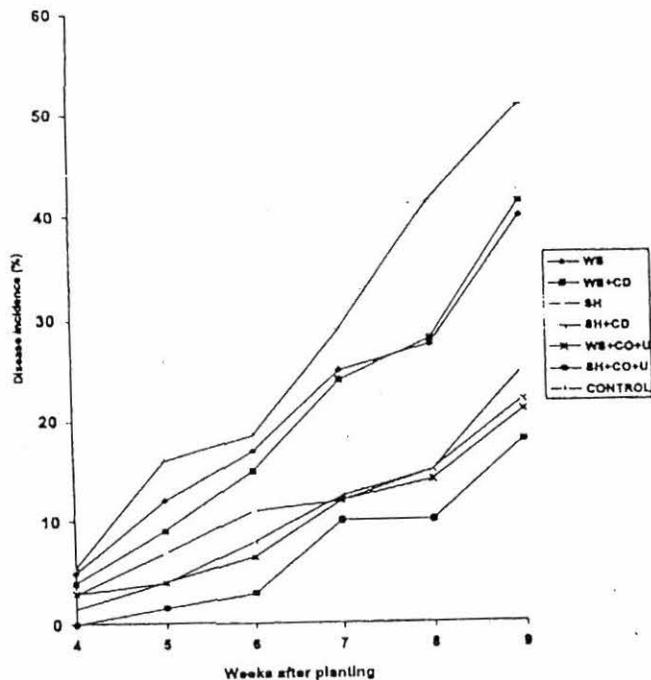
Experiment -2 Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997

Although results of Experiment -1 carried out in Yala 1993 and 1994 showed that combinations of SH+CO+U lowered the bacterial wilt incidence significantly, Sunhemp was not used in experiment -2 as the plant material was not readily available unlike Walsuriyakantha which is commonly available in this region. Untreated potato plants showed the highest wilt incidence of 38.5%, 35.7% and 40.5% in Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997 respectively (Table 3). Wilt incidence was very low under treatment WS+CO+U in Yala 1995 (10.3%), Yala 1996 (8.6%) and Yala 1997 (8.9%). There were no significant differences in bacterial wilt incidence among the other treatments (WS, WS+CD and WS+PM) the wilt incidence ranging from 10.3% to 15.2%, 8.6% to 12.6% and 8.9% to 13.5% in Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997 planting respectively. In all the seasons the treatments did not influence the tuber yield significantly (Table 3).



WS-Walsuriyakantha; CD-Cowdung; SH-Sunhemp; CO-Calcium Oxide; U-Urea

Fig. 1. The effect of green manure, organic manure and chemicals on the incidence of bacterial wilt (Yala, 1993) at Regional Agricultural Research Development Centre, Bandarawela



WS-Walsuriyakantha; CD-Cowdung; SH-Sunhemp; CO-Calcium Oxide; U-Urea

Fig. 2. The effect of green manure, organic manure and chemicals on the incidence of bacterial wilt (Yala, 1994) at Regional Agricultural Research & Development Centre, Bandarawela)

Table 3. Bacterial wilt disease incidence and tuber yield of different treatments at the Regional Agricultural Research & Development Centre, Bandarawela during Yala 1995, Yala 1996 and Yala 1997.

Treatment	Disease incidence (%)			Arc. Sin <sup>1/2</sup> % transformation			Mean tuber yield (t/ha)		
	Yala 95	Yala 96	Yala 97	Yala 95	Yala 96	Yala 97	Yala 95	Yala 96	Yala 97
Walsuriyakantha	15.2	11.0	12.0	22.9	19.4	20.3	8.5	8.5	9.0
Walsuriyakantha + Cowdung	13.2	12.6	13.5	21.7	20.7	21.6	9.0	8.9	9.5
Walsuriyakantha + CaO + Urea	10.3	8.6	8.9	18.7	17.0	17.4	9.5	10.3	10.7
Walsuriyakantha + Poultry manure	12.5	9.3	10.5	20.7	17.8	18.9	9.2	10.5	10.3
Untreated control	38.8	35.7	40.5	38.4	36.7	39.5	7.3	7.5	7.0
LSD (P=0.05)				12.7	8.1	10.5	NS	NS	NS
CV(%)				13.2	14.5	12.5	12.7	13.5	13.0

#### B. On-farm technology adaptation trial

The treatments that showed better bacterial wilt suppression were tested over two seasons viz. 1995 Yala and 1996 Yala in the farmer fields which were naturally infested with bacterial wilt.

Untreated potato plants showed the highest wilt incidence of 30% and 35.5% in Yala 1995 and Yala 1996, respectively whereas WS+CO+U treated plants exhibited 9.2% and 8.7% in Yala 1995 and Yala 1996, respectively (Table 4). There were no significant differences in bacterial wilt incidence among the other treatments tested (WS, WS+CD and WS+PM). The treatments did not significantly influence the tuber yields.

Table 4. Bacterial wilt disease incidence and tuber yields of different Treatments in farmer's field at Bindunuwewa-Yala 1995 and 1996

Treatment	Disease incidence (%)		Arc. Sin <sup>1/2</sup> % transformation		Mean tuber yield (t/ha)	
	Yala 95	Yala 96	Yala 95	Yala 96	Yala 95	Yala 96
Walsuriyakantha	12.8	13.7	20.3	21.7	23.9	20.2
Walsuriyakantha + Cowdung	10.8	11.5	18.5	19.8	24.1	21.5
Walsuriyakantha + CaO + Urea	9.2	8.7	17.9	17.2	26.2	23.2
Walsuriyakantha + Poultry manure	10.5	10.0	18.4	18.9	24.3	22.2
Untreated control	30.0	35.5	31.2	36.5	14.5	16.3
LSD (P=0.05)			9.5	10.3	NS	NS
CV(%)			12.5	13.2	15.5	16.0

## DISCUSSION

Sunhemp as a green manure reduced the bacterial population after 4 weeks of incubation at 2, 6 and 10% rates of incorporation. Inoculated plants wilted and died after the second week without amendment, but survival was 90% and 100% from 6% and 10% amendments (Hartman *et al.*, 1993).

GIP (1989 and 1990) also reported that amending with calcium oxide (2t/ha), urea (200kg/ha) and composted sugar cane bagasse (10t/ha) retarded the development of bacterial wilt in the field. Adding CaO or MgO at a rate of 5t/ha affected the survival of *Ralstonia solanacearum*, but decreased the pathogen population to an undetectable level only when combined with Urea (Michel *et al.*, 1997). Urea alone did not reduce *Ralstonia solanacearum* in soil. A similar synergistic effect of CaO and urea was found by Elphinston and Aley (1993). The percentage of wilt of a susceptible potato line was lower when soil was amended with both components rather than with CaO or urea alone. Hsu and Chang (1989) reported that when different

components of the S-H mixture were added to soil, only urea as a single component decreased the *Ralstonia solanacearum* population to an undetected level, but for this effect more time was needed than when the complete mixture was applied. When urea and mineral ash (with 44% CaO) were combined, the effect was the same as in the original S-H mixture. Based on all these statements, it appears that the most effective control of bacterial wilt is when urea and lime are applied together. The suppressive effect of the soil amendment on the *Ralstonia solanacearum* population was probably due to the generation of one or several toxic substances during the transformation of CaO in the presence of urea (Michel *et al.*, 1997).

The increase in total population of bacteria in green manure amended soil could be the contributing factor in suppressing *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* (Schroth and Hancock, 1982; Bandara, 1984; Hsu and Chang, 1989, Kelaniyangod 1992; French 1994).

Bacterial wilt disease could not be completely controlled by using green manure, organic manure and chemicals. However, from the on-station and on-farm research studies conducted during the period yala 1993 to Yala 1997, some green manure, organic manure and chemicals were identified as bacterial wilt *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* suppressers. In particular, addition of Walsuriyakantha (*Tithonia diversifolia*) (10t/ha) + CaO (2t/ha) + Urea (200 kg N/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) + Cowdung (10t/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) + Poultry manure (10t/ha) or Walsuriyakantha (10t/ha) alone could reduce the bacterial wilt [*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*] incidence in the potato cultivation.

Although the tuber yield differences were not significant among the treatments which suppressed the bacterial wilt substantially in on-station and on-farm trials, the information generated in these studies is useful in seed potato programmes to produce disease-free seed materials under tropical environment.

## CONCLUSIONS

Complete control of bacterial wilt [*Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum*] disease in potato is difficult to achieve in the Bandarawela region (UCIZ). However, the results of the studies suggest that a substantial level of bacterial wilt suppression could be achieved through the soil amendments used in these studies.

ACKNOWLEDGMENTS

I wish to express my sincere appreciation to Dr. (Mrs.) K.K.S.Fernando, DDR, Bandarawela for her guidance and encouragement provided during the study period. I take this opportunity to thank Miss H.M.Tennakoon and Mr.V.M.Sumanasena for the assistance given to me in the laboratory and field work. I am also indebted to Mrs. N.K.P.K. Nagasinghe for her conscientious computer typing of the report. I gratefully acknowledge the financial assistance given by the CARP for conducting the studies.

