



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Genètica i Microbiologia

**ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ”
DE LA PLATANERA EN CANARIAS**

**Memoria presentada por
Sonia Sabadell González
para optar al grado de
Doctor en Biología**

La Laguna, 26 de noviembre de 2003



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Genètica i Microbiologia

**ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ”
DE LA PLATANERA EN CANARIAS**

**Memoria presentada por
Sonia Sabadell González
para optar al grado de
Doctora en Biología**

La Laguna, 26 de noviembre de 2003

EL DIRECTOR

LA TUTORA

**Fdo. J. M. Hernández Hernández
Dr. de Biología**

**Fdo. M. Luquin Fernández
Dra. en Biología**

Este trabajo ha sido financiado con la beca predoctoral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) y ha sido realizado en el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) en Tenerife.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a todas las personas que han participado y han hecho posible que este trabajo pudiera realizarse, ya que resulta imposible enumerar todo lo que de alguna manera ha influido personal y profesionalmente en el resultado final del trabajo. Gracias a D. Manuel Fernández Galván, presidente del Instituto Canario de Investigaciones Agraria por permitirme la realización del trabajo en este centro.

Mi más sincera gratitud a Julio Hernández, por haberme elegido para la realización del trabajo. Gracias a su dedicación, su asesoramiento y su constante capacidad y espíritu de crítica ha sabido mantener viva la discusión que enriquece todo trabajo científico. También quiero expresar mi gratitud a Aurelio, Jefe de Departamento de protección vegetal.

A Marina Luquin por su tutela y aceptación en el programa de doctorado, por su asesoramiento en el trabajo de los perfiles de ac grasos. Gracias por tu disponibilidad en todo lo que te he consultado. Muchas gracias a todo el equipo del laboratorio de micobacteriología de la UAB especialmente Josep, Esther “i” Mercé. A Francesc por su disponibilidad y ayuda.

A M^a Milagros López, gracias por tu tiempo y tus valiosas correcciones y a Mariano Cambra por vuestra hospitalidad en Valencia. A Ramón por su dedicación y consejos mientras estuve con las bacterias. A todos los del laboratorio de bacteriología del IVIA, en especial a Pablo Llop, - “per tot i per sempre”.

A Araceli Barceló, por sus consejos, dedicación y amistad, por sus palabras siempre serenas y de ánimo, por su comprensión y cariño. Te recuerdo en muchas ocasiones. Muchísimas gracias por todos esos momentos. A todos los del CIFA por hacerme sentir como en casa. A Sabry por enseñarme lo que significa el respeto por las ideas que no se comparten y por sus lecciones de historia y su amistad. Y a Yvonne y Bernardo por vuestro compañerismo en el ida a ida estando lejos de casa.

Gracias a Julita, sin ti sería imposible imaginar el laboratorio, por tu sonrisa y serenidad. A Tere por su disposición a la organización, a Javier por sus buenas vibraciones y por sus mensajes siempre optimistas, a Luis Rumeu por su ayuda y disposición, a Polito por sus riegos de fines de semana, a Benedicto el “gran pitufo gruñón”, a Diego por su ayuda, sugerencias y compañero de fatigas, y en especial a la ayuda prestada en los ensayos de campo de Aniceto, muchas gracias por estar ahí, a Sandra, que en el último año de tesis ha sido clave para el desarrollo y finalización de los trabajos de laboratorio. A Tomás Alcoverro y Mery.

A todas las personas del departamento de protección vegetal del ICIA, gracias por hacerme la vida más agradable. A Luisa, expresar mi cariño y admiración por su inagotable fuerza vital..., sobran las palabras ante una puesta de sol. Gracias. Carmen Luisa, tu actividad y entereza, tus consejos. Muchas gracias. Ana Rosa Socorro Monzón por todos los análisis de suelos y foliares, a Juan Francisco y Tere por enseñarme. A Glenda, Agustín, Carlos R., Axel, Berto, David, Javi, Elba Lidia, Alfonso y Leandro.

A “Casa Coralia”, Coralia, Nena, Elena, y Mercedes por alimentarme y animarme cada día. A mis compañeros Boro, Eva, Yeray y Poli.

A Felipe, por sus consejos, ideas, conversaciones, el culpable de mi interés por los perfiles..., a Marga por transmitir paz y claridad. A Ana, muchísimas gracias por su ayuda y disponibilidad. A Salva, por su amistad, sus dibujos y su aliento. A Rosa y Celso, gracias por ser mis amigos y apoyarme en todos esos momentos. A Juani, mi niña, a mis amigos de siempre que no olvido jamás, a Elena mi alma paralela, Yoli S, Yoli, Caamaño, Fernando, Damián. A ti, siempre mi dulce Susana. A todos muchas gracias por creer en mí.

A todos los que no nombro, muchas gracias, por la ayuda positiva para facilitar, pero también por la negativa, por aprender, reforzar y construir. A tu familia, María, Nicolás, Manuela, Inés, Amaro, Alexis, los niños Leticia y Cesar. Un especial recuerdo a Jose Antonio. A ti, incondicionalmente siempre a ti...ya lo sabes. A mis tías Paqui, Mari y Antonia, a Jordi por la logística y a mi familia

A mi madre

A mi padre

A Yolanda

A Joan Antoni



Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Ciències

Departament de Microbiologia i Genética

TESIS DOCTORAL

Sonia Sabadell González

2003



RESUMEN

RESUMEN

El “Falso Mal de Panamá” (FMP), fue descrito por primera vez en Sudáfrica por Deacon *et al.* (1985), como “*Fals Panama Disease*” por su similitud con el “Mal de Panamá”, cuyo agente causal es *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC). Estos autores encontraron especies de *Fusarium* asociadas a las plantas con FMP, pero las pruebas de patogenicidad fueron negativas y no pudieron establecer la etiología del FMP. Concluyeron que posiblemente la causa fuera de origen abiótico –suelos pesados con tendencia a la compactación y al mal drenaje-, aunque no se descartó la implicación de algún agente biótico.

En la bibliografía aparecen bajo distintos nombres, descripciones de sintomatologías similares al FMP. Así, Stover, (1972) y posteriormente Lahav *et al.* (1999) realizaron una revisión sobre las primeras descripciones del “*Yellow mat*” y “*Colorado diseases*” de los que tampoco se conoce la causa.

La incidencia del FMP se ha visto incrementada en los últimos 5 años, coincidiendo con el registro de temperaturas por debajo de la media normal para estas latitudes en los meses de invierno.

La máxima incidencia de síntomas, coincidió con la proliferación de nuevas plantaciones, utilizando en muchos casos emplazamientos no idóneos para el cultivo de la platanera y sorribas con suelos ricos en arcillas que provocaban un mal drenaje y tendían a la compactación.

Las referencias de la literatura y estas evidencias de campo sugerían que posiblemente nos encontráramos ante una situación de estrés de la planta provocada por factores abióticos, los cuales potenciarían la acción de determinados microorganismos que pudieran tener un papel en la expresión de los síntomas. Por todo ello, la hipótesis de trabajo para la explicación de los síntomas del “Falso mal de Panamá” es que posiblemente existiera una interacción entre factores abióticos y bióticos.

Para desarrollar esta hipótesis se han realizado los siguientes trabajos. Procesamiento de muestras en el laboratorio para la obtención de una colección de aislados bacterianos y fúngicos asociados a plantas de platanera con FMP obtenidas a partir de muestreos realizados en cultivos tanto del norte como en el sur de la isla de Tenerife. Otra fuente de obtención de muestras fue las que los propios agricultores nos han hecho llegar directamente o a través de los agentes de extensión agraria de todo el archipiélago.

Una vez los aislados fueron identificados y caracterizados, se han desarrollado pruebas de inoculación *in vitro* y en invernadero sobre plantas sanas, sin haber sido posible reproducir los síntomas de FMP en condiciones controladas.

Por otro lado también se han realizado ensayos en invernadero para determinar el efecto que las características físicas-químicas del suelo pudieran tener sobre la expresión de síntomas, en los que se obtuvieron resultados preliminares que indican que el tipo de suelo por sí mismo no es el responsable del conjunto de síntomas de FMP.

Estos resultados, originaron el planteamiento de la combinación de los factores abióticos de estrés más comunes en las plantaciones afectadas, con una selección de los microorganismos encontrados en asociación a los síntomas, bajo condiciones de invernadero. De este modo, se han podido observar puntos necróticos en los rizomas y amarilleos foliares en las plantas de platanera sometidas a estrés por encharcamiento, compactación y frío ambiental cultivadas en suelos procedentes de plantaciones afectadas o bajo inoculación de especies fúngicas pertenecientes al género *Fusarium*, aunque en ningún caso se consiguió reproducir los síntomas típicos del FMP.

En este punto del trabajo se planteó un ensayo en condiciones de campo con dosis de riego superiores a la recomendada y con compactación artificial del suelo, en el que se consiguió reproducir los síntomas internos de rizoma y oscurecimiento vascular típicos del FMP, aunque los síntomas aéreos característicos no fueron tan claros.

Complementariamente, se han realizado estudios histoquímicos con el fin de establecer un criterio de diagnóstico diferencial con el MP, a partir de lo descrito por Reinking, (1926) para el “*Yellow Mat*”, quien asociaba los síntomas vasculares a una desorganización del floema, que también se ha podido observar en el caso de las muestras estudiadas de FMP, con la aportación de que además el xilema podía encontrarse colapsado por sustancias de diversa naturaleza.

Todos estos resultados sugieren que el FMP es un desorden en cuya causa podrían jugar un papel muy importante algunos factores del suelo como la compactación, el encharcamiento y la hipoxia y los desequilibrios nutricionales concomitantes, aunque no se puede descartar la interacción de alguna especie fúngica o bacteriana en combinación con otros factores abióticos no estudiados en este trabajo.

SUMMARY

False Panama Disease (FPD) was first described by Deacon *et al.* in 1985, in South Africa, who gave it its name due to the similarity between its symptoms and those of true Panama disease (PD) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC). These authors found *Fusarium* species associated with FPD affected plants, but pathogenicity tests were negative and aetiology could not be established. They concluded that the probable cause was of abiotic origin—heavy soils, tending towards compaction and bad drainage—although the role of some biotic agent was not excluded.

In the literature there are descriptions of similar symptoms under a variety of different names. Stover (1972) and later Lahav *et al.* (1999) reviewed the first descriptions of “Yellow Mat” and “Colorado disease”, despite which the aetiology of both are still unknown.

In the Canary Islands, FPD incidence has increased over the last five years, coinciding with lower than normal mean winter temperatures in some plantation areas.

Maximum symptom incidence also coincided with significant increase in new plantations. In many instances, these plantations were set up in plots totally unsuitable for banana cultivation, on heavy clay soils with poor drainage and clearly predisposed towards compaction.

Literature reports and local field evidences suggested that we were probably facing a plant stress situation induced by abiotic factors, possibly enhancing or potentiating the action of microorganisms which would play a role in symptoms expression. The hypothesis for the present study is that the symptoms observed can be explained by an interaction of biotic and abiotic factors.

To test this hypothesis, the following work has been done:

Sample processing in the laboratory to obtain bacterial and fungal collections of isolates associated to FPD-affected banana plants from plantations both in the northern and southern coastal areas of Tenerife. Also studied were samples sent to the laboratory by farmers and Extension Service Agents from all the banana producing islands of the Canary archipelago.

Once the isolates were identified and characterized, inoculation trials were carried out both in *in vitro* cultivation in growth chamber and in glasshouse under controlled conditions. None of the typical FPD symptoms were observed in any of these trials.