REFERENCES

- Anuratha, S.C. and S.S. Guanamanickam, 1990. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in India with antagonistic bacteria. *Plant and Soil* 124:109-116.
- Aspira, R.B. and R.A. Cruz dela. 1986. Bio control of bacterial wilt in tomato and potato through pre-emptive colonization using *Bacillus polymyxa* FU 6 and *Pseudomonas Fluorescens*. *Philipp. J.Crop Sci.* 11(1):1-4.
- Bandara, J.M.R.S. 1984. Effect of chemical treatments and incorporation of organic matter on the pathogenicity and survival of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) in soil. *J. Natl. Sci. Coun. Sri Lanka*. 12 (2): 223-233.
- Buddenhagen, I.W. and A. Kelmán. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2:203-230.
- Chang, M.L. and S.T. Hsu. 1988. Suppression of bacterial wilt of tomato by soil amendments. *Plant Prot. Bull. (Taipei)* 30:349-359.
- Chen, W.Y. and E. Echandi 1984. Effect of a virulent bacteriocin; Strains of *Pseudomonas solanacearum* on the control of bacterial wilt of tobacco. *Plant Pathol.* 33:245-253.
- CIP. 1989. Bacterial wilt disease of potato. pp39-43. Annual Report, Apartado, 5969, Lima, Peru.
- CIP. 1990. Control of bacterial and fungal disease. pp31-45. Annual Report, Apartado, 5969, Lima, Peru.
- Elphinston, J.G. and P. Aley 1993. Integrated control of bacterial wilt of potato in the warm tropics of Peru. pp273-276 Proceedings of an International Conference on Bacterial Wilt. 28-31 October 1992. Kaohsiung, Taiwan.
- French, E.R. 1994. Strategies for Integrated Control of Bacterial wilt of potatoes. *In* Bacterial wilt: The disease and its causative agent *Pseudomonas solanacearum*. Eds. A.C. Hayward and G.L. Hartman. pp199 - 207. CAB International, Wallingford.

EFFECTS OF MANURE AND CHEMICALS ON BACTERIAL WILT OF POTATO

- Hanson, P.M. and J.F. Wang. 1996. Variable reaction of tomato lines to bacterial wilt evaluated at several locations in Southeast Asia. *Hort. Sci.* 31:143-146.
- Hartman, G.L., W.F. Hong, Hanudin and A.C. Hayward, 1993. Potential of biological and chemical control of bacterial wilt. pp322-326. Proceedings of an International Conference on Bacterial Wilt. 28-31 October, 1992. Kaohsiung, Taiwan.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. phytopathol.* 29:65-87.
- Holloway, B.W. 1995. Techniques and potential for biological control of *Pseudomonas solanacearum*. Integrated management of bacterial wilt. pp59-63. Proceedings of the International Workshop. 11-16. October 1993, New Delhi, India.
- Hsu, S.T. and M.L. Chang. 1989. Effect of soil amendments on survival of *Pseudomonas solanacearum*. *Plant Proct. Bull.* 31:21-33.
- Hsu, S.T., C. Chen, H.Y. Liu and K.C. Tzeng. 1992. Colonization of roots and control of bacterial wilt of tomato by *Fluorescent pseudomonas*: Programme and Abstracts. International Bacterial Wilt symposium. 28-31 October, 1992.
- Kelaniyangoda, D.B. 1992. Study of microflora in green manure amended soil and select antagonists against bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. p64-73. SAVERNET Bacterial Wilt Training Course, AVRDC, Taiwan.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. p194. North Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 99.
- Kempe, J. and L. Sequeira, 1983. Biological control of Bacterial Wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant Dis.* 67:499-503.
- Liao, C.H. 1989. Antagonism of *Pseudomonas putida* strain pp22 to phytopathogenic bacteria and its potential use as a biocontrol agent. *Plant Dis.* 73:223-226.
- McLaughlin, R. J. and L. Sequeira, 1988. Evaluation of an virulent strain of *Pseudomonas solanacearum* for biological control of Bacterial Wilt of potato. *Am. Potato J.* 65:255-268.
- Mew, T.W. and W.C.Ho. 1977. Effect of soil temperature on resistance of tomato cultivars to bacterial wilt. *Phytopathology.* 67 (1): 909-911.
- Michel, V.V., J.F. Wang, D.J. Midmore and G.L. Hartman. 1997. Effect of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide in the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathol.* 46:600-610.
- Nesmith, W.C. and S.F. Jr Jenkins. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. *Phytopathol* 75:1182-1187.
- Schroth, M.M. and J.G. Hancock. 1982. Disease-suppressive soil and root colonization bacteria. *Science* 216: 1376-1381.

- Sun, S.K. and J.W. Huang. 1985. Formulated soil amendment for controlling fusarium wilt and soil-borne disease. *Plant Dis.* 69:917-920.
- Trigalet, A. and D.T. Demery. 1990. Use of avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum* for the biological control of bacterial wilt of tomato plants. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* 67 (1): 909-911.
- Trigalet, A., P. Grey and D. Trigalet-Demery., 1994. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*; State of the Art and Understanding. *In* Bacterial Wilt. The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Eds. A.C. Hayward and G.L. Hartman pp225-233. CAB International, Wallingford.
- Weller, M.D. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.

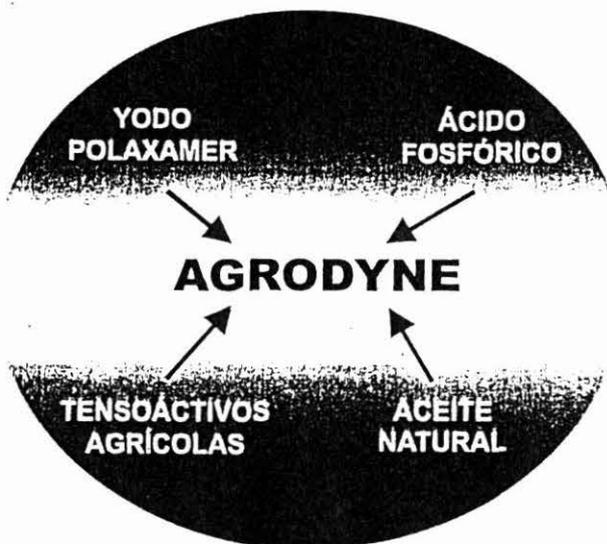
# AGRODYNE SL



## FUNGICIDA BACTERICIDA

REGISTRO ICA 2418

"El mejor microbicida con la adecuada tecnología para aplicaciones Agrícolas"



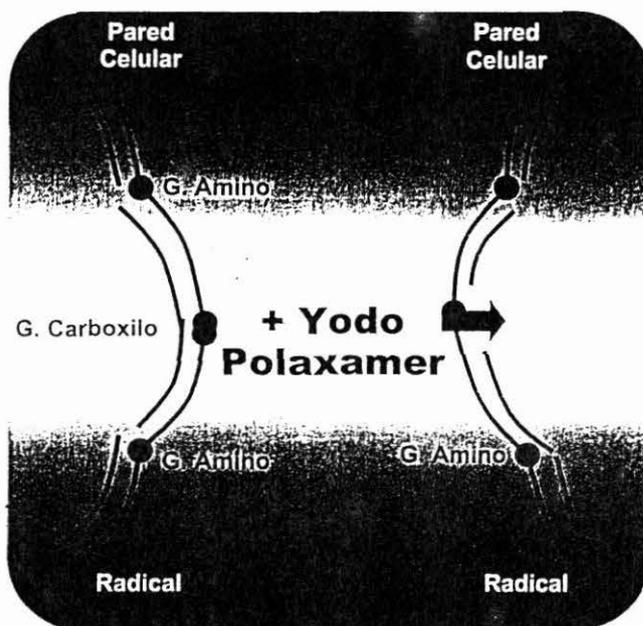
El Ingrediente activo de **AGRODYNE** actúa por Oxido-Reducción de la pared celular de los microorganismos con los que hace contacto, causando su muerte, por lo tanto controla las formas perfectas e imperfectas de los hongos y bacterias, con las que entra en contacto.

**AGRODYNE** actúa de la misma forma sobre las estructuras reproductivas, de los hongos (esporas, esporangios, ascosporas, conidias, conidioforos, oidios, basidiosporas), evitando de este modo la dispersión de la enfermedad y erradicando los patógenos.

**AGRODYNE** Es una solución concentrada de yodo POLAXAMER, con acción fungicida y bactericida para el control de patógenos en material vegetal, medios de siembra, herramientas, utensilios, y aguas de postcosecha.

1 Litro de **AGRODYNE** contiene:  
 Complejo Yodo Polietoxi-Polipropoxi  
 Polietoxi Etanol ..... 132 g/L.  
 Acido Yodhidrico..... 15.9 g/L  
 Ingredientes Inertes y Aditivos.....852.1 g/L.

Esta fórmula provee un 2% de yodo disponible.



La tecnología empleada para la formulación de **AGRODYNE** le confiere al producto estas ventajas en su aplicación agrícola:

➤ **AGRODYNE** controla gran número de microorganismos patógenos, su acción Fungicida - Bactericida lo hace especialmente efectivo para combatir las enfermedades complejas como el Duning - Off, o mal de semilleros.

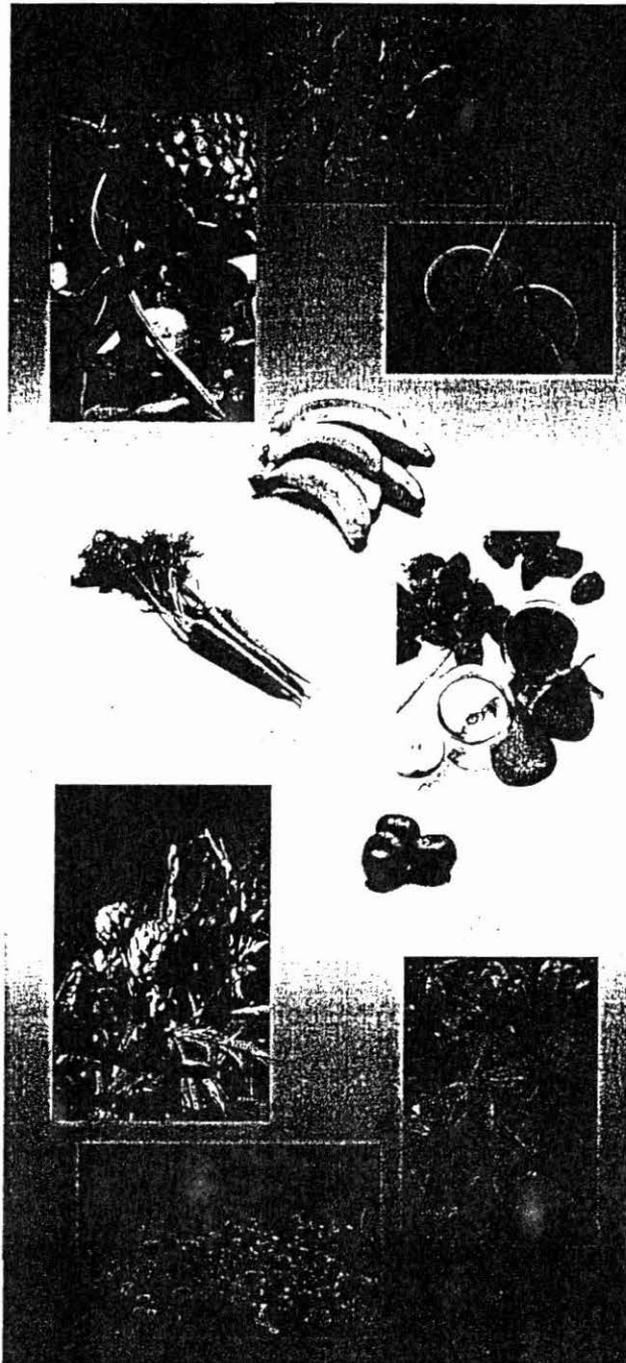
➤ **AGRODYNE** tiene tensoactivos específicamente recomendados para aplicaciones agrícolas y calificados como biodegradables.

➤ **AGRODYNE** contiene yodo Polaxamer, que lo hace infinitamente soluble y evita el riesgo de acumulación del ingrediente activo en el perfil del suelo.

Esta alta solubilidad hace que el **AGRODYNE** pueda aplicarse en tratamientos de postcosecha a frutas o flores con un periodo de carencia segura para el consumidor final.

**AGRODYNE** en solución acuosa no mancha el tejido vegetal ni las estructuras reproductivas como flores o frutas, tampoco la piel ni las vestimentas de las personas que tengan contacto con ésta solución.

**AGRODYNE** en solución de 0.5 cc por litro para uso en tratamiento de postcosecha mantiene el pH de la solución de 2.5 a 3.5 lo que facilita una mejor hidratación de las flores de exportación.



# CONTROLA

## HONGOS PATÓGENOS COMO SEGÚN ALEXOPOULOS

<i>Botrytis cinerea</i>	podredumbre
<i>Pythium spp.</i>	podrición basal
<i>Heterosporium spp.</i>	mancha anular
<i>Rhizoctonia solani</i>	podrición del tallo
<i>Spongospora subterranea</i>	roña de la papa
<i>Fusarium oxysporum</i>	podrición del botón
<i>Phytophthora infestans</i>	gota gotera
<i>Ascochyta spp.</i>	mancha morada
<i>Colletotrichum spp.</i>	antracnosis
<i>Verticillium dahliae</i>	marchitamiento
<i>Cladosporium fulvum</i>	cladosporiosis
<i>Alternaria spp.</i>	tizón rayado
<i>Sclerotinia sclerotium</i>	podrición vellosa
<i>Phytophthora parasitica</i>	mancha de las draciforas

## BACTERIAS PATÓGENAS COMO SEGÚN BERGEY'S

<i>Erwinia chrysanthemi</i>	podrición acuosa
<i>Erwinia carotovora</i>	pierna negra
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	agallas
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	moko
<i>Pseudomonas syringae</i>	peca bacterial
<i>Pseudomonas corrugata</i>	bacteriosis
<i>Pseudomonas lacrimans</i>	bacteriosis
<i>Xantomonas campestris</i>	añublo fusco
<i>Xilella fastidiosa</i>	bacteriosis de la vid
<i>Corynebacterium spp.</i>	cáncer del tomate.

# DOSIFICACIÓN

FASE DE CULTIVO	DOSIFICACIÓN	TIEMPO DE ACCIÓN	VOLUMEN SUGERIDO	FRECUENCIA	OBSERVACIONES
Desinfección de medios de enraizamiento	5.0 cc/Litro (100ppm)	15-30 min	1.5 L. de solución por m <sup>2</sup>	Aplicar antes de la siembra	Se puede aplicar en Drench, dejar actuar el producto 30 minutos antes de sembrar.
Desinfección de esquejes (semillas).	1.5 cc/Litro (30 ppm)	5 min.	20- 30 L. para 25.000 esquejes.	Una aplicación por inmersión	Se puede usar en cualquier material. Esquejes, estacas, semillas, colinos, etc. No requiere enjuague.
Desinfección de sitios para siembra (tierra).	10 cc/Litro (200 ppm)	30 min	5 L. de solución por sitio	Antes de la siembra	Dejar percolar la solución en el suelo antes de sembrar
Aplicación en plantas en producción.	1.5 a 3 cm <sup>3</sup> /l (30 - 60 ppm)		De 10-15 L. de solución por cama de 1.10 m x 30m.	Por lo menos una aplicación semanal.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aplicar por aspersion.</li> <li>• Cuando por efecto del clima se aumenta la humedad, aumentar la frecuencia de aplicación.</li> </ul>
Aplicación en post-cosecha.	0.5 cc/Litro (10 ppm)		Suficiente para mantener una buena hidratación	Mantener el nivel de yodo a 3 ppm en la solución	Chequear residual de yodo por lo menos dos veces al día.
Desinfección de utensilios y herramientas	2.5 cc/Litro (50 ppm)	10 min.	Suficiente para cubrir totalmente los utensilios.	Inmersión al menos dos veces al día.	Herramientas y utensilios deben ser lavados previamente.
Tratamiento de agua (potabilización)	0.15 a 0.30 cc/Litro (3 a 6 ppm)	10 min.		Utilizar dosificado o hacer tratamientos en baches	Es importante que el agua a tratar sea cristalina.

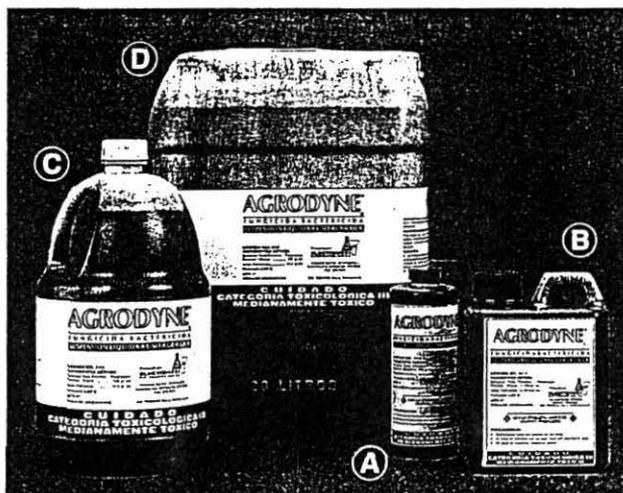
**AGRODYNE** se presenta en forma líquida y es infinitamente soluble en agua, lo que facilita su aplicación por medio de equipos aspersores de todo tipo sin que se presenten decantaciones o precipitaciones que puedan obstruir los equipos de aplicación.

La solución acuosa de **AGRODYNE** presenta una coloración característica mientras el yodo está activo, cuando ha perdido su acción microbicida se torna transparente (autotitulación) lo que indica que se debe recargar la solución para mantener el control de los organismos patógenos.

**AGRODYNE** contiene un complejo de yodo estable, no corrosivo que no mancha y no es irritante para piel o mucosas.

**AGRODYNE** es una solución concentrada cuyo ingrediente activo se usa en procesos de asepsia para humanos y animales, lo mismo que en potabilización de aguas, por estas razones la solución de **AGRODYNE** es poco tóxica y puede usarse con seguridad cuando los humanos tengan que entrar en contacto con ella.