Glasshouse trials were also conducted to determine the effects of some soil physical-chemical properties on symptom expression. The results suggested that soil alone cannot explain the appearance of FPD symptoms.

As a consequence of these results, trials combining the commonest stress factors present in the plantations and some selected associated microorganisms were done under controlled glasshouse conditions. Necrotic areas in the rhizome and yellowing of the foliage were observed in plants cultivated on soils from affected plantations and inoculated with *Fusarium* spp. and subjected to waterlogging and low temperatures. Nevertheless, no typical FPD symptoms were observed at any time.

At this point in the work, a field trial was set up to cultivate plants in soil that had been mechanically compacted and applying various irrigation doses (standard for banana and two larger doses). Typical internal rhizome symptoms were observed in some plants although external symptoms were never observed.

Complementary to the above, in view of and based on the Reinking work done in 1926 on “Yellow Mat”—wherein symptoms were associated with phloem disorganization, biochemical studies were also conducted with the aim of establishing a differential diagnostic with PD. The results showed that in FPD not only is the phloem indeed disorganized but that the xylem might also be collapsed by different type of substances. All these results suggest that some soil factors, particularly compaction, waterlogging, hypoxia, and the nutritional imbalances consequent upon these factors, may play a causal role in the FPD disorder. Nevertheless, the interaction of some bacterial or fungal species in combination with certain abiotic factors not studied in this work can not be excluded.



ÍNDICE GENERAL

JUSTIFICACIÓN.....	1
OBJETIVOS	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
1 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA, ORIGEN, EVOLUCIÓN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA PLATANERA (MUSA SPP.) EN CANARIAS.....	8
1.1 Anatomía de la platanera.....	8
1.2 El cultivo de la platanera en Canarias.....	11
1.3 Condiciones y características físico-químicas de los suelos en las plantaciones comerciales de Canarias.....	12
2 ASPECTOS FITOPATOLÓGICOS. ENFERMEDADES DE LA PLATANERA.	14
2.1 Nemátodos.....	14
2.2 Virus.....	14
2.3 Bacterias.....	15
2.4 Hongos.....	18
2.4.1 El Mal de Panamá.....	19
2.4.1.1 Descripción. Agente causal: Fusarium Oxysporum f sp cubense (FOC).....	21
3 EL FALSO MAL DE PANAMÁ.....	23
3.1 Revisión histórica y descripción.....	23
3.2 Especies de Fusarium similares a las asociadas al FMP en platanera y en otras plantas hospedadoras.....	26
3.3 Naturaleza del amarilleo foliar.....	28
3.4 Naturaleza de los oscurecimientos vasculares.....	29
3.4.1 Xilema.....	29
3.4.2 Floema.....	32
3.5 Interacción factores abióticos/bióticos. Triángulo epidemiológico.....	33
3.5.1 El hospedador. Respuestas defensivas.....	33
3.5.2 El patógeno.....	34
3.5.2.1 Efecto de la Temperatura sobre la patogenicidad.....	34
3.5.2.2 Efecto del encharcamiento sobre la patogenicidad.....	35
4 FACTORES ABIÓTICOS.....	37
4.1 Factores climáticos.....	37
4.1.1 Temperatura.....	38
4.2 Factores edáficos.....	39

4.2.1	Encharcamiento del suelo.....	40
4.2.2	Salinidad.....	41
4.2.3	Compactación.....	43
4.2.4	Hipoxia y anoxia radical.....	44
4.2.5	Deficiencias nutricionales.....	45
MATERIAL Y MÉTODOS.....		49
1.	INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y DESCRIPCIÓN DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ” EN CANARIAS.....	50
1.1.	Datos climáticos.....	50
1.2.	Muestreos de material vegetal y encuesta epidemiológica.....	50
1.3.	Análisis Foliare.....	51
1.4.	Análisis físico-químicos de los suelos agrícolas.....	51
1.5.	Análisis microbiológicos de los suelos.....	53
2.	AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AISLADOS BACTERIANOS Y FÚNGICOS.....	54
2.1.	Aislamiento e identificación de bacterias asociadas al FMP.....	54
2.1.1.	Caracterización fenotípica y metabólica de las cepas bacterianas seleccionadas....	54
2.1.2.	Pruebas de hipersensibilidad en hojas de tabaco (Lelliot y Stead, 1987).....	55
2.1.3.	Método de Taxonomía bacteriana por perfil de ácidos grasos de membrana.....	56
2.1.4.	Protocolo de extracción de ácidos grasos MIS para la identificación de bacterias a través de Cromatografía de gases (Miller, 1985).....	57
2.1.5.	Protocolo II, Metanólisis (Luquin et al., 1991).....	58
2.1.6.	Ensayo comparativo del crecimiento de una cepa bacteriana durante 24 h y 48 h mediante HPGC.....	59
2.2.	Identificación y caracterización cultural de los aislados fúngicos.....	60
2.2.1.	Crecimiento de Fusarium para su identificación.....	60
2.2.2.	Caracterización por Grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCGs) de los aislados pertenecientes al género Fusarium.....	62
2.2.3.	Caracterización por velocidad de crecimiento en placa con los medios de cultivo PDA y Komada (Komada, 1975), a 15° C y 25° C de los aislados pertenecientes al género Fusarium.....	64
3.	PRUEBAS DE PATOGENICIDAD.....	65
3.1.	Pruebas de patogenicidad de bacterias.....	65

3.2.	Pruebas de patogenicidad de hongos.....	66
3.2.1.	Ensayos in vitro.....	66
3.2.2.	Ensayo preliminar de puesta a punto de la metodología.....	66
3.2.3.	Ensayo 2 en bote convencional empleado para cultivo in vitro:.....	67
3.3.	Pruebas de patogenicidad en invernadero.....	68
3.3.1.	Ensayo de patogenicidad en invernadero a 25-30°C y encharcamiento del suelo...68	
3.3.2.	Ensayo patogenicidad en invernadero a 15-28° C, encharcamiento del suelo y simulación de daños mecánicos.....	69
4.	INTERACCIONES DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS	70
4.1.	Ensayos preliminares con suelos de plantaciones afectadas de Falso Mal de Panamá (FMP)	70
4.1.1.	Ensayo con suelos de plantaciones del norte de la isla de Tenerife	70
4.1.2.	Ensayo con suelos de plantaciones del sur de la isla de Tenerife.....	71
4.1.3.	Variables estudiadas en los dos ensayos.....	71
4.1.4.	Siembras de muestras de material vegetal de plantas muestreadas en las plantaciones afectadas de las vertientes Norte y Sur. Aislamientos de microorganismos asociados.....	72
4.1.5.	Análisis físico-químicos de muestras foliares y de suelos tanto de vertiente Norte como de vertiente Sur.....	72
4.2.	Ensayo de cambio de la estructura física de un suelo de la vertiente norte de Tenerife mediante la adición de “picón”(lapilli volcánico).....	73
	Variables estudiadas.....	73
4.3.	Ensayo de diferentes tiempos de encharcamiento en sustrato turba: picón (70:30) en macetas de 5 litros de capacidad.....	74
4.3.1.	Cálculos de la dosis de riego mediante la evapotranspiración y saturación del sustrato.....	75
4.4.	Ensayo de encharcamiento en sustrato turba:picón (70:30) en contenedores de 50 litros de capacidad.....	75
4.5.	Ensayo de simulación de encharcamiento y compactación del suelo.....	76
4.6.	Ensayo de compactación y dosis de riego en condiciones de campo.....	78
5.	ESTUDIOS HISTOQUÍMICOS.....	80
5.1.	Material vegetal.....	80
5.2.	Cortes en fresco.....	80
5.2.1.	Tinción de cutina (Heslop-Harrison, 1977).....	80

5.2.2. Tinción de celulosa (Heslop-Harrison y Heslop-Harrison, 1981).....	81
5.2.3. Tinción de lignina (Marín, 1986).....	81
5.2.4. Tinción con azul de Tripán (Phillips y Hayman, 1970).....	81
5.3. Cortes de material vegetal incluido en parafina.....	82
5.3.1. Fijación, deshidratación e inclusión en parafina.....	82
5.3.2. Obtención de cortes en parafina y desparafinado.....	82
5.3.3. Tinción de actividad celular (Gerlach, 1969).....	83
5.3.4. Tinción con Azul de Toluidina (Gahan, 1984).....	83
5.3.5. Tinción de hidratos de carbono insolubles.....	84
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	85
1. INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y DESCRIPCIÓN DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ” EN CANARIAS.....	86
1.1. Incidencia y datos climáticos precedentes.....	86
1.2. Distribución geográfica de las plantaciones muestreadas.....	89
1.3. Descripción de la sintomatología de las plantas muestreadas asociada al Falso Mal de Panamá.....	90
1.4. Diferencias y similitudes entre el Mal de Panamá (MP) y el Falso Mal de Panamá (FMP).....	92
1.5. Resultados de los análisis foliares.....	94
1.6. Resultados de los análisis de suelos físico-químicos.....	95
1.7. Resultados de los análisis microbiológicos de suelos.....	98
2. AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS BACTERIANOS Y FÚNGICOS.....	101
2.1. Caracterización cultural de los aislados bacterianos.....	103
2.1.1. Identificación fenotípica y metabólica de las cepas bacterianas seleccionadas. Pruebas de hipersensibilidad en hojas de tabaco (Lelliot y Stead, 1987).....	105
2.1.2. Ensayo comparativo del crecimiento de una cepa bacteriana durante 24 h y 48 h mediante HPGC.....	107
2.1.3. Caracterización por ácidos grasos de membrana y API 20E, API 20NE.....	109
2.2. Identificación y caracterización cultural de los aislados fúngicos	111
2.2.1. Caracterización por grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCGs) de los aislados pertenecientes al género <i>Fusarium</i>	115

2.2.2. Caracterización por velocidad de crecimiento en placa en los medios de cultivo PDA y Komada, a 15°C y 25°C de los aislados pertenecientes al género <i>Fusarium</i>	118
3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	119
3.1. Pruebas de patogenicidad de bacterias.....	119
3.2. Pruebas de patogenicidad in vitro de hongos.....	123
3.3. Ensayo de patogenicidad de especies fúngicas en invernadero, a temperatura de 25-30°C bajo condiciones de encharcamiento.....	133
3.4. Ensayo de patogenicidad de especies fúngicas a temperaturas de 17°-28°C bajo condiciones de encharcamiento y con simulación de daños mecánicos.....	139
4. INTERACCIÓN DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS	143
4.1. Ensayo preliminar con suelos esterilizados y no esterilizados de plantaciones comerciales.....	143
4.1.1. Suelos del Norte de Tenerife.....	143
4.1.2. Suelos del Sur de Tenerife.....	148
4.2. Ensayo de mejora de la estructura de un suelo mediante la mezcla con “picón”(lapilli volcánico).....	155
4.3. Ensayo de encharcamiento del sustrato durante diferentes tiempos (2, 4, 6 y 24h) en macetas de 5 litros de capacidad.....	160
4.4. Ensayo de encharcamiento permanente e intermitente del sustrato turba:picón (70:30) en contenedores de 50 litros de capacidad.....	167
4.5. Ensayo de simulación en condiciones controladas de compactación del suelo y encharcamiento intermitente.....	173
4.6. Ensayo “Compactación del suelo y dosis de Riego”.....	180
5. ESTUDIOS HISTOQUÍMICOS.....	188
5.1. Muestras de cortes en fresco.....	188
5.2. Muestras fijadas incluidas en parafina.....	192
CONCLUSIONES.....	205
BIBLIOGRAFÍA.....	208
ANEXO	I
1. BACTERIAS.....	II
1.1. Medio Agar Nutritivo (NA).....	ii

1.2.	Medio LPGA_____	ii
1.3.	Detección de pigmentos fluorescentes en medio B de King (Hing y col., 1954).__	ii
1.4.	TSBA_____	iii
1.5.	Reacción a una solución de KOH al 3%_____	iii
1.6.	Tinción del gram_____	iii
1.7.	Crecimiento anaeróbico en el medio Hugh y Leifson (Hugh y leifson, 1953)____	iv
1.8.	Reacción oxidasa (Kovaks, 1956)_____	iv
1.9.	Reducción de nitratos (Coother, 1987)_____	iv
1.10.	Degradación de almidón a glucosa_____	v
1.11.	Degradación de la gelatina_____	v
1.12.	Prueba de la patata_____	v
1.13.	Arginina dihidrolasa (Thornley, 1960)_____	vi
1.14.	Esculina_____	vi
1.15.	Urea_____	vii
1.16.	Composición de los reactivos para el protocolo de extracción de ácidos grasos (I), Sistema MIS_____	vii
1.17.	Consideraciones del sistema MIS o MIDI, en la cromatografía de gases para la identificación de microorganismos._____	viii
1.18.	Reactivos utilizados en el protocolo de extracción de ácidos grasos (II). Metanolisis _____	ix
1.19.	Condiciones del cromatógrafo UAB _____	ix
2.	HONGOS_____	X
2.1.	Medio MS (Murashige y Skoog 1962)_____	x
2.2.	Medio de cultivo utilizado en los ensayos preliminares in vitro._____	xi
3.	HISTOQUIMICA_____	XII
3.1.	Orígenes de las muestras para cortes en fresco_____	xii
3.2.	Orígenes de las muestras procesadas con parafina_____	xii
3.3.	Protocolo de deshidratación_____	xii
3.4.	Mexclas TBA _____	xiii
3.5.	Protocolo de Inclusión en Parafina_____	xiii
4.	PLAN DE ABONADO DEL ENSAYO DE DIFERENTES DOSIS DE RIEGO Y COMPACTACIÓN EN CAMPO_____	XIV



ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Ciclo de cultivo de la platanera cultivar ‘Gran Enana’ en condiciones de Canarias. El cultivo de la platanera en Canarias.....	10
Fig.2. El triángulo epidemiológico de la enfermedad (tetraedro incluyendo el factor tiempo) representa las interacciones de los 4 factores principales gráficamente.	33
Fig.3. Protocolo de identificación seguido según los resultados de las pruebas metabólicas obtenidos.....	55
Fig.4. Siembra por agotamiento, en 4 cuadrantes aconsejada por la casa comercial Hewlett-Packard© 5898 Microbial Identification System, para realizar el perfil de ácidos grasos sobre las colonias crecidas en el tercer cuadrante a las 24 h de crecimiento.....	57
Fig.5. Esquema para el ensayo de complementariedad entre VCG’s de las especies pertenecientes al género <i>Fusarium</i>	63
Fig.6. Esquema del diseño para el cálculo de la velocidad de crecimiento en placa de Petri de diferentes especies fúngicas.....	64
Fig.7. Esquema del diseño empleado para producir encharcamiento sobre las plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en macetas de capacidad 5l.....	74
Fig.8. Esquema del diseño empleado para el tratamiento de encharcamiento intermitente y control del nivel de agua, sobre plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en macetas de 50 l de capacidad.....	75
Fig.9. Esquema del diseño empleado para los diferentes tratamientos de encharcamiento, esterilización y compactación del suelo sobre las plataneras cultivar ‘Gran Enana’.....	77
Fig.10. Esquema de la talla del bloque de parafina en función de la orientación de la muestra insertada para su posterior corte en el microtomo. Disposición de los cortes sobre el portaobjetos.....	82
Fig.11. Mapa de Tenerife.....	86
Fig.12. Datos meteorológicos.....	86
Fig.13. Datos meteorológicos.....	87
Fig.14. Síntomas externos de MP en platanera.....	93
Fig.15. Síntomas externos de FMP en platanera.....	93
Fig.16. Síntomas internos de MP en platanera.....	93
Fig.17. Rizoma con síntomas de FMP en platanera.....	93
Fig.18. Valores foliares de nutrientes en plantaciones del norte de Tenerife.....	94
Fig.19. Curva de Richard, para los suelos de plantas enfermas y plantas sanas de la plantación 1 (P1) de la plantación “El Cardón”.....	97

Fig.20. Frecuencia de los géneros fúngicos y total de bacterias /número de puntos de siembra y procedencia de las muestras.....	102
Fig.21. Reacción positiva de hipersensibilidad en hoja de tabaco por la inoculación de una cepa perteneciente al género <i>Xanthomonas</i>	105
Fig.22. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del primer cuadrante a las 24 h de crecimiento.....	108
Fig.23. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del primer cuadrante a las 48 h de crecimiento.....	108
Fig.24. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del tercer cuadrante a las 48 h de crecimiento.....	108
Fig.25. Frecuencia de aislamiento (aislados al menos una vez por submuestra) de las especies fúngicas asociadas a muestras de material vegetal con síntomas de FMP, calculada a partir de (número de aislamientos de la especie / número total de submuestras procesadas) x 100.....	111
Fig.26. Frecuencia de aislamiento respecto al órgano del que proceden, de las especies más abundantes pertenecientes al género <i>Fusarium</i>	114
Fig.27. Compatibilidad vegetativa entre un aislado <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cabense</i> mutante nit 1 y mutante nit M VCG 0120 de referencia.....	117
Fig.28. Compatibilidad vegetativa débil entre un aislado <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cabense</i> mutante nit 1 y mutante nit M.....	117
Fig.29. a) FOC reacción Komada positiva colonias laciniadas. b) FO reacción Komada negativo	117
Fig.30. Detalle del avance a través de los vasos del pseudotallo de una cepa de <i>Xanthomonas campestris</i> inoculada.....	122
Fig.31. Peso fresco y peso seco de las plantas de platanera cultivar ‘Gran Enana’ in vitro bajo temperatura 17°/26° C y con/sin hipoxia radical.....	125
Fig.32. Inoculación in vitro con <i>Fusarium subglutinans</i> y control.....	132
Fig.33. Inoculación con <i>Fusarium subglutinans</i> con y sin aceite mineral.....	132
Fig.34. Perspectiva general del ensayo de inoculación con diferentes aislados fúngicos sobre plántulas del cultivar ‘Gran Enana’ de platanera.....	132
Fig.35. Análisis no paramétrico Kruskal Wallis de los valores (escal INIBAP) de severidad de los síntomas en rizoma observados en plataneras del cultivar ‘Gruasa’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP, bajo condiciones controladas de invernadero a 26°-30°C.....	133

Fig.36. Análisis no paramétrico Mann-Whitney U de la severidad de síntomas evaluados mediante la escala INIBAP. de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP, bajo condiciones de encharcamiento y no encharcamiento en invernadero climatizado con temperaturas entre 26°-30°C.	134
Fig.37. Vista general del ensayo de patogenicidad en condiciones de invernadero de diferentes especies fúngicas en combinación con encharcamiento, sobre cv ‘Gran Enana’	138
Fig.38. Detalle de síntomas en rizoma, avance por el cilindro central de raíz	138
Fig.39. Detalle de rizoma con síntomas de punteado típico de FMP	138
Fig.40. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma obtenidos en plataneras cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con una selección de especies fúngicas bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C y encharcamiento del suelo.	139
Fig.41. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma obtenidos en plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con una selección de especies fúngicas bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C. A la izquierda: Efecto del encharcamiento del suelo sobre la expresión de los síntomas en rizoma. A la derecha: Efecto del corte de las raíces sobre la expresión de los síntomas en rizoma.	140
Fig.42. Tendencia de la diferencia de pH del agua de riego con el pH del agua de drenaje en plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a encharcamiento e inoculadas con diferentes especies fungicas.	142
Fig.43. Tendencia de la conductividad (mS) en plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a encharcamiento e inoculadas con diferentes especies fungicas.	142
Fig.44. Síntomas en el interior del rizoma en plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ en diferentes suelos esterilizados/no esterilizados del norte de Tenerife. A la izquierda valores para los suelos 1 (C), 2 (E), 3 (Z.). A la derecha, Valores para suelo esterilizado (1) y no esterilizado (2).	143
Fig.45. Frecuencia de plantas con síntomas en rizoma, muertas y sanas en los diferentes suelos del norte de Tenerife para el tratamiento esterilización/no esterilización. Códigos de suelos C=1; E=2; Z=3.	144
Fig.46. Severidad de síntomas externos de platanera del cultivar ‘Gran enana’ en suelos del sur de Tenerife. A la izquierda aparece representadas las medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma y amarilleo encontrados en los tres suelos (1, 2, 3) ensayados. A la derecha aparecen representadas las MSR de los síntomas en rizoma y amarilleo donde 1: es suelo esterilizado y 2 es suelo no esterilizado.	149

Fig.47. Frecuencia de plantas sanas, muertas y con síntomas en rizoma en los diferentes suelos del sur de Tenerife para los tratamientos esterilización/no esterilización.....	150
Fig.48. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma, acortamiento de entrenudos y amarilleo de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo procedente de la plantación “Carmelo Villa” (C), bajo condiciones de suelo esterilizado y no esterilizado.....	155
Fig.49. Síntomas producidos en plataneras cv ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo procedente de la plantación Carmelo Villa, bajo condiciones de mezcla de suelo (25 %, 50 %, 75 % y 100 %) con picón.	156
Fig.50. Severidad de síntomas de amarilleo y necrosis en rizoma producidos en platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en sustrato tierra/picón bajo condiciones de diferentes tiempos de encharcamiento (2, 4, 6 y 24 h),.....	160
Fig.51. Severidad de síntomas en rizoma de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en sustrato turba/picón (70:30) bajo condiciones de diferentes tiempos de encharcamiento.....	167
Fig.52. Interacción de los factores suelo esterilizado / No esterilizado * suelo encharcado / no encharcado.....	176
Fig.53. Evolución del pH y de la conductividad del agua de drenaje en un ciclo de 3 d de encharcamiento/ 4 días de drenaje /3 días de encharcamiento.....	177
Fig.54. Bandejas utilizadas en el tratamiento de encharcamiento intermitente.....	179
Fig.55. Punteado discontinuo en el pseudotallo característico del FMP.....	179
Fig.56. Síntoma característico del FMP en rizoma. Oscurecimientos en el anillo vascular y en la médula.....	179
Fig.57. Datos climáticos facilitados por el servicio de meteorología del Dpto. de Suelos y riegos del ICIA, en la localidad de Güímar.....	180
Fig.58. Localización de las plantas con síntomas en el ensayo sobre el efecto de compactación y diferentes dosis de riego en campo sobre un ciclo de cultivo de cv ‘Gran Enana’	185
Fig.59. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado).....	186
Fig.60. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado).....	186
Fig.61. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (250% del asesorado).....	187