**ELECTROWEST S.A.** tiene un grupo de profesionales con amplia experiencia en el manejo y dosificación del **AGRODYNE**, que estarán dispuestos a asesorarle cuando tenga dudas sobre la aplicación del producto.



#### PRESENTACIONES

- A. 1 Litro (1000 cc)
- B. 2 Litros (2000 cc)
- C. 1 Galón (3785 cc)
- D. Tambor ( 20 Litros)



### *Soluciones Químicas en Sistemas de Protección y Remoción*

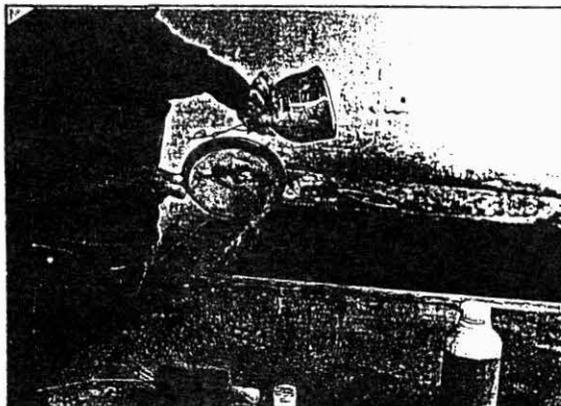
Autop. Sur Km. 12 (Cra. 50 N° 76 D Sur 052 La Estrella - Antioquia) Conm: 372 0303 Fax: 372 0317 Apdo. Aéreo 53179  
Calle 56 A N° 75 - 47 Bogotá - Cundinamarca Telefax: 2953326, 4297343 Apdo. Aéreo 056706

[www.electrowest.com](http://www.electrowest.com) - E-mail: [medellin@electrowest.com](mailto:medellin@electrowest.com)

Armenia acaba de dar apertura a su Centro de Diagnóstico donde esperamos poder atenderlo oportunamente para que pueda realizarse un buen tratamiento.

## CONTROL DE INSUMOS

En el ICA constatamos la calidad, eficacia y la seguridad de los insumos agropecuarios como vacunas, concentrados, fertilizantes y agroquímicos, por medio de la supervisión constante de almacenes y fábricas productoras.



## CAMPAÑAS SANITARIAS

Los productores deben colaborar en las campañas sanitarias, vacunado sus animales y sembrando semillas sanas y colinos de plátano y banano, traídos de fincas donde no haya enfermedades.

## OTROS SERVICIOS

El ICA vela también por el control de calidad de las semillas y es el custodio del germoplasma y diversidad genética de plantas, animales y microorganismos del país, manteniendo criterios de sostenibilidad, competitividad y equidad.

---

### **PARTICIPE EN LOS PROGRAMAS DEL CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES**

**EL ICA Y USTED HARÁN DEL  
QUINDÍO UN DEPARTAMENTO LÍDER  
EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA.**

**Para mayor información será atendido en  
su sede en Armenia,  
AVENIDA BOLÍVAR 28 norte  
Sector Regivit**

Apartado Aéreo:	1069
Teléfonos:	493810
	493490
	495360
Fax:	495184

---

Impresión:  **PRODUMEDIOS**  
Corporación S.A. - Corcolón  
Tel. 282 9945 Bogotá, DC

  
MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL  
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO  
**SECCIONAL QUINDÍO**

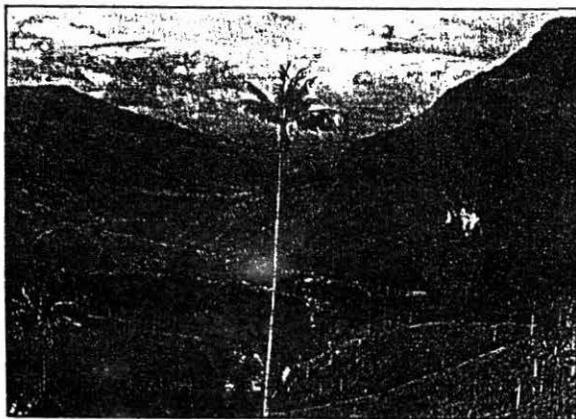


**POR LA SANIDAD  
AGROPECUARIA  
DEL DEPARTAMENTO  
DEL QUINDÍO**

# INTRODUCCIÓN

El Ministerio de Agricultura por medio de la Ley 101 de 1993, Ley General de Desarrollo Agropecuario y Pesquero, en su Decreto 1840, asignó al Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, la función de proteger la sanidad agropecuaria del país.

La seccional del ICA del Quindío vela por el cumplimiento de esta misión en el departamento, para la obtención de animales y cultivos libres de plagas y enfermedades.



## SANIDAD VEGETAL

El programa de Sanidad Vegetal tiene como objetivo principal la producción de cultivos más sanos y la disminución de plagas.

En coordinación con el Comité de Cafeteros se colabora con la campaña para el control de la broca del café.

Se trabaja en la eliminación o reducción de enfermedades de plátano y banano, como el MOKO, la ELEFANTIASIS, la SIGATOKA AMARILLA, MAL DE PANAMÁ, la reducción del PICUDO NEGRO, y evitando la entrada de enfermedades nuevas como la RAYA NEGRA. En frutales se trabaja por el control de la MOSCA DE LA FRUTA y se vela por la sanidad de los demás cultivos de la región.

## DIAGNÓSTICO VEGETAL

El ICA determina las enfermedades y plagas de los cultivos a través del Centro de Diagnóstico Vegetal de Manizales.

## SANIDAD ANIMAL

Prevención, control y erradicación de enfermedades infectocontagiosas que afectan a los animales domésticos.

Dentro de las enfermedades de declaración obligatoria están: Vesiculares, como la estomatitis y la fiebre aftosa, rabia bovina, brucelosis, encefalitis equina venezolana, peste porcina, gumboro, micoplasma, new castle, marek.



## DIAGNÓSTICO ANIMAL

El Instituto tiene ubicados Centros de Diagnóstico Veterinario en el país, perfectamente dotados para determinar las principales enfermedades de los animales de la región.



Seguir estos consejos:

1 - No siembre semilla que no sea proveniente de viveros o de fincas certificadas por el ICA.

2 - No siembre a las orillas de ríos y quebradas ningún tipo de musáceas, incluido platanillos y heliconias. Deje una zona libre de 6 a 10m, marcados desde la línea a donde sube el agua cuando hay crecientes o inundaciones.

3 - Si alguna finca vecina tiene Moko, deje unos 10m sin musáceas, desde el lindero y haga zanjas para evitar la escorrentía, si su finca queda más abajo de la afectada.

4 - Construya y mantenga activos dispositivos de desinfección para vehículos y visitantes a la entrada de la finca.

5 - Igualmente haga que todos los visitantes, trabajadores y corteros, desinfecten su calzado al llegar a su finca. Provea de herramientas y de ser posible, de botas y overoles a los corteros que vengán a trabajar a su finca.

6 - Desbellote o cubra sus racimos en formación, de una manera oportuna.

**NO TRANSPORTE SEMILLA SIN LICENCIA  
FITOSANITARIA DE MOVILIZACIÓN DEL ICA.  
ESTA ES UNA GARANTÍA PARA SU TIERRA Y  
PARA EL CULTIVO A INICIAR**

**Avise al ICA o a la Umata cualquier  
sospecha de moko en su finca o en  
fincas vecinas**

Afectadas

Dentro de las fincas afectadas, la escorrentía, las herramientas, las botas, los insectos y los pájaros, son los principales diseminadores de la bacteria, mientras que las malezas de hoja ancha aseguran su permanencia dentro de la finca. Por lo tanto:

1 - Cerque las áreas enfermas

2 - Dentro de éstas, mantenga en cero las malezas de hoja ancha.

3 - Elimine con glifosato las plantas enfermas y las sanas que circunden dichas plantas enfermas.

4 - Si el terreno es inclinado, haga zanjas en los focos para evitar que la escorrentía continúe difundiendo el moko hacia áreas sanas.

5 - Cubra los racimos de las plantas enfermas con bolsas plásticas.

6 - Desinfecte las botas y herramientas al salir del área enferma.

7 - Desbellote, y si va a cubrir los racimos en formación, hagalo de una manera oportuna.

8 - Provea a todos sus trabajadores que hacen deshoje, desguasque, descoline, etc. De aspersores para desinfección de herramientas y haga que estos los usen.

**Publicación del Instituto Colombiano  
Agropecuario, ICA Seccional Quindío.**  
Apartado Aéreo 1069 - fax: 57(096)7495184

E-mail: [icarmenia@telesat.com.co](mailto:icarmenia@telesat.com.co)  
Armenia, Abril 2003

# EL MOKO DEL PLÁTANO Y BANANO

*Una Amenaza Que Se Crea  
Sobre Su Finca.*



**- PREVENCIÓN Y MANEJO -**



MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

**ICA**  
INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO

Armenia, Abril de 2003

## PREVENCIÓN Y MANEJO

Jose Ever Vargas Sánchez- \*  
 Edgar Buitrago Gallego\*\*  
 Luis Ariel Vargas Sanchez (qepd)\*\*

El Moko o Maduraviche, causado por la bacteria *Ralstonia solanacearum*, es la enfermedad más grave para el cultivo del plátano a nivel nacional, en la actualidad. Las heliconias y platanillos también son susceptibles; y para el banano es tan funesta como el llamado mal de panamá, que, en nuestro medio, ataca los bananos de tipo Grös Michel.

La enfermedad esta presente prácticamente en todas las áreas plataneras del país puesto, que los ríos, quebradas y demás corrientes de agua se han encargado de transportar y difundir ampliamente la bacteria que la causa.

(*Ralstonia solanacearum*, Raza 2)



\*I.A., M.C., Ph.D.; ICA. Sanidad Vegetal, Armenia, A.A. 1069

\*\* Exfuncionarios ICA como técnicos a contrato



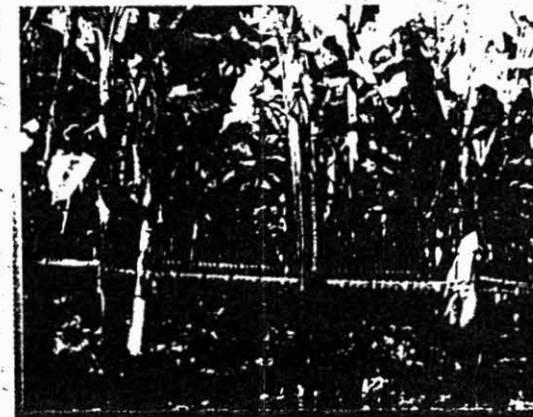
El moko presente en el Quindío desde 1971, ha causado muchas pérdidas en más de un centenar de fincas, hasta la fecha. En muchas de ellas EL MOKO ha arrasado completamente las plataneras, obligando a sus propietarios a cambiar a otros cultivos menos rentables, generalmente pastos.

Sumadas todas las áreas afectadas dispersas se estaría hablando de unas cien hectáreas enfermas en el departamento.

Esto equivale a una pérdida aproximada de 2700 toneladas de plátano por año, lo que, a valores actuales representa \$ 810.000 millones de pesos, sin tener en cuenta los costos de control.

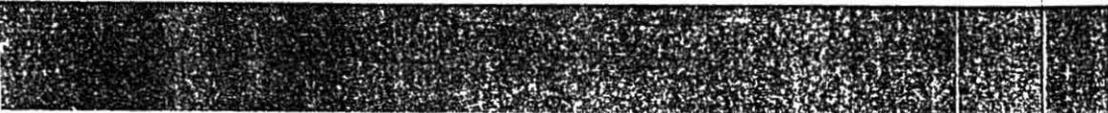
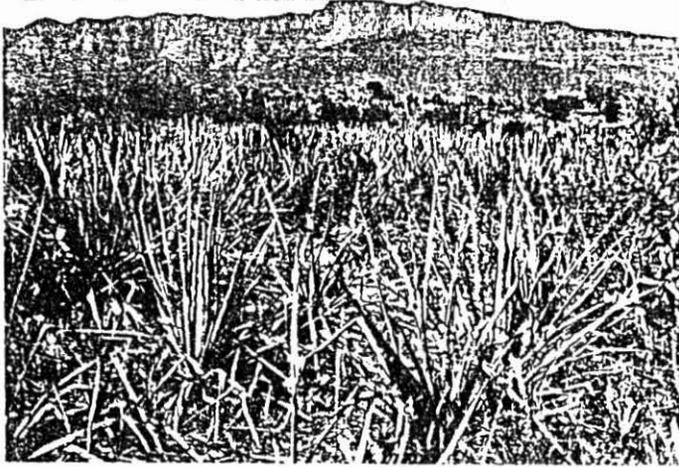
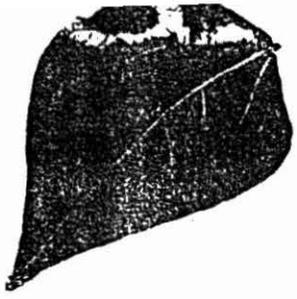


Si no se detecta a tiempo, o no se inicia un concienzudo programa de control inmediato, la enfermedad se propaga en una proporción geométrica. De esta forma si en el Quindío no se estuviera efectuando el programa que actualmente tiene el ICA, y que ha desarrollado por varios años en cooperación con otras entidades (Comite de Cafeteros, Ica, Ministerio de Agricultura, FEDEPLATANO y actualmente ASOHOFRUCOL), en tres años de crecimiento consecutivo, la enfermedad podría llegar a afectar unas 12.000 hectáreas.



## Prevenición del moko

Aunque en un programa racional y continuo, EL MOKO puede llegar a erradicarse, como en "efecto" ya lo han logrado muchas fincas, la mejor forma de control es prevenir su llegada a su propiedad. La experiencia ha sugerido que la semilla, la escorrentia, el mismo hombre y a veces los insectos y pajaros, son los principales vehiculos en que la bacteria llega a una nueva finca.



Diseases of some tropical and subtropical plants caused by bacteria, phytoplasmas and spiroplasmas



## Diseases of some tropical and subtropical plants caused by bacteria, phytoplasmas and spiroplasmas



Universidad de Guadalajara  
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Colegio de Postgraduados

## References

- 1.- Broadley, R.H. (Ed.) 1991. *Avocado pests and disorders*. Queen Sland Government, Australia. 74 pp.
- 2.- Cooksey, D. A., H. D. Ohr, H. R. Azad, J.A. Menge and L. Korsten. 1993. *Xanthomonas campestris* associated with avocado canker in California. *Plant Disease*. 77:95-99.
- 3.- De Boer, S. H., D. L. Coplin, and A. L. Jones. 2001. Gram-Negative bacteria. *Erwinia* and *pantoea* 36-39. In: *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria* (Third edition) (Eds.) Schaad, N. W., J. B. Jones and W. Chun. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, U.S.A. pp. 373.
- 4.- FAOSTAT Database results, 1990-1998. Internet.
- 5.- Fucikovsky, L. and I. Luna. 1987. Avocado fruit diseases and their control in Mexico. *S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yrb.* 10:119-122.
- 6.- Korsten, L. and J.M. Kotzé. 1987. Bark canker of avocado, a new disease presumably caused by *Pseudomonas syringae* in South Africa. *Plant Disease*. 71:850.
- 7.- Lunar, I. and L. Fucikovsky. 1987. Avocado bacterial blast in Mexico. In: *Plant pathogenic bacteria*. (Eds.) Civerolo E.L. et al. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1050 pp.
- 8.- Myburgh, L. and J.M. Kotzé. 1983. Bacterial canker of avocado. *S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yrb.* 6:88-89.
- 9.- Smith, C. D. 1926. Blast of avocado a bacterial disease. *California Citrograph*. 11. 163.
- 10.- Volcani, Z. 1954. Bacterial soft rot of avocado fruit. *Nature*. 174: 604-605.
- 11.- Zentmyer, G. A., D. E. Munneke and C. D. Gustafson. 1963. Crown gall in avocado. *California Avocado Society Yearbook*. 61-63.

## Banana (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum* (L.) Kuntze, *Musa nana* Lour and plantain or cooking banana (*M. paradisiaca* L.)

The edible, commercial banana plant, and other bananas are cultivated in almost all tropical and some subtropical, humid parts of the world. About half of the bananas of the world are eaten fresh and half are eaten cooked. Daily, this fruit is consumed perhaps more than any other fruit in the world. It is quite possible that the fresh consumption is due to good nutritional value, texture, taste and the elongated form of the fruit, the effective external protection and the ease with which the edible tissue is exposed in a rapid and easy way and the slow ripening process and its handling and keeping qualities. Some banana is also used for baby food.

As the fruit ripens (Gros Michel variety) the sucrose and reducing and nonreducing sugars increase. Total proteins in dry ripe fruits average 4%. The ash is about 3% and contains from a high to a descending order (in mg/100g of tissue) the following elements: Potassium-373.0, chlorine-125.0, sodium-42.0, magnesium-31.0, phosphorus-28.0, sulfur 12.0, calcium-8.0, iron-0.6, manganese-0.6, copper-0.2 and iodine-0.003. The vitamins per 100g of tissue are vitamin A-250 – 335 I.U., thiamine-42 – 54ug, riboflavine-88ug and ascorbic acid-10 – 11mg (10).

Paste and flour are also made from ripe fruits and are sold under the name "Bananina". Leaves of some bananas are also used for wrapping, packing and cooking (10).

In 1981 world production of bananas (not including plantains) was about 40 million metric tons (4).

Bananas are originally from the humid lowland tropics of South-East Asia. Edible bananas probably originated from *Musa acuminata* and *M. balbisiana*. Most are triploid and few diploid or tetraploid. Thus the mostly consumed bananas come from Gros Michel and Cavendish groups and are classified as AAA, signifying that they are triploid with each chromosome set coming from *M. acuminata*. Most plantains are AAB, with one set of chromosome from *M. balbisiana*. These plants produce starchy fruit, tend to be hardier, more drought resistant and resistant to some pathogens which are able to devastate AAA plantings. Plantain fruits can be boiled, baked, steamed, fried, made into chips and beer. The bracts from male banana flowers are used as vegetables in some parts of Asia (12).