Fig.62. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado).....	187
Fig.63. Corte en fresco del pseudotallo de planta sana, detalle de la organización los vasos xilema y floema, en planta sana, x4 sin teñir.....	190
Fig.64. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x4 sin teñir.....	190
Fig.65. Detalle de la Fig.63. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x10 sin teñir.....	190
Fig.66. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x4 Tinción calcofluor.....	190
Fig.67. Corte en fresco, detalle de células lignificadas de la endodermis en planta sana. x10. Tinción Floroglucinol.....	191
Fig.68. Corte en fresco, detalle de células cercanas a la epidermis lignificadas. x 4 Tinción con Floroglucinol (sup.). Planta con FMP. (inf) detalle x10 Tinción con Floroglucinol.....	191
Fig.69. Detalle de rafidio en corte de raíz de planta con FMP en fresco. x10. Tinción azul de Tripán.....	191
Fig.70. Corte en fresco de raíz de planta con FMP, donde se observan los espacios aéreos que configuran el aerenquima.x4 sin teñir.....	191
Fig.71. Corte en fresco de la raíz de planta control. x10. Tinción con auramina O.....	191
Fig.72. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta control. x10. Tinción PAS.....	194
Fig.73. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción PAS.....	194
Fig.74. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción PAS.....	194
Fig.75. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. Rafidios. x40. Tinción con calcofluor.....	194
Fig.76. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Calcofluor.....	195
Fig.77. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Tinción Calcofluor.....	195

Fig.78. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Sin teñir.	195
Fig.79. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Sin teñir.	195
Fig.80. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Tinción Auramina O.	195
Fig.81. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Sin teñir.	195
Fig.82. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Auramina O.	196
Fig.83. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x40. Tinción Azul de toluidina.	196
Fig.84. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción Gerlach.	196
Fig.85. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción Gerlach.	196
Fig.86. Corte en parafina (10 μ) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Gerlach.	196
Fig.87. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Sin teñir.	198
Fig.88. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Calcofluor.	198
Fig.89. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Auramina O.	198
Fig.90. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Gerlach.	199
Fig.91. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina.	199
Fig.92. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Sin tinción.	199
Fig.93. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Auramina O.	199

Fig.94. Corte en parafina (10 μ) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Gerlach.....	199
Fig.95. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con sana. x25. Tinción Gerlach.....	202
Fig.96. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina.....	202
Fig.97. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Gerlach.....	202
Fig.98. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x10. Tinción Gerlach.....	203
Fig.99. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción Gerlach.....	203
Fig.100. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción Gerlach.....	203
Fig.101. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción Azul de Toluidina.....	203
Fig.102. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x25. Tinción PAS.....	204
Fig.103. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción PAS.....	204
Fig.104. Corte en parafina (10 μ) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina.....	204



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de referencia extraídos de diferentes fuentes incluidas en (Alves, 1997) y (Galan Sauco, 1992).....	45
Tabla 2. Características culturales de diferentes especies del género <i>Fusarium</i> , empleadas para su identificación. Procede de diversas fuentes (Nelson, 1983) y (Nelson y Ploetz, 1990).....	61
Tabla 3. Caracterización de tipo de mutantes (+): crecimiento tipo salvaje (-): crecimiento hialino (Ploetz et al., 1992).....	62
Tabla 4. Complementariedad entre los diferentes mutantes (Ploetz et al., 1992):.....	63
Tabla.5. Incidencia del “Falso Mal de Panamá” (FMP) en diferentes áreas de producción en Las Islas Canarias.....	89
Tabla.6. Parámetros físico-químicos del suelo de muestras procedentes de tres plantaciones del sur de Tenerife.....	95
Tabla.7. Valores de referencia para diferentes texturas de suelos de la Capacidad de campo (CC) y Punto de marchitamiento permanente (Pmp) (Forsythe, 1975).....	96
Tabla.8. Análisis de la textura (USDA) de dos parcelas de la plantación comercial “El Cardón” del norte de Tenerife.....	96
Tabla.9. Análisis físicos de los suelos presentes en la parcela 1 (P1) y parcela 2 (P2) de la finca comercial “El Cardón”.....	96
Tabla.10. Valores medios de UFC/100 g de especies fúngicas, bacterianas en los medios PDA, Komada y King B, de suelos asociados a FMP, realizados sobre tres repeticiones de cada subparcela (C1, C2, C3) del suelo de la plantación comercial “Carmelo Villa” situada en el norte de Tenerife, municipio de Los Realejos.....	98
Tabla.11. Valores medios de UFC/100 g de especies fúngicas, bacterianas y <i>Fusarium</i> spp en los medios PDA y Komada de suelos asociados a FMP, realizados sobre tres repeticiones de la parcela 1 (P1) del suelo de la plantación comercial “El Cardón” situada en el norte de Tenerife, municipio de Buenavista.....	99
Tabla.12. Valores medios de UFC/100 g en suelo de especies fúngicas, bacterianas en los medios PDA y Komada de suelos asociados a FMP de la plantación comercial “Economista” situada en el norte de Tenerife, municipio de Buenavista del Norte.....	100
Tabla.13. Número total de muestras procesadas para el aislamiento de los microorganismos asociados al FMP, según el órgano vegetal de procedencia y su sintomatología (FMP y MP).....	103
Tabla.14. Número total de aislados bacterianos y número de cepas seleccionadas para su identificación y caracterización.....	103

Tabla.15.	Número y caracterización fenotípica en medio LPGA (48 h y 25°C) de las cepas seleccionadas para su posterior identificación y caracterización metabólica.....	104
Tabla.16.	Grupos metabólicos correspondientes a especies y géneros bacterianos (manual de Bergey's) en combinación con las pruebas de HR.	106
Tabla.17.	Caracterización por ácidos grasos de membrana, API 20E y API 20NE de las cepas seleccionadas, representantes de los grupos obtenidos a partir de las caracterizaciones fenotípicas y de las pruebas metabólicas.....	110
Tabla.18.	Número y frecuencia relativa de aislamiento de las diferentes especies fúngicas asociadas, en función del órgano estudiado.....	112
Tabla.19.	Número y frecuencia relativa de los aislados pertenecientes al género <i>Fusarium</i> asociadas a plantas con síntomas de FMP, en función del órgano estudiado.....	113
Tabla.20.	Compatibilidad con el VCG 0120 de la selección de aislados pertenecientes a la especie <i>F.oxysporum</i> y frecuencia de obtención de los mutantes nit 1; nit 3; nit M y crn.....	115
Tabla.21.	Velocidad de crecimiento (mm/h) de las especies más frecuentes asociadas a plantas con síntomas de FMP pertenecientes al género <i>Fusarium</i> , realizada con 5 repeticiones en los medios de cultivos PDA y Komada.....	118
Tabla.22.	Severidad de síntomas en rizoma y avance de las necrosis en pseudotallo de plataneras del cultivar. 'Gran Enana' inoculadas con aislados bacterianos asociados al FMP.....	119
Tabla.23.	Nº de plantas de platanera del cultivar 'Gran Enana' que a los 30, 60, 70 y 90 días de la inoculación con aislados bacterianos asociados al FMP, manifestaban síntomas en rizoma y/o en los vasos.....	121
Tabla.24.	Severidad expresada en porcentaje de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y de muertes de plántulas de platanera del cultivar 'Gran Enana' inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas in vitro bajo condiciones de hipoxia radical y Tª 17°C/26°C.....	123
Tabla.25.	Resultados del ANOVA para las variables peso fresco y seco de plántulas de platanera cultivar 'Gran Enana' inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas in vitro bajo condiciones de 26°C y con/sin hipoxia radical y 17°C y con/sin hipoxia radical.....	124
Tabla.26.	Medias de los valores de los pesos frescos y pesos secos de las plantas de platanera in vitro cultivar 'Gran Enana' inoculadas con diferentes especies fúngicas.....	124

Tabla.27. Severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y porcentaje de muerte de plataneras cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas in vitro bajo condiciones de temperatura de 17/26°C y con/sin hipoxia radical	126
Tabla.28. Efecto del factor especie fúngica sobre la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma y porcentaje de muerte de plántulas de platanera cv ‘Gran Enana’ en pruebas de inoculación in vitro.....	127
Tabla.29. Resultados de la prueba Man-Whitney U de la comparación del tratamiento control con cada una de las especies fúngicas para la severidad de los síntomas externos, necrosis de rizoma, colapso y porcentaje de muertes de plántulas de platanera cv ‘Gran Enana’ en pruebas in vitro.....	128
Tabla.30. Resultados de la prueba de Mann-Whitney U no paramétrica para la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y muerte de plántulas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con FOC en pruebas in vitro, T° 17/26°C y con/sin hipoxia radical	129
Tabla.31. Resultados de la prueba de Mann-Whitney U no paramétrica para la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y muerte de plántulas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con <i>Fusarium proliferatum</i> en pruebas in vitro, T° 17/26°C y con/sin hipoxia radical.....	130
Tabla.32. Resultados del ANOVA y valores medios de variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gruesa’, inoculadas con diferentes especies fúngicas bajo condiciones de encharcamiento / no encharcamiento del suelo.....	135
Tabla.33. Efecto del encharcamiento sobre el peso fresco (pf), peso seco (ps) y altura de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ plantadas en suelo natural y en sustrato de turba:picón (70:30), utilizados como control bajo condiciones controladas de invernadero a 25°C.....	135
Tabla.34. Valores medios de macro y micronutrientes en hojas de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con diferentes especies fúngicas asociadas al FMP y sometidas a encharcamiento del suelo, bajo condiciones controladas de invernadero a 25°C	136
Tabla.35. Prueba Mann-Whitney de los síntomas en rizoma producidos por la inoculación con FOC bajo encharcamiento/no encharcamiento y raíces cortadas/no cortadas.....	140
Tabla.36. Resultados del ANOVA y valores medios de macro y micronutrientes de hojas de platanera del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con los hongos seleccionados y	

sometidas a encharcamiento del suelo bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C.....	141
Tabla.37. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ en muestras de suelos en esterilizados y no esterizados, procedentes de 3 plantaciones comerciales de la vertiente norte de la isla de Tenerife con FMP.....	145
Tabla.38. Resultados del ANOVA para macro y micronutrientes de las plataneras cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos Norte de Tenerife en condiciones de suelo esterilizado y no esterilizado.....	146
Tabla.39. Valores medios de magnesio y boro de muestras foliares combinadas de platanera cultivadas en suelos del Norte de la Isla de Tenerife.....	147
Tabla.40. Valores medios de Na (ppm) de muestras foliares combinadas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos del norte de Tenerife en condiciones de suelo esterilizado/no esterilizado.....	147
Tabla.41. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en tres suelos del sur de Tenerife bajo condiciones de suelo esterilizado/no esterilizado.....	150
Tabla.42. Valores medios para diferentes variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en tres suelos del sur de Tenerife bajo condiciones de esterilización/no esterilización.....	151
Tabla.43. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas para el factor suelo esterilizado / suelo no esterilizado de plantas ‘Gran Enana’ en suelos del sur de Tenerife.....	152
Tabla.44. Resultados del ANOVA y valores medios de micro y macronutrientes de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en suelos del sur de Tenerife esterilizados y no esterilizados.....	153
Tabla.45. Valores medios de micro y macronutrientes de muestras foliares combinadas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ del Sur de la Isla de Tenerife cultivadas.....	153
Tabla.46. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en mezclas de suelos con diferentes cantidades de picón, de tres muestras del suelo de la plantación comercial “Carmelo Villa” situada en el norte de la isla de Tenerife, en condiciones de mezclas de suelos esterilizadas y no esterilizadas.....	157

Tabla.47. Valores medios de diferentes variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife	158
Tabla.48. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plantas del cultivar ‘Gran enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife, para la infección mezcla de suelo por esterilización del suelo.	159
Tabla.49. Valores medios de diferentes variables fenológicas de plantas del cultivar ‘Gran enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife, para la infección mezcla de suelo por esterilización del suelo.	159
Tabla.50. Efecto de diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h) sobre las variables fenológicas de plataneras cv ‘Gran Enana’.	161
Tabla.51. Efecto de diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h) sobre las variables de peso fresco (pf) y peso seco (ps) en diferentes órganos de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’.	161
Tabla.52. Valores medios de micro y macronutrientes del pseudotallo de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).	162
Tabla.53. Valores medios de micro y macronutrientes del nervio foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).	163
Tabla.54. Valores medios de micro y macronutrientes de “cigarro puro” (última hoja emitida sin desarrollar) de las plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).	164
Tabla.55. Valores medios de micro y macronutrientes del peciolo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).	164
Tabla.56. Valores medios de micro y macronutrientes de limbo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).	165
Tabla.57. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ para el factor tratamiento de encharcamiento (A, B, C y D)*	169

Tabla.58. Efecto de diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) sobre las variables de peso fresco (pf) y peso seco (ps) en diferentes organos de platanera del cultivar ‘Gran Enana’	169
Tabla.59. Efecto de diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) sobre variables relacionadas con raíces de platanera del cultivar ‘Gran Enana’	170
Tabla.60. Analisis de macro y micronutrientes en el limbo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) cultivadas en macetas de 50 l de capacidad en sustrato turba:picón (70:30).	171
Tabla.61. Analisis de macro y micronutrientes en el peciolo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) cultivadas en macetas de 50 litros de capacidad en sustrato turba:picón (70:30).	172
Tabla.62. Síntomas en rizoma de plantas de platanera de cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo esterilizado y no esterilizado, sometido a encharcamiento y compactación.	173
Tabla.63. Resultados del ANOVA y valores medios de las variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos esterilizados y no esterilizados bajo condiciones de encharcamiento intermitente y compactación.	174
Tabla.64. Valores medios del diametro del pseudotallo y emisión de nº de hojas en platanera del cultivar ‘Gran Enana’ bajo el efecto de la interacción del tratamiento encharcamiento con esterilización del sustrato tierra:picón (70:30).	176
Tabla.65. Resultados del ANOVA para las variables Altura del pseudotallo, (AltI9159); Diámetro (DiamI915) y Número de hojas(NhI915) de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en una parcela bajo diferentes niveles de compactación del suelo y diferentes dosis de riego.	181
Tabla.66. Valores medios de los factores bloque y riego para las variables altura, diametro y número de hojas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en una parcela bajo diferentes niveles de compactación del suelo y diferentes dosis de riego	181
Tabla.67. Resultados del ANOVA para las variables PL-PAR; PP, PR; NM y ND de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo con diferentes niveles de compactación y a diferentes dosis de riego.	182

Tabla.68. Valores medios para los factores bloque y riego de las variables PL-PAR; PP; PR; NM; y ND.....183



JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

Desde finales de la década de los 80, cuando se estaban iniciando los trabajos sobre el Mal de Panamá (MP) en Canarias (Hernández, 1997), se empezaron a observar casos con una sintomatología similar pero de los que no se podía aislar su agente patógeno, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), sino otras especies fúngicas entre las cuales se encontraban miembros de la especie colectiva *F. oxysporum*, habitantes comunes de los suelos, acompañadas en muchos casos de bacterias. Los agricultores utilizaban el término “veta negra” para diferenciar estos casos de los de la “veta amarilla”, nombre popular del MP. Los primeros casos, se presentaron en Buenavista, municipio situado en el Norte de la Isla de Tenerife.

Sin embargo, la incidencia de casos fue aumentado en los últimos años, sobre todo en los años 96, 97 y 98, en el que se llegaron a alcanzar valores del 20% o superiores. A lo largo de los años 1999-01, el número de casos ha sido menor, quizás porque también ha descendido el número de nuevas plantaciones, motivado por la suspensión de las subvenciones al material de plantación, por haber tenido una climatología favorable durante este periodo o porque el agricultor ya reconocía los síntomas asociados y no necesitaba de un diagnóstico, y en muchos casos sabían también que mejorando la estructura de sus suelos y espaciando el riego durante el día conseguían mejorar el drenaje y en muchos casos solucionaban el problema.

Según las cifras de incidencia del año 1998, sólo en el material de plantación se podrían estimar unas pérdidas en torno a los 108.000 €, a lo que habría que añadir todos los gastos de mano de obra, riegos, abonados etc. Dado que las cifras de incidencia podrían suponer el equivalente de unas 60 Ha, el total de pérdidas podría estimarse en unos 480.000-600.000 € para dicho año. En los casos de plantaciones muy afectadas, las pérdidas podrían considerarse totales, pues los hijos también suelen estar afectados o acaban afectándose y no parecía conveniente utilizarlos para continuar el ciclo productivo. Estas cifras, aunque pueden resultar poco importantes, si lo son para un sector que es muy sensible a cualquier incidencia que amenace la rentabilidad de la producción, y que había asistido en la última década a la sustitución del cultivares ‘Pequeña Enana’ por el ‘Gran Enana’, al último episodio de Mal de Panamá, a la aparición del BSV (Banana streak virus) y la expansión del “picudo” (*Cosmopolites sordidus*).

Este sector era el año 1999 el segundo de mayor importancia en cuanto a la superficie cultivada, con 8.922,7 Ha, de las cuales 7.296,7 correspondían a la provincia de Tenerife, con una producción total de 362.313 Tm que suponían 141.323.604 € y una contribución a la producción agraria del 20,86% (Anónimo, 1999). Su importancia económica y social es enorme pues da lugar a 25.000 empleos directos y 100.000 relacionados cultivo y que agrupa tanto a pequeños como a grandes productores (Anónimo, 1995-1996).

En Sudáfrica, Deacon et al. (1985) describieron una sintomatología similar al “Mal de Panamá” causado por FOC a lo que denominaron “*Fals Panama disease*”, estableciendo los primeros criterios para diferenciarlos. En nuestro trabajo hemos utilizado la traducción al castellano “Falso Mal de Panamá” para una sintomatología coincidente con sus descripciones.

A principios y mediados de siglo pasado se describieron en la región centro americana y Caribe desordenes aparentemente similares bajo las denominaciones de “*Yellow Mat*” (“Mata Amarilla”) por Prescott (1917) y Dunlap (1923), y “*Colorado disease*” por Permar (1925) y Reinking (1926) aludiendo a la región donde se observó.

La etiología del desorden se desconoce. En las pruebas de inoculación realizadas por los autores citados y por Hernández (1997), con algunas especies fúngicas pertenecientes al genero *Fusarium*, no se logró reproducir los síntomas. Por ello, se ha sugerido que algún factor abiótico pueda ser la causa del desorden, en particular los relacionados con suelos pesados, compactación y mal drenaje que pueden conducir a problemas de nutrición aunque no se ha excluido la implicación de algún agente biótico. En nuestras observaciones preliminares (Sabadell González and Hernández, 1999), la mayoría de las plantaciones que presentaban “Falso Mal de Panamá” también presentaban suelos arcillosos y los máximos picos de incidencia se dieron en enero y febrero, los meses mas fríos del año.

La acción de las bajas temperaturas, la compactación y el encharcamiento del suelo producen síntomas de amarilleo en platanera, pero no se ha documentado que produzcan decoloraciones vasculares. En platanera y otras plantas hospedadoras, se han descrito anomalías del xilema y del floema asociadas tanto a factores biótico como a factores abióticos, incluidas las deficiencias nutricionales. Los oscurecimientos vasculares se han asociado tradicionalmente a respuestas defensivas ante patógenos vasculares aunque también pueden producirse como respuestas inespecíficas a organismos no patógenos o

factores abióticos que producen activación enzimática oxidativa, acumulación de fitoalexinas, necrosis celulares sistémicas y bloqueos xilemáticos en algunas ocasiones.

En platanera ha sido documentada la pérdida de resistencia del cv. 'Willian' a FOC, provocada por el encharcamiento y la hipoxia concomitante. En otros patosistemas se han citado casos de complejos de enfermedades como en la seca del olivo, o de especies fúngicas de debilidad de debilidad, en las que era necesaria la concurrencia de algún agente abiótico para la expresión de la enfermedad, o la presencia de endófitos que eran patógenos latentes o especies saprófitas.

Por todo lo expuesto y siguiendo las hipótesis de Deacon *et al.*, se ha considerado de interés la realización de este trabajo, cuyo objetivo último ha sido contribuir al conocimiento de la etiología y epidemiología de este desorden.



OBJETIVOS

- I.** Determinar la incidencia, distribución y los factores que favorecen la aparición del FMP.
- II.** Aislamiento, identificación y caracterización de las especies fúngicas y bacterianas asociadas al FMP.
- III.** Determinar la patogenicidad de los aislados fúngicos y bacterianos asociados al FMP tanto en pruebas de inoculación simples como bajo la acción de factores abióticos.
- IV.** Estudiar el papel de los factores abióticos tipo de suelo, compactación y encharcamiento en la expresión de síntomas del FMP.
- V.** Realizar estudios histológicos para determinar la naturaleza de los oscurecimientos vasculares asociados al FMP y establecer un diagnóstico diferencial con el MP.



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1 CLASIFICACIÓN BOTÁNICA, ORIGEN, EVOLUCIÓN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA PLATANERA (*MUSA* SPP.)

La platanera es una planta monocotiledónea, orden *Scitaminales*, familia *Musaceae*, donde se encuentran las subfamilias *Heliconioideae*, *Strelitzioideae* y *Musoideae* (Simmonds, 1966). Esta última incluye los géneros *Ensete* y *Musa*. El género *Musa* está constituido por cuatro series o secciones: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys* y (*Eu-*) *Musa* (Simmonds 1962; 1966). Basándose en el número básico de cromosomas, Cheesman y Simmonds (1948) dividieron el género *Musa* en dos grupos: especies con $n=10$ cromosomas, que pertenecen a las secciones *Australimusa* y *Callimusa*; y especies con $n=11$ cromosomas, que integran las secciones *Rhodochlamys* y (*Eu-*) *Musa*. Esta última incluye la mayoría de las variedades cultivadas de platanera que provienen del cruzamiento de los diploides silvestres *M. acuminata* Colla (AA) y *M. balbisiana* Colla (BB), los cuales se originaron en el continente asiático, probablemente en la península Malaya (Simmonds, 1966) y de cuyas combinaciones resultan tres niveles cromosómicos distintos: diploides, triploides y tetraploides, con 2, 3 y 4 múltiplos del número básico de cromosomas ($n=11$) respectivamente (Simmonds y Shepherd, 1955).

La distribución geográfica de la platanera viene condicionada por sus exigencias climáticas ya que su zona de origen corresponde a los grandes bosques tropicales húmedos del sudeste asiático, en los que la atmósfera está siempre al borde de la saturación y el suelo permanece siempre húmedo. Requiere calor constante y humedad elevada para su correcto desarrollo. Estas condiciones se dan en la franja comprendida entre los paralelos 30° de latitud Norte y Sur (Galan Sauco, 1992), en las regiones cuya temperatura extrema clásica media oscila entre 10°C y 40°C. La humedad, temperatura y radiación solar así como las características de los diferentes tipos de suelos son los factores abióticos más importantes para el desarrollo de la planta. En el apartado de estrés abiótico se tratarán detalladamente sus efectos.

1.1 Anatomía de la platanera

Diferentes autores han descrito extensamente la planta (Champion, 1968), (Simmonds, 1966) y (Soto, 1985). Basado en estos estudios, a continuación se presenta un resumen de las principales características de las partes subterránea y aérea. El aparato subterráneo esta formado por la sucesión en el tiempo y el espacio, de tallos vegetativos de forma masiva y

globulosa, denominado rizoma, cuya función es de reserva además de ser el órgano a partir del cual se desarrollan las raíces (Simmonds, 1966). Las raíces son largas, cilíndricas, poco ramificadas y numerosas. Exploran el suelo en una profundidad de 20-30 cm y en un radio de 2-3 metros.