Banana has an underground stem or a corm and a pseudostem with leaves. Shoots or suckers are produced from the corm and give rise to new plants. Because the edible varieties do not produce seed, they are propagated vegetatively from the corm (12).

### Potencial, economically important and selected bacterial diseases

Banana has two to three described economically important bacterial pathogens.

Disease: Bacterial wilt, Moko disease. Pathogen: *Ralstonia solanacearum* (Smith) Smith before *Pseudomonas solanacearum* (Smith).

The disease called Moko is a very important one.

Disease: Rhizome rot and tip over and soft rot and doubling of the pseudostem. Pathogens: *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Hunton, *Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFadden and Dimock.

Besides these pathogens, the banana is also affected by *Pseudomonas* sp. which have been found in Honduras in 1962 (11) and in Mexico in 1987 on the Pacific coast in the Colima state (9). This bacterium produces a finger-tip rot and in Honduras it is called "Mokillo". It is a widespread minor disease causing a little loss of the fruit, because the pathogen is usually confined to the flower and tip of the banana finger and sometimes invades the edible pulp causing darkening (red to black). In Honduras about 12% of the stem racemes had an infected finger. The incidence is low during dry weather. In Mexico the incidence is low. The disease has appeared in Taiwan, Trinidad and Queensland, Australia on Gros Michel and Cavendish varieties. No control is practiced and the banana fingers are just eliminated in the field or at the packing station (11). A

closely related bacterium to the race 2 of *R. solanacearum*, but still unclassified causes the Blood disease of banana only in Indonesia (13). Attention will be given to the other bacterial pathogens.

### Characteristics of *Ralstonia solanacearum* (P. solanacearum)

The bacterium causes a wilt or Moko disease. The bacterium is an aerobic rod of the size of 0.5-0.7 x 1.5-2.5  $\mu\text{m}$  with more than one polar flagella, produces a brown pigment on various media, is oxidase positive, produces denitrification, accumulates poly- $\beta$ -hydroxybutyrate, is levulin negative, does not hydrolyze starch and does not liquefy gelatin, does not grow at 41°C and is arginine dihydrolase negative. It affects banana and *Heliconia* and is designated as a race 2 with the strains D, B, SFR and H (11). Strain D affects *Heliconia* sp. producing stunting and distortion of young plants. It has low virulence on bananas, has low invasive capacity through flower bracts, survive poorly in soil (less than 6 months) and produces white, fluidal irregular colonies on tetrazolium medium. The strain B has its probable origin from D strain by mutation. It is highly virulent on bananas, but does not produce exudate or very little from the male flower buds. It has moderate invasiveness of flower bracts. In soil, it may survive from 12 to 18 months. In tetrazolium culture it can not be distinguished from D strain. The SFR strain has a probable origin from *Heliconia* or B strain. It produces exudate from male flower buds and is highly virulent on Bluggoe and bananas. It has a high capacity to invade flower bracts. In soil it can survive from 3 to 6 months. It produces small, fluidal, round colonies with red center and bluish-white margins. The H strain probably started from the mutation of strain B in Costa Rica. It produces exudate from male flower buds. It is less virulent on Bluggoe than SFR strain and it is non-virulent on bananas. It has a high invasive capacity via flower bracts. The survival capacity in soil is judged low, but has not been determined. It produces elliptical, fluidal, smooth colonies on tetrazolium medium with dark red centers (11). However, new investigation using DNA hybridization with a panel of DNA probes using specified virulence or hypersensitivity response defines 28 restriction fragment length polymorphism (RFLP) groups (1). On the basis of this, Gillig and Fahy (7) indicate that *Ralstonia solanacearum* from banana should have a pathovar designation "*musacearum*" (for race 2, biovar 1, RFLPs 24, 25 and 28, which probably has a relation to the strains just mentioned.

### Characteristics of the host plant

The banana plant is a large perennial herb with an underground stem or corm, a pseudostem, and a terminal crown of leaves. Shoots and suckers arise from the corm and originate new plants. Because the edible varieties produce no seeds, the propagation is vegetative from "sword suckers" or pieces of the corm. Moisture demand is high and thus commercial bananas are often irrigated. Several hundred cultivars or clones of banana are known and more will surely be discovered in Asia.

### Damage and geographical distribution

In Trinidad, Moko plantain variety was almost eliminated by this bacterium and the banana industry was destroyed. It is one of the major diseases of commercial plantations in Central America. Throughout the years it was possible to learn much about this disease and attending the crop well. It is calculated that now only 1% or less of plants are lost yearly in the Central America zone of about 30,000 acres. However, caution should be exercised, because it is known that Moko disease started to extend into the Amazon region of Peru (11). Relatively recently in Mexico, the Moko disease moved from southern tip of the state of Chiapas to the center of Chiapas and then to the western part of the state of Tabasco (6). The bacterium was previously reported in Indonesia, Africa, Philippines and many parts of Central and South America (8).

### Symptoms

The Moko disease caused by *R. solanacearum* is a systemic disease. The bacterium can start from the rhizome infection from the soil and extend through the whole plant into all the organs. If the plant is not flowering, but infected, the first four leaves start to change colour from green to yellow to brown. The change in colour starts from the tip and follows to the base. If the plant has racemes and as the insects transmit the bacterium, the male flower becomes dry, rotted and of brown color. Other symptom is the presence of partially mature fingers, variably distributed with internal black rot, as the finger is cut. On a transversal cut a brown colouration of the pseudostem can be seen starting in the center and progressing towards the periphery. The outside tissues are not affected. Another symptom is the presence of whitish bacterial exudate. It is viscous and is produced on cutting the affected tissues. Vascular, brownish colouration and wilt of the leaves can be seen. The youngest leaves are the first to show the symptoms. There is degeneration of the plant, showing general decline with the suckers around the base of the plant rotting away.

### Origin of contamination and the mode of distribution

The bacteria may enter through the rhizomes, through mechanical damage produced by machetes (long cutting knives), implements and animals. On male flowers the entrance is through insects such as bees, wasps, fruit flies and others (50 species in total). The movement throughout the plant may be acropetal and basipetal.

### Introduction into the plant

As has been mentioned above, the bacterium has various possibilities of entrance.

### Effect of external conditions

Humid and wet conditions (inundations) may favour the entrance into the plant and spread of the bacterium.

### Protection

When the disease is localized in a plantation, all work with implements should be suspended except the cutting of the racemes with fruit. The cutting instruments should be disinfected with 10% formalin during 10 seconds. The cutting equipment (2 machetes) should be placed into special containers with formalin and a dye such as phloxine, in order to detect the workers who do not disinfect the tools. In case of racemes, as soon as the last female fingers emerge, the bud is broken off the peduncle by hand. The infected plant and apparently healthy plants in an area of 5-10 m around should be destroyed by a herbicide depending on the strain of the bacterium. The most frequently used herbicide is 2,4-D. Weeds should also be eliminated by herbicides such as Gramoxone or Karmex or others.

The area where disease was detected should be left to fallow for 18 to 24 months. *Heliconia* spp. should be eliminated from the vicinity. Eradication of the plants serves to detain the dissemination of the bacterium through rhizomes. This procedure of eradication after the detection of the disease should be done in the shortest possible time (24 hrs or less). It is most convenient to start to eliminate always the healthy looking plants and last the diseased ones in order not to disseminate the bacterium. The treated area should be checked every 2 weeks.

In order to detect the diseased plant before very visible symptoms show up, very experienced persons should revise visually all the plants every week. In order to have certainty in the diagnosis various tests could be employed.

One is to cut small pieces of infected tissue and suspend them into a glass of clean water. After some time thin bacterial ooze come out in a form of fine strings. Other method is to use the oxidase test, that was devised for infected potato tubers with *R. solanacearum* (5), but can be used on bananas in the field and with efficiency and rapidity. Change in colour to blue or red depending on the amine used, indicates a positive test for the presence of the bacterium and takes only 10 seconds and can be used directly in the field. Serological methods and the new molecular biological techniques can also be employed.

As precautions, no animals (dogs) should be allowed into the plantations, so as not to disseminate the bacteria and transport truck tires should be desinfested with 25% sodium hypochlorite, 1 part mixed with 200 parts of water and 0.6 part of white vinegar.

In Bluggoe (ABB) plantain, the control of the disease can be managed by sanitation and removal of the male inflorescence. No resistance to *R. solanacearum* is known among edible banana varieties, but a single resistant diploid was found. Also bluggoe-type plantain "Pelipita" was found to have resistance to bacterial and fusarial wilts. Pelipita is resistant, because male flowers do not fall off and thus no infection sites are exposed. The use of these resistant or tolerant materials is expected in the future (12).

### Characteristics of *Erwinia carotovora* and *E. chrysanthemi*

Two erwinias will be treated in the following text.

*E. carotovora* is assumed to be *E. c.* subsp. *carotovora*, because in older literature it is referred to with the first name and also of its usual presence in tropical and warm climates. *E. carotovora* causes the banana rhizome rot and tip over of the plant.