Del rizoma emergen lateralmente nuevas yemas que serán los “hijos” y que constituirán la siguiente generación. Bajo condiciones de cultivo y mediante la práctica del deshijado se eliminan los no deseados y suele dejarse uno solo. (Fig.1).

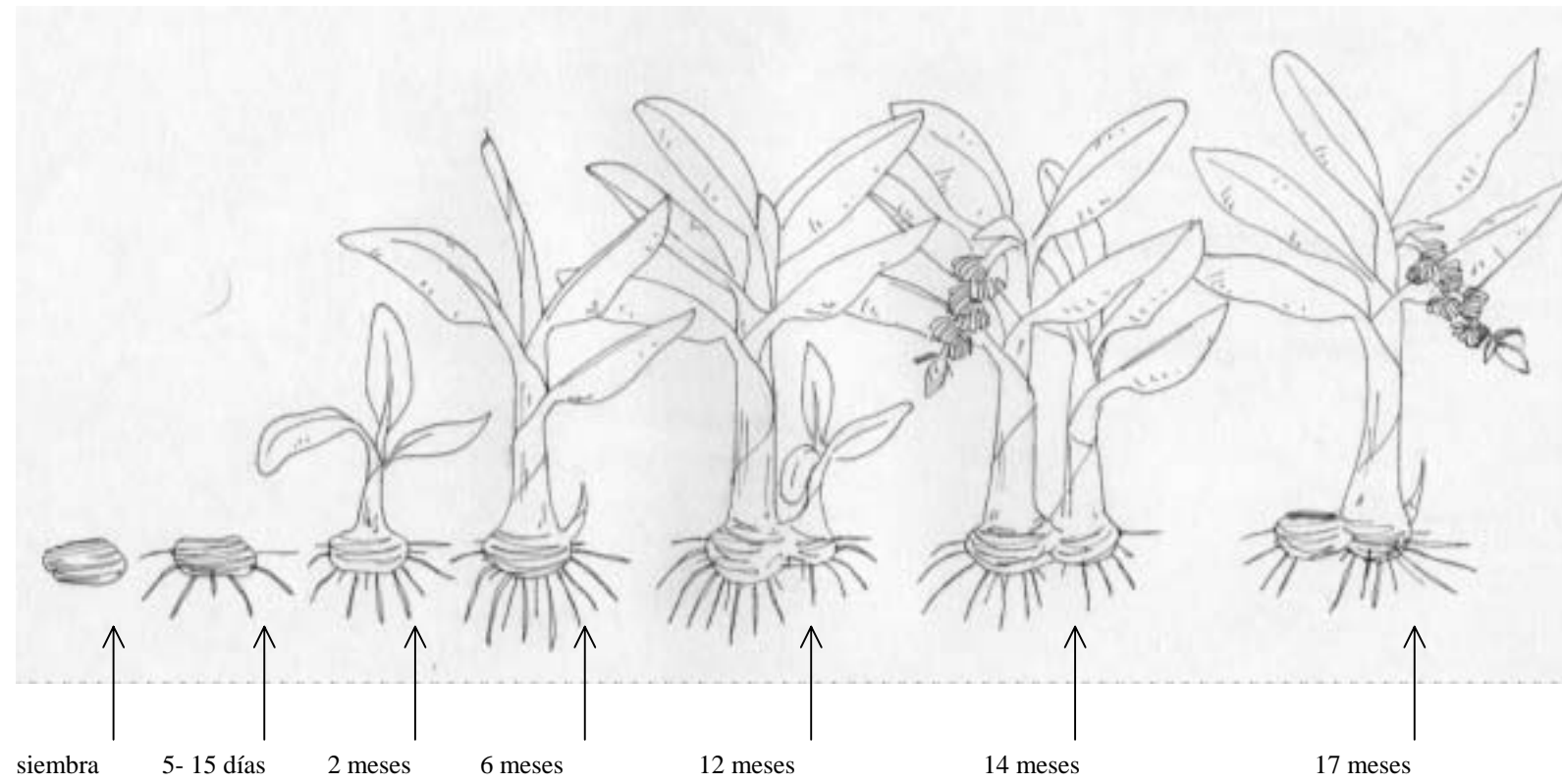
El aparato aéreo se compone de pseudotallo, pecíolos y limbos foliares. La vaina es el primer segmento del pecíolo directamente insertado en el rizoma. Está formada por tejidos conductores y fibro-suculentos. El conjunto concéntrico de todas las vainas constituye el pseudotallo.

El limbo está formado por dos semilimbos que son surcados muy regularmente por los nervios transversales (Champion, 1968). Los dos semilimbos no son exactamente simétricos. La emisión y diferenciación floral a partir de la fase vegetativa, tiene pocos signos externos que permitan saber en que momento se va a producir, aunque un parámetro eficaz es el número de hojas emitido, que suele ser un número constante en cada cultivar hasta que se produce la emisión floral o “piña”. Simmonds (1966) describe para el cv. “Dwarf Cavendish” que la piña se producía después de las hojas 16 a 21 en primer ciclo. (Galan Sauco y García Samarín, 1984); Galan Sauco (1992) describe para los cv. ‘Cavendish’ en condiciones de Canarias y de los subtrópicos, que a partir del 3^{er} ciclo, pueden llegar a emitir 40 hojas en total. Otro indicador eficiente es la reducción del área foliar de las últimas tres hojas antes de la inflorescencia (Alves, 1997).

Desde el punto de vista histológico, Sandoval y Müller (1990) estudiaron la morfología y anatomía de los diferentes órganos relacionándolos con su función en la planta. Lecuona (1975) realizó un estudio exhaustivo del cultivar ‘Pequeña Enana’ siendo su trabajo el primer estudio histológico de la platanera realizado en Canarias.

En *M. rosacea* (*M. ornata*), Alquini y Morretes (1996) hacen particular referencia al desarrollo del sistema vascular.

Fig. 1. Diagrama del ciclo vegetativo de la platanera cv 'Gran Enana', bajo condiciones de clima subtropical en Canarias. (Diseño de Salvador Díaz),



1.2 El cultivo de la platanera en Canarias

Las Islas Canarias, situadas en el Océano Atlántico cerca del Trópico de Cáncer entre las latitudes 27° 24' N y entre las longitudes 13° 20' t 18° 19' Oeste, poseen zonas de baja altitud con climas de tipo subtropical e incluso tropical que hacen posible la adaptación de gran número de especies “tropicales” que suelen ser siempre verdes, leñosos o herbáceos y con escasa o nula tolerancia a heladas (Galan Sauco, 1992).

Según la cronología dada por Simmonds (1966) y la revisión realizada por Galan Sauco (1992), la platanera (cultivares *Acuminata*) se establece en las costas del Mediterráneo sobre el siglo VII. Parece que a Canarias llega a finales del siglo XV traído por portugueses procedente de Guinea. Desde Canarias se estima que llegó a América a principios del siglo XVI (año 1516 a Santo Domingo).

Los actuales cultivares utilizados en Canarias son triploides de *M. acuminata* Colla (AAA), pertenecientes al subgrupo ‘Cavendish’ que incluye los cultivares mas utilizados en los subtrópicos, (Simmonds, 1966) y (Galan Sauco, 1992).

En Canarias predomina el cultivar (cv.) ‘Pequeña Enana’, aunque a partir de la década de los 90 comenzó una sustitución progresiva por el cultivar ‘Gran Enana’ del mismo grupo y por selecciones locales de ‘Pequeña Enana’ como ‘Gruesa’, ‘Brier’, ‘Negrita’, entre otras.

La evolución de la superficie cultivada en las islas ha sido diversa (Anónimo, 1999). En Tenerife, Rodríguez Brito (1985) cita que el incremento del cultivo llega hasta mediados de la década de los 70, cuando se produce un estancamiento de la superficie total, aunque ocurre un traspaso de superficies cultivadas de vertientes norte a sur. Actualmente se esta produciendo una disminución en dichas zonas debida a la competencia con el sector turístico.

La platanera es el principal cultivo del Archipiélago Canario con una superficie del orden de 9194 ha en 2001y 418.000 Tm de producción anual comercializada en la Unión Europea. Tenerife es la isla de mayor extensión y dedicación al plátano, con casi 4180 ha en 2001 y 6.000 ha (datos ISTAC). Los plátanos se producen en Canarias con un alto nivel de tecnología que incluye la preparación artificial del suelo, la utilización de plantas de cultivo *in vitro* de cultivares selectos y modernas técnicas de fertirrigación. Canarias es también el lugar donde la utilización de invernaderos para el cultivo del plátano está más avanzada en el ámbito mundial. Ello permite obtener rendimientos superiores a 90 (t/ha/año) en las mejores explotaciones plataneras (Rodrigo López, 2002).

1.3 Condiciones y características físico-químicas de los suelos en las plantaciones comerciales de Canarias.

En general, en los suelos de Tenerife predominan las arcillas (Perez Mateos y Fernandez Caldas, 1972) y (Rodriguez Pascual, 1971). Las tierras utilizadas para el cultivo de la platanera son muy diversas, en Canarias predominan los suelos volcánicos, que a menudo no son mucho más que roca fragmentada, lapilli o “picón”, obligando a los agricultores a preparar el terreno o “sorriba” construyendo terrazas en las que se incorporan tierras procedentes de las zonas altas de la isla (Galan Saucó, 1992), muy ricas en arcillas, sobre todo alófanas (Dominguez, 2001).

Estos suelos tienen tendencia a la compactación y a presentar drenajes pobres. Características similares han sido descritas para algunos suelos de Guadalupe (Dorel, 1990, 1993; Dorel y Ozier Lafontaine, 1998).

Alvarez et al. (1999) describen químicamente los suelos dedicados a la platanera de Canarias desde el punto de vista de la fertilidad. La mayoría, muestran pH neutros o ligeramente alcalinos, valores que pueden comprometer la disponibilidad de los iones hierro y manganeso para las plataneras en algunas plantaciones. Se observaron valores muy elevados de sodio perjudiciales para las plataneras que provocan toxicidades específicas y estrés por salinidad. El fósforo se encuentra en los niveles máximos requeridos por la platanera generalmente, lo que puede provocar bloqueos de disponibilidad de zinc. Los valores de calcio, magnesio, y potasio muestran medias elevadas, aunque la relación Ca:Mg y K:Mg en algunos suelos se decanta en beneficio del magnesio y potasio, respectivamente, lo cual puede llegar a afectar a la nutrición de las plataneras. Sobre el desequilibrio potásico-magnésico en los cultivos de plátanos en Tenerife, Garcia et al. (1978) concluyeron que el desequilibrio favorece al potasio en contra del magnesio y conduce a que la planta manifieste síntomas de carencia de magnesio y exceso de potasio. También habían observado que los niveles de sodio fueron siempre valores en exceso de la misma forma que los de potasio en muchos suelos, con la consecuencia de toxicidad y salinidad.

En Canarias, Suárez (2000) caracterizó el agua de riego utilizada en los suelos agrícolas del norte de Tenerife, en su mayoría procedente de pozos y aguas subterráneas, que poseen un elevado contenido de iones tóxicos como el Sodio y el Cloro y escasa presencia de Calcio, que provoca un aumento de SAR (Relación de adsorción de sodio). Vargas y

Rodríguez (2000) estudiaron la calidad del agua de riego en la zona productora del sur de Tenerife, de mejor calidad que la del norte. El aporte de agua con elevado sodio y bajo Calcio, a suelos con elevado contenido en arcillas expansibles hace que se produzcan hinchamientos de estas, ocasionando problemas de infiltración y acumulación de sales procedentes de los abonos, que puede conducir a encharcamiento además de salinidad en el suelo (Suárez y Santana, 2002).

2 ASPECTOS FITOPATOLÓGICOS. ENFERMEDADES DE LA PLATANERA.

A continuación se presenta una breve descripción de las principales enfermedades y desordenes conocidos hasta el momento de la platanera (Jones, 2000).

2.1 Nemátodos

Son varias las especies de nemátodos asociadas a la platanera: El de mayor importancia económica es *R. similes*. Las heridas causadas por su actividad son una vía de entrada de microorganismos secundarios, que producen coloraciones rosadas, pardeamientos vasculares y pudrición. Este nemátodo no se encuentra presente en Canarias. El género *Helicotylenchus* spp. y la especie *Rotylnchulus reniformis* tienen una gran importancia como parásitos de musáceas en muchos lugares productores de plátano o banano aunque en Canarias, solo está descrito *Helicotylenchus* sp.

Otros nemátodos importantes descritos para la platanera en Canarias cuya sintomatología en raíces se manifiesta de forma diferente según la naturaleza del nemátodo son: agalladores como *Meloidogyne incógnita* y *M. Javanica* o lesionadores como *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae*. La sintomatología externa recuerda a situaciones de estrés abiótico y bloqueos de nutrientes tales como amarilleos foliares y decaimiento principalmente (Rodríguez Santana et al., 1984).

2.2 Virus

Virus del Bunchy top (BBTV): Los síntomas iniciales consisten en estrías verde oscuras a lo largo de las nervaduras de las hojas y del peciolo. Posteriormente se observa una reducción de la lámina foliar y clorosis. Internamente se produce una hiperplasia con aumento de la división celular e hipertrofia del floema y parénquima adyacente que puede conducir a necrosis e invasión de sustancia mucilaginosas. El agente causal pertenece al grupo de los luteovirus, presentando partículas isométricas de diámetro variable entre 20 y 28 nm. Se transmite a través del pulgón *Pentalonia nigronervosa* Coquerel. Está considerada la principal virosis de la platanera, distribuida por Asia, África y algunas islas del Pacífico (Dale, 1993), hasta el momento no se ha descrito en Canarias (Thomas y Iskra Caruana, 2000).

Virus del mosaico del pepino (CMV): Los síntomas característicos varían desde suaves estrías amarillas hasta necrosis en las hojas. El agente causal presenta partículas esféricas y

un gran número de estirpes. Se transmite a través de áfidos como el *Aphis gossypii* Glover. Presente en Canarias.

Virus del rayado (BSV): Aunque la sintomatología es muy similar al CMV (Lockhart y Jones, 2000) varía según el aislado, el cultivar y el ambiente y puede expresarse desde unas discretas motas cloróticas hasta estrías necróticas. Generalmente los síntomas suelen ser rayas discontinuas o a veces continuas amarillas o cloróticas desde el nervio central a los márgenes. Pertenece al grupo de los badnavirus. Es transmitido por *Planococcus citri*, y se encuentra en Canarias.

Virus de las brácteas (BBrMV): Es el que más recientemente se ha descrito. Se diferencia del resto de virosis por producir un mosaico característico en las brácteas, aunque también produce en ocasiones un aumento de la pigmentación del pseudotallo. Pertenece a los potyvirus. Está transmitido por *Aphis gossypii* Glover, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) y *Pentalonia nigronervosa* Coquerel.

Otras virosis descritas en la platanera son: “**Virus del mosaico suave**” (BanMMV) que produce una sintomatología incierta, a veces observándose mosaico y rayas cloróticas en hojas y el “**Virus de la muerte de la hoja terminal**” (BDBV) que produce clorosis en hojas y arrugas, necrosis marginal y muerte de la última hoja no desenrollada o hoja “cigarro puro”.

2.3 Bacterias

En la platanera la enfermedad más importante producida por una bacteria es el “**Moko**”, cuyo agente causal es *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi, 1995); *Pseudomonas solanacearum* E.F. Sm raza 2, biovar 1; *Burkholderia solanacearum* (Hayward, 1994). Se trata de un organismo aerobio, gram negativo, no fluorescente. El patógeno utiliza los vasos conductores como medio de multiplicación y dispersión. Los haces vasculares acaban bloqueándose dando lugar a los síntomas característicos de amarilleo y marchitez, semejantes a los que la planta manifiesta cuando sufre sequía, como ocurre en otras enfermedades vasculares como el MP. Existen dos vías de infección, por el suelo (en la mayoría de plantaciones comerciales) y por insectos (en plátanos de cocinar). En los cultivares AAA, las plantas infectadas por ‘moko’ muestran amarilleamiento normal en las hojas más viejas, que se va acentuando al mismo tiempo que se propaga a las más nuevas. El follaje afectado se marchita y se dobla, quedando las hojas colgadas y adheridas a la planta (en falda). Los hijos de plataneras enfermas presentan también amarillosos y

marchitez con seca. La planta también presenta síntomas internos que se asemejan mucho a los síntomas asociados al MP (Thwaites, 1999) pues en el rizoma aparece una serie de puntos que pueden ser de color amarillo, marrón oscuro o casi negros, aunque la diferencia con la enfermedad vascular de origen fúngico es la presencia además de áreas blandas de color oscuro. Tales puntos no son otra cosa que el corte de las venas internas conductoras de la savia, las cuales han sido coloreadas por la acción tóxica de los agentes patógenos. Es característica de suelos arcillosos. Se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, aunque no se encuentra descrita en Canarias.

La enfermedad conocida como “**Banana Blood disease**”, que produce marchitez foliar y coloración roja de los frutos, está presente en Java y Sumatra y su etiología ahora parece estar clara (Thwaites, 1999) ya que podría estar producida por unas cepas bacterianas muy próximas a *Ralstonia solanacearum*, antes denominadas *Pseudomonas celebensis* nombre no válido actualmente (Eden Green y Sastraatmadja, 1990) o *Xanthomonas campestris* (Davis et al., 2000). Molina (1999), Stover y Espinoza (1992), la citan como *Pseudomonas celebensis* (*Xanthomonas campestris* pv. *celebensis*).

La “**Javanese Vascular Disease**”, enfermedad de particular interés, aunque no bien estudiada, en cuya etiología parecen intervenir especies de *Fusarium* y de *Pseudomonas* (Thwaites, 1999).

También han sido citadas como de menor gravedad otra serie de géneros y especies productoras de **podredumbres blandas del pseudotallo y del rizoma** como *Erwinia* sp. en especial la especie *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, que produce una pudrición en el rizoma (Pereira y Nunes, 1988), *E. carotovora* (Cedeno-M et al., 1990), *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (Lakshmanan y Mohan, 1992), *E. carotovora* (Robinson y Manicom, 1991) y *E. chrysanthemi*. En bananos FHIA, Guzman y Sandoval (1996) describen una decoloración vascular en producida por *E. carotovora*. También se describen en podredumbres blandas del rizoma los géneros *Xanthomonas*, en especial *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* (Hahn et al., 1989) y *Pseudomonas* (*P. solanacearum* biovar 3) (Eden Green et al., 1994). *Pseudomonas solanacearum* race 1, fue aislada de plantas enfermas de *Musa shizocarpa*, y posteriormente inoculada en el diploide *Sucrier* (AA), un cultivar derivado de *M. acuminata* causando amarilleo foliar pero no fue patogénica en bananos triploides (Akiew, 1992).

Dickey y Victoria (1980), citaron a *Erwinia carotovora* spp. *paradisiaca*, *E. paradisiaca*, *E. carotovora* spp. *chrysanthemi* y *E. chrysanthemi* como causantes de podredumbre del pseudotallo de *Musa paradisiaca* Linnaeus. En Cuba, Rivera Docando (1978) describió como causante de enfermedad de pseudotallo a *Erwinia chrysanthemi* [*pv. chrysanthemi*] y de la podredumbre del cormo a *E. carotovora* spp. *carotovora* en el cultivar ‘Macho’ de plátano de cocinar.

Como causantes de la **“podrición acuosa del pseudotallo”** se ha citado a *E. chrysanthemi* *pv. paradisiaca* (Salazar y Duque, 1994) en *Musa* spp. Otras bacteriosis de *Musa* spp. han sido atribuidas a *P. solanacearum* biovar 3 (Hayward, 1994).

El **“Bugtok”**, aunque es predominantemente una enfermedad de los frutos, también puede afectar al pseudotallo y ha sido atribuida a estirpes de *R. solanacearum*, en los cultivares ‘Saba’ y ‘Cardaba’ (Soguilon et al., 1994) pertenecientes al subgrupo *Musa balbisiana* y su transmisión puede ser por insectos (Soguilon et al., 1995). También llamada “Taprouk disease” ha sido asociada a *P. solanacearum* biovar 1 (Hayward, 1994).

La **“enfermedad bacteriana de Abacá”** en la que parecen intervenir especies próximas a *Ralstonia solanacearum* raza 2 y cuya sintomatología es similar a la del “moko”, aunque se diferencia por causar rayas marrones a lo largo de las venas de las hojas (Thwaites, 1999).

“Enfermedad bacteriana” de *Ensete ventricosum* causada por *Xanthomonas musacearum* (Demeke, 1986). Recientemente, se ha asociado a la especie *X. campestris* *pv. musacearum* (Korobko, 1997). Chase y Jones (1987) también describen a *X. campestris* como causante de podredumbre blanda en *Strelitzia reginae*.

Otras bacterias no patogénicas han sido aisladas de plantas de platanera como contaminantes *in vitro*, tales como *Mycobacterium* sp., *Bacillus subtilis* y *B. Cereus* (Benjama, 1994; Houwe et al., 1998). También se han encontrado como contaminantes de los medios utilizados en cultivo *in vitro* *Staphylococcus xylosum*, *S. aureus*, *S. cohnii*, *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp. y *Pseudomonas vesicularis* (Kneifel y Leonhardt, 1992) y contaminaciones endógenas causadas por bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Erwinia* y *Bacillus* (Surga y Guevara, 1994).

2.4 Hongos

Enfermedades foliares

La **Sigatoka-amarilla** se caracteriza por la presencia de manchas amarillas foliares, causadas por *Mycosphaerella musicola* Leach. Puede provocar pérdidas superiores al 50% en la producción. La infección ocurre en las hojas más nuevas. Se da en zonas con régimen de lluvias intenso y con temperaturas medias alrededor de 25°C. No se ha descrito en Canarias hasta el momento (Meredith, 1970).

La **Sigatoka-negra**, es muy parecida a la Sigatoka-amarilla, también es una enfermedad foliar y los síntomas en el subgrupo Cavendish se caracterizan inicialmente por motas marrones rojizas que progresan a rayas negras en las hojas maduras. Esta causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (Carlier, 2000), mucho más agresivo que *M.musicola* Leach (Jones, 2000). No se encuentra descrita en Canarias.

Son las enfermedades de etiología fúngica con mayor importancia económica y por su amplia distribución mundial. Otra especie patógena es *Mycosphaerella eumusae*, nueva enfermedad cuyo anamorfo es *Septoria*, de ahí la denominación inglesa “Septoria leaf spot of banana” (Carlier et al., 2000).

Enfermedades de la raíz

Dos especies de *Cylindrocladium* fueron descritas para banana causantes de lesiones radicales: *C. gracile* y *C. spathiphylli* (Declerck et al., 2002); (Risede y Simoneau, 2001). Este género ha sido asociado a infecciones del nemátodo *Radopholus similis*. Esta interacción nemátodo-hongo varía según el clima y las características del suelo y causa disminución del vigor del sistema radical (Jones, 2000).