*E. chrysanthemi* causes a soft rot and doubling of the pseudostem at various heights, some closer to the ground and other further away. *E. carotovora* and *E. chrysanthemi* are straight rods measuring 0.5-1.0 x 1.0-3.0 µm. Gram-negative, motile with peritrichous flagella, facultatively anaerobic and oxidase negative. Both bacteria produce acid from some carbon sources, but *E. carotovora* produces acid from trehalose (90%), but *E. chrysanthemi* does not. *E. carotovora* does not produce phosphatase and gas from glucose and *E. chrysanthemi* does. *E. carotovora* is not sensitive to erythromycin, but *E. chrysanthemi* is (2).

### Characteristics of the host plant

The same characteristics has been described in the previous section. In case of *E. carotovora*, the rhizome rot is a disease mainly in plants three years old or less. In case of *E. chrysanthemi* pseudostems of older plants are attacked.

### Damage and geographical distribution

Rhizome rot caused by *E. carotovora* is found wherever bananas are cultivated, but is most serious in Central America. In Honduras, in flooded areas, the incidence was 10-15%, but in localized areas it was up to 50% in Gros Michel. In Cavendish variety rot was 30% in newly planted corm.

The soft rot of the pseudostem caused by *E. chrysanthemi* has been found so far in Colombia (3) and apparently in Mexico (Fucikovsky-personal observation). No damage estimates are known at present in Mexico. However, when the pseudostem doubles over, the raceme may be completely lost if it is not close to harvest time. In Colombia the bacterium can cause an 80-90% reduction of production within five years after initial infection and establishment in the plantation (3).

### Symptoms

In case of rhizome rot caused by *E. carotovora*, the newly planted rhizomes can rot without sprouting. The young plants may be stunted and yellow. In older plants with fruits, these can topple over. Pockets of dark brown or yellow water soaked areas can be seen in cortex and rhizome. The root borer *Cosmopolites sordidus* may or may not be associated with this rot (12).

The soft rot of pseudostem caused by *E. chrysanthemi* is an infection of this organ, giving the possibility of doubling or toppling over of the superior part of the plant, because the affected tissue can not support the weight and if in addition the wind is strong the effected pseudostem can not resist.

### Origin of contamination and the mode of distribution

The origin of contamination of the two erwinias is not known. It is possible that insects carry them on the bodies from contaminated areas.

The mode of distribution may be with borers or other insects in case of the rhizome rot and in the case of pseudostem rot no information is available.

### Introduction into the plant

Mechanical damage either by implements or insects is the probable way of entry into the plant parts in both cases.

### Effect of external conditions

The rhizome and corm rot is favoured by high soil humidity or water inundation.

In case of pseudostem rot, undoubtedly high humidity and temperature favour the progress of the disease in both cases.

### Protection

In case of rhizome rot, planting rhizomes during rains should be avoided. Cavendish varieties are less susceptible than Gros Michel. Musa AAB and ABB cultivars are much more resistant than AAA varieties.

In case of pseudostem rot no information is available relative to protection, but if insects are the probable introducers, effective insecticide application close to the pseudostem base could partially resolve the problem.

### References

- 1.-Cook, D., E. Barlow and L. Sequeira. 1989. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and the hypersensitivity response. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2:113-121.
- 2.-Dickey, R.S. 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology*, 69: 324-329.
- 3.-Dickey, R. S. and J.I. Victoria. 1980. Taxonomy and emended description of strains of *Erwinia* isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. *Int. J. Syst. Bact.* 30: 129-134.
- 4.-Food Agriculture Organization. 1981. *FAO production yearbook*, V. 35 FAO, Rome. 306 pp.
- 5.-Fucikovsky, L. 1978. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in Mexico and its early detection in potato tubers. *Proc. 4th Intern. Conf. Plant Path. Bacteria*. (Ed.) Station de Pathologie Végétale et Phytobacteriologie, Angers, France. 863-867. 979 pp.
- 6.-Fucikovsky, L. and M. O. Sintos. 1993. Advance of bacterial wilt in bananas in Mexico. 341-342. In: (Eds.) Hartman, G. L. and A. C. Hayward. *Bacterial wilt. Proceedings of an International Conference*, Kaohsiung, Taiwan 1992. ACIAR Proceedings, No. 45. Australian Centre Intern. Agr. Res., Canberra, Australia. 381 pp.
- 7.-Gillings, M. R. and P. Fahy. 1994. Genomic finger printing: Towards a unified view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. 95-112. In: (Eds.) A.C. Hayward and G. L. Hartman. *Bacterial wilt: The disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. CAB International in Association with the Asian Vegetable Research and Development Center, Taiwan. 259 pp.
- 8.-Kelman, A. 1953. *The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum*. North Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 99. 194 pp.
- 9.-Luna, I., L. Fucikovsky, E. Cardenas, M. Orozco y L. Lopez. 1988. *Pudrición seca del fruto del plátano en Tecoman, Colima*. Resumen Congreso Nac. Fitopatología, Xalapa, Ver. 57.
- 10.-Ochse, J.J., M.J. Soule Jr., M. J. Dijkam and C. Wehlburg. 1961. *Tropical and Subtropical Agriculture* V. 1. New York, The Macmillan Company. 760 pp.
- 11.-Stover, R. H. 1972. *Banana, plantain and abaca diseases*. Kew Commonwealth Mycol. Institute, Kew, Surrey, England. 316 pp.

- 12.-Thurston, H. D. *Tropical plant diseases*. 1984. The American Phytopathological Soc., St. Paul, Minnesota. 208 pp.
- 13.-Thwaites, R., S. Eden-Green, J. Mansfield and S. Seal. 1997. *Studies on the molecular basis for pathogenicity and host specificity in strains of *Ralstonia solanacearum* pathogenic to banana* (Abstr.). 32. International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe, Antilles Françaises.

Powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) is an economically significant disease found in all rose-producing countries of the world. To control or prevent the disease, expensive and toxic chemical fungicides are currently being used.

To take advantage of an agroindustrial by-product obtained after harvest, several plantain plantations in Colombia are rustically producing lixivium from decomposed plantain (*Musa AAB*) (Figure 1).

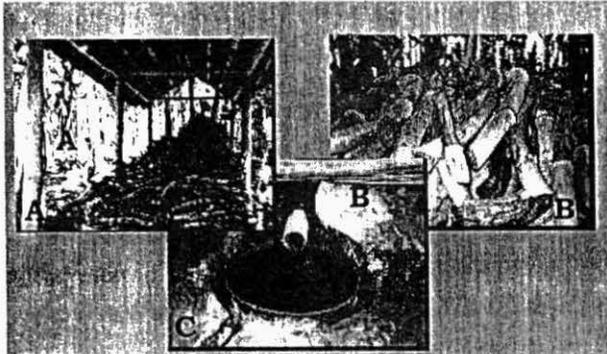


Figure 1. Decomposing plantain rachis on a plantain plantation in Colombia. (A) Collecting plantain rachis. (B) Decomposition the rachis. (C) Collecting the lixivium generated during decomposition.

Our research aimed to (1) evaluate the effect of the lixivium on the disease and on the rose plant, and (2) observe the effect of the lixivium on the pathogen using a scanning electron microscope.

**Plant material and test conditions.** A total of 175 young, diseased rose plants of the variety Livia were used. The three trials were carried out under glasshouse conditions at CIAT in Colombia.

**(Bio)fungicides.** Six treatments of lixivium were applied at different concentrations. The positive checks (Trial 1) received, alternately, applications of dodomorph acetate (2.5 mL/L), and fenarimol (0.6 mL/L). In Trial 2, dodomorph acetate and kresoxim-methyl were applied at 0.25 mL/L.

**Four applications** of each treatment were manually sprayed on leaf undersides at 4-day intervals.

**Treatment effectiveness.** To assess the effectiveness of the treatments, only the first three or six true leaves of each stem were evaluated (the youngest leaves and those with the greatest disease incidence).

The evaluations took into account the degree of sporulation per leaf foliole and the area infected per foliole, using a visual scale of 0 to 3.

**Scanning electron microscopy.** We used two sets of leaflets: (1) one from infected plants that had received applications of lixivium 6 hours before inoculation; and (2) one from infected plants without any treatment. Samples were fixed in phosphate buffer, followed by post-fixation in osmium tetroxide and gold filling.

The treatment that best controlled powdery mildew in the three trials was lixivium concentrated at 5% because it reduced fungal sporulation and the area of lesions (Figures 2 to 4). Satisfactory control was also obtained with the other concentrations of lixivium, although lixivium at 50% proved toxic to the plants.

Because inoculum pressure was high, untreated plants showed increased sporulation of *S. pannosa* and increased the leaf area infected by the fungus.

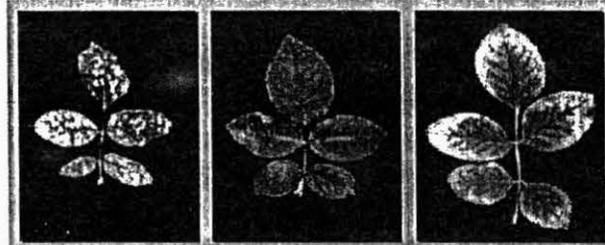
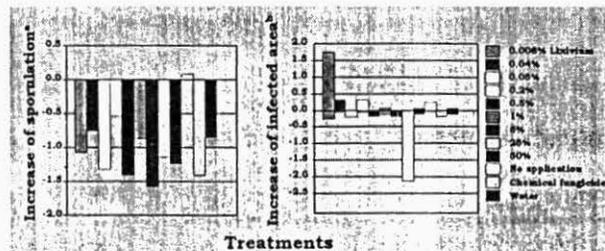


Figure 2. (A) Untreated leaf. (B) Disease control by lixivium. (C) Phytotoxicity caused by lixivium at 50%.



Figures 3 and 4. Effect of different lixivium concentrations of plantain rachis and other treatments on powdery mildew of roses (averages of three trials).

Negative values indicate reduction in the disease.  
 \*Scale 0 to 3: 0 = absence of disease and 3 = abundant sporulation.  
 \*Scale 0 to 3: 0 = 0% lesions and 3 = lesions occupying more than 25% of leaf area.

A drastic effect can be observed on the mycelia of *S. pannosa* in samples receiving an application of lixivium 6 hours before inoculation (Figure 5).

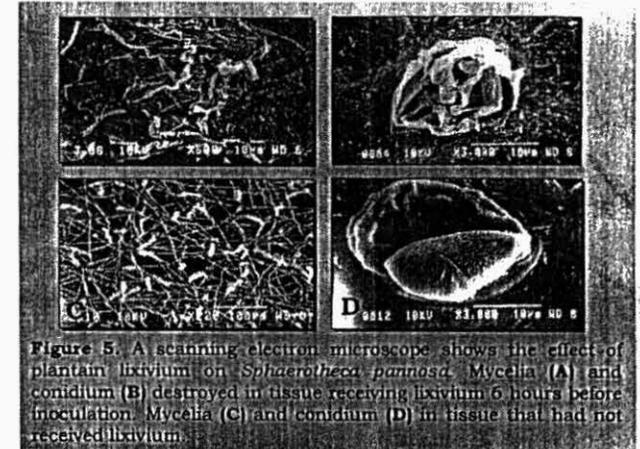


Figure 5. A scanning electron microscope shows the effect of plantain lixivium on *Sphaerotheca pannosa*. Mycelia (A) and conidium (B) destroyed in tissue receiving lixivium 6 hours before inoculation. Mycelia (C) and conidium (D) in tissue that had not received lixivium.

The study demonstrated that plantain lixivium can control powdery mildew of roses at a level equal, and sometimes superior, to that achieved with conventional chemical products. Lixivium's disease control potential will prove to be highly significant, in economic terms, for Colombian rose producers.

Adding ethanol and submitting lixivium to high temperatures did not significantly reduce its disease control capacity (data not presented). This finding suggests that the effect of lixivium is due to a chemical agent it contains rather than to the microorganisms it may carry.

- To Silverio González (Especial, La Tebaida, Colombia), producer of plantain lixivium.
- To David Collinge, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
- To José Alejandro Arroyave, CIAT Virology Unit.

Alvarez E; Grajales CX; Villegas J; Loke JB. 2002. CIAT Annual Report. Integrated Pest and Disease Management. <http://www.ciat.cgiar.org/ipm/index.htm>.

Weltzin HC. 1992. Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In: Andrews JH; Hirano SS, eds. Microbial ecology of leaves. Springer-Verlag, New York. pp 430-450.

**FULVAN MIC GRANULADO**<sup>®</sup>  
 MATERIA ORGANICA ENRIQUECIDA  
 COMPOSICION GARANTIZADA

Materia Orgánica	23%
Extracto Húmico Total	22%
Acido Fulvico	15%
Acido Húmico	7%
Nitrógeno Total	2%
Potasio	2%
Fósforo	1.7%
Calcio	1.42%
Magnesio	0.69%
Azufre	0.40%
Hierro	300ppm
Manganeso	278ppm
Cobre	15ppm
Zinc	42ppm
Boro	15ppm
CIC	49me/100G
C.E.	7ds/m
pH	6.9
Proteínas	7.5%
Carbohidratos	15%
Carga Bacteriana	7x10 <sup>7</sup> UFC/ml
Hongos y Levaduras	4.6x10 <sup>4</sup>
Vitaminas	B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> B <sub>6</sub> B <sub>12</sub> C

## Presentación de Nuestros Productos

Producto	Presentación Mínima de Despacho
Fulvan Mic - Líquido	20 litros 250 litros 1000 litros
Fulvan Mic - Granulado	50 Kilos 1- 100 toneladas

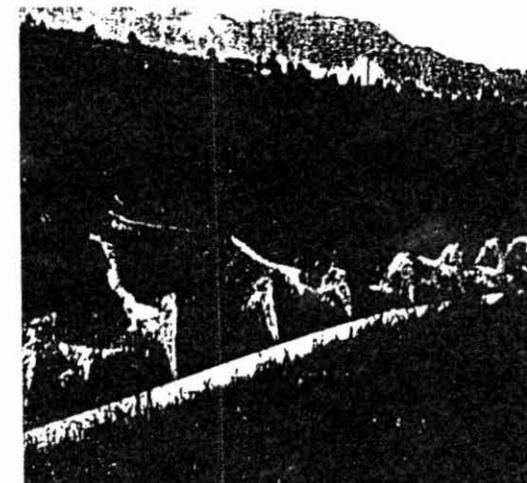
**Mayor información consulte a nuestro Departamento Técnico**

Teléfonos: (2) - 2725856  
 (2) - 2747996  
 (2) - 2716498  
 Palmira - Valle - Colombia

email: [biogreen@telesat.com.co](mailto:biogreen@telesat.com.co)



PARA UNA  
 AGRICULTURA SOSTENIBLE



### Asesores en Agricultura Orgánica Productos Orgánicos

## BIOGREEN

Se proyecta como una entidad agroindustrial, creadora de diferentes tecnologías para la transformación de Bioresiduos de la Industria Azucarera

Productora de abonos orgánicos resultantes de los procesos de la transformación de los Bioresiduos

# NUESTROS PRODUCTOS



Aplicación por medio de Aspersión de Nuestro Producto Fulvan - Mic Líquido®

MATERIA ORGANICA LIQUIDA ENRIQUECIDA

Fulvan - Mic Líquido®

Enmienda orgánica líquida 100% natural y ecológica, libre de patógenos, impurezas y semillas de maleza devuelve al suelo fertilidad mediante el aporte de una materia orgánica balanceada y enriquecida.

**Fulvan - Mic Líquido®** es la materia orgánica más completa, ya que no sólo se recupera las condiciones físicas del suelo sino que además restablece las condiciones químicas y biológicas que sumadas permiten corregir de una forma rápida y eficiente los problemas de fertilidad en las explotaciones agrícolas asegurando la sostenibilidad de las mismas.

**Fulvan - Mic Líquido®** puede ser incorporado al suelo mediante cualquier sistema de riego ya que es un producto 100% soluble.

**Fulvan - Mic Líquido®** Gracias a su alta carga microbiana y la adecuada relación carbono - nitrógeno reanuda rápidamente los procesos bióticos de reducción y quelatación de macro y micro nutrientes y el equilibrio de la micro - flora y micro - fauna, necesarias para el desarrollo del agro ecosistema.

## FICHA TECNICA FULVAN MIC LIQUIDO® MATERIA ORGANICA ENRIQUECIDA PRODUCTO ECOLOGICO CERTIFICADO AGOSTO 19 DE 1999

Materia Orgánica	45%
Extracto Húmico Total	17%
Acido Fulvico	12%
Acido Húmico	5%
Nitrógeno Total	2.77%
Potasio	6%
Fósforo	0.2%
Calcio	3.1%
Magnesio	2.07%
Azufre	1.5%
Hierro	700ppm
Manganeso	28ppm
Cobre	12ppm
Zinc	8ppm
Boro	10ppm
C.E.	7ds/m
Ph	4.7
Proteínas	8%
Carbohidratos	10%
Carga Bacteriana	1x10 <sup>8-10</sup> UFC/ml
Densidad	1.27%
C/N	5.97%
Vitaminas	B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> B <sub>6</sub> B <sub>12</sub> C
CIC	40me/100G

# NUESTROS PRODUCTOS



Proceso de Aplicación de Nuestro Fulvan - Mic Granulado®

MATERIA ORGANICA GRANULADA ENRIQUECIDA

Fulvan Mic Granulado®

Es un fertilizante orgánico sólido 100% de origen vegetal, procedente de los subproductos de la Industria Azucarera, libre de patógenos, impurezas entre otros; es un producto totalmente ecológico.

**Fulvan - Mic Granulado®** es la materia orgánica más completa, abastece la necesidad de los suelos, de ahí que el empleo de esta sea totalmente necesario para mejorar su fertilidad, además recupera las condiciones físicas del suelo, restablece las condiciones químicas y biológicas que sumadas permiten corregir de una forma rápida y eficiente los problemas de explotaciones agrícolas asegurando así la sostenibilidad de las mismas.

**Fulvan - Mic Granulado®** es un gran movilizador de las reservas minerales del suelo.

**Fulvan - Mic Granulado®** ejerce un papel decisivo en la fertilidad del suelo, ya que regenera sus propiedades físicas, químicas y biológicas sin desequilibrar el agroecosistema, logrando a mediano plazo una perfecta Agricultura sostenible.