Enfermedades del rizoma

Armillaria mellea y *A. tabescens* causantes de podredumbres en el cormo no es muy común. Jones (2000) cita solo tres lugares Australia, Kenia y Florida donde se ha encontrado asociada a nuevas plantaciones establecidas en tierras deforestadas.

En Colombia se ha descrito en plátano (‘Dominico Harton’, AAB) una enfermedad conocida como “llaga estrellada”, producida por *Rosellinia pepo*. Se diagnostica fácilmente debido a la presencia de cordones miceliares que se ven a simple vista en la superficie exterior del rizoma. Se suele asociar a suelos que habían sido deforestados hacia poco tiempo, donde quedan muchos restos de madera. Es un patógeno común de otras especies como el café y el cacao (Belalcazar, 1991).

También han sido citadas otras enfermedades menores de la platanera como las producidas por *Rhizoctonia solani* en plántulas (Zhang et al. 1999; 2000), y *Ceratobasidium stevensii* descrito por Benchimol et al. (2001) en *Musa cv. Yangambi*. Este hongo penetra en la planta de forma natural por el peciolo, exhibiendo micelio blanco en cuerdas (rizomorfos) que causa eventualmente seca de las hojas

Frisullo (1994) determinó mediante pruebas de patogenicidad que el amarilleo que presentaban algunas plataneras con síntomas de podredumbre de rizoma y raíz, era producida por *Fusarium compactum*.

Se han descrito algunos hongos endófitos como patógenos de debilidad u oportunistas en banana (Photita et al., 2001) tales como, *Xylariaceous taxa*, *Guignardia cocoicola*, *Colletotrichum gloeosporioides (Glomerella cingulata)*, *C. musae*, *Guignardia cocoicola*, varios micelios estériles, *Xylariaceous spp.*, *Deightoniella torulosa*, *Pyriculariopsis parasitica* y *Dactylaria sp.* Muchos de los aislados endófitos son patógenos establecidos de la platanera. Estos resultados soportan la hipótesis de que algunos endófitos son patógenos latentes o oportunistas.

2.4.1 El Mal de Panamá

También denominada “Marchitamiento por *Fusarium*”, se trata de la enfermedad más grave en la platanera presente en las Islas Canarias (Ploetz y Galan Sauco, 1998). Está producida por *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (E.F. Smith) Sn & Hansen (FOC). La infección ocurre en las raíces, ascendiendo después al rizoma y pseudotallo. Causa amarilleo de las hojas más viejas a las más nuevas (Simmonds, 1966) y (Stover, 1990). Dada la similitud de síntomas entre el Mal de Panamá y el Falso Mal de Panamá (Deacon et al., 1985) y (Sabadell González y Hernández, 1999) en este apartado, se describen los síntomas, incidiendo en qué mecanismos actúan en el desarrollo y su expresión así como en la biología del agente causal FOC.

La primera constatación de que el Mal de Panamá (MP) estaba causado por *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (FOC), la realizó Smith en 1904. Es la enfermedad más devastadora que se conoce de la platanera (Rutherford, 1999; Stover, 1990).

Se halla distribuida por todas las zonas productoras de plátano mundiales (Stover, 1990). Simmonds (1966) describió los factores más importantes que afectan a la presencia y curso de la enfermedad. En primer lugar la edad de la planta, las plantas jóvenes son más susceptibles que las adultas. La condición general del sistema radical; daños o heridas

provocan la respuesta de la emisión de nuevas raíces las cuales son más susceptibles que las viejas. Aguilar et al. (2000b) observó en cv. 'Willians' susceptible a raza 4 subtropical y resistente a la raza 1, que en suelos pesados y de mal drenaje, el sistema radical de la planta puede ser más susceptible a la infección de un aislado FOC próximo a la raza 1. En este sentido, en Canarias Domínguez (2000) comprobó que el tamaño de las partículas, los elementos coloidales y las condiciones de pH y conductividad son factores que favorecen la supervivencia de FOC en suelo. Simmonds (1966) también citó que suelos ligeros y bien aireados favorecen a *Fusarium oxysporum f sp cubense* y a la enfermedad, en tanto que los suelos compactos y constantemente humedecidos favorecen a la planta al reducir la actividad de los hongos.

El nivel nutritivo de la planta y fertilidad del suelo pueden afectar al desarrollo del MP. Alvarez et al. (1981) observaron que en suelos de plantaciones afectadas con niveles elevados de materia orgánica, calcio y zinc, la incidencia de MP era menor. Una tierra muy fértil favorece la supervivencia de la planta mejorando el crecimiento de la planta más que actuando sobre el patógeno. El pH del terreno más adecuado para la planta suele ser neutro o ligeramente alcalino. El pH elevado limita la enfermedad.

Rishbeth (1955) citado por Simmonds (1966), observó que el cv. 'Lacatan' resistente a FOC sucumbía a la enfermedad en condiciones del terreno excepcionalmente desfavorables, como en arcillas ácidas mal drenadas o cuando se aplicaban cantidades excesivas de fertilizantes nitrogenados a las plantas.

La patogenicidad puede ser determinada por medio de pruebas adecuadas en plantas susceptibles. Tras los trabajos de Stover (1959a; 1959b) sobre diferentes metodologías para la determinación de la patogenicidad de diferentes aislados sobre diferentes cultivares, Sun y Su (1984.) establecieron una metodología para la realización de pruebas de patogeneicidad rápidas y bajo condiciones controladas, mediante la inoculación de plántulas de cultivares 'Gross Michel' y 'Cavendish' de entre 1-2 meses de edad y 10-15 cm de altura, procedentes de cultivo *in vitro*, con suspensiones de 3×10^4 esporas / ml. La expresión de los síntomas ocurrió a los 15 días y el colapso a los 30 días de inoculación.

2.4.1.1 Descripción. Agente causal: *Fusarium Oxysporum* f sp *cubense* (FOC)

El Mal de Panamá (MP) está causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn & Hansen (FOC), perteneciente a la clase de los *Deuteromicetos* o hongos imperfectos.

En relación con las estructuras del hongo, las macroconidias son producidas en esporodoquios sobre conidióforos ramificados en la superficie de las plantas infectadas o en un medio de cultivo artificial. También pueden ser producidas en formas simples en el micelio aéreo (especialmente en un medio de cultivo). Las microconidias presentan formas ovaladas y se originan sobre microconidióforos o monofilialides cortos en el micelio aéreo, (Booth, 1971; Nelson, 1983; Nelson y Ploetz, 1990). Ambas pueden ser formadas en los vasos xilemáticos de las plantas infectadas, pero las microconidias son las que usualmente predominan en estos tejidos. Estas estructuras sirven como fuente de diseminación del hongo dentro y fuera de las plantas (Beckman, 1990).

Las clamidosporas poseen paredes gruesas, y su producción es abundante sobre los tejidos infectados en estados avanzados de la enfermedad. Usualmente se forman solas o en grupos y pueden estar intercaladas o en la parte terminal de las hifas (Booth, 1971; Nelson, 1983; Nelson y Ploetz, 1990). Son consideradas estructuras de resistencia, y pueden permanecer en el suelo en estado de latencia por un largo período de tiempo, en presencia o ausencia de plantas hospedadoras y su diseminación ocurre con el movimiento de suelos, semillas o materiales de propagación infestados (Nelson, 1981; Beckman, 1990).

Se ha demostrado que la temperatura óptima para el crecimiento y esporulación de *Fusarium oxysporum* es 30°C, pudiendo tener un comportamiento saprofítico muy vigoroso a temperaturas entre 10 y 30°C. Es capaz de crecer y esporular sobre un amplio rango de valores de pH (óptimo a pH 7,5 - 8,5); creciendo mejor en condiciones de oscuridad continua. Las clamidosporas al germinar, llegan a crecer sobre las raíces en los diferentes puntos de contacto, hasta lograr entrar directamente a las mismas o por heridas (Nelson, 1981) y (Beckman, 1987).

Trujillo (1962) y posteriormente Beckman (1990), hicieron unos estudios exhaustivos sobre las alteraciones histoquímicas que se producen en la platanera por la infección de FOC. Aguilar et al. (1999, 2000a) también realizaron una serie de trabajos en los que se estudiaron los elementos y cambios estructurales que se dan en la infección del patógeno

vascular desde el punto de vista histoquímico, como el oscurecimiento de los haces vasculares y las respuestas defensivas celulares frente a la infección por FOC.

En las poblaciones naturales de *F. oxysporum* se han descrito subpoblaciones (*formae specialis* = *f.sp.*) caracterizadas por su especialización patogénica a determinadas especies vegetales. Las *f. sp.* (en su patosistema) pueden estar a su vez divididas en razas (Kistler, 1997; Ploetz, 1999). En FOC existen 3 razas que atacan a la platanera (Stover, 1990). Para la forma *specialis* “*cubense*” se han definido las siguientes razas: raza 1- “Gross Michel” (AAA), raza 2- Bluggoe (ABB), raza 3 –*Heliconia* sp. y raza 4-Cavendish (AAA) (Waite, 1977). La reciente aparición de una nueva raza, la llamada raza 4 tropical, ha supuesto una nueva amenaza para el sector platanero, pues presenta un espectro patogénico más amplio que el de la raza 4 subtropical (Ploetz, 1997).

La caracterización de las poblaciones de FOC que se utiliza actualmente fue propuesta por (Puhalla, 1985) para *F. oxysporum* y se basa en los Grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCG's). Los aislados que pertenecen al mismo VCG tienen la capacidad de formar heterocarion estables. Puhalla (1985), demostró que el VCG puede ser una herramienta práctica para distinguir diferentes poblaciones dentro de las formas especiales (*f.sp.*) de *F. oxysporum*. Indicó que agrupar los aislados en formas vegetativas de compatibilidad se puede utilizar como el protocolo sustituible de las pruebas de patogeneicidad. La determinación de los VCG se realiza a partir de enfrentamientos de complementariedad utilizando mutantes auxótrofos para la cadena del nitrato, donde interviene el enzima nitrato reductasa (Correll, 1987b). FOC tiene orígenes evolucionarios diferentes (O' Donnell et al., 1998). Todos los cultivares son del sudeste asiático y casi todos los VCG's, también excepto uno de África y otro de Florida, existiendo una coevolución del huésped con el patógeno (Bentley et al., 1998).

En el patosistema grupo “Cavendish”-FOC, presente en Canarias solo se encuentra presente la raza 4 subtropical perteneciente al VCG 0120 (Hernández, 1997), la cual puede diferenciarse de *F. oxysporum* saprófitos por características morfológicas, debido a la formación de lacinias en medio Komada (Ploetz y Correll, 1988; Regalado-Guijarro, 1998). Desde un punto de vista práctico esto sólo puede aplicarse en el patosistema presente en Canarias y en Sudáfrica, donde solo existe un VCG 0120 y una raza (raza 4 subtropical), porque se ha demostrado que los aislados de la raza 1 pertenecientes al VCG 0120 también dan colonias laciniadas (Ploetz, 1990).

3 EL FALSO MAL DE PANAMÁ

3.1 Revisión histórica y descripción

“Falso Mal de Panamá” (FMP) (Sabadell González y Hernández, 1999) proviene de la traducción literal del inglés de la primera descripción bajo el término “Fals Panama Disease” (FPD) realizada por Deacon et al. (1985) quienes describieron los síntomas asociados, tanto internos como externos y establecieron algunos criterios de diagnóstico útiles. Los primeros síntomas aéreos podrían confundirse con los típicos de plantas que sufren problemas de encharcamiento y pobre drenaje debido a la presencia de suelos pesados: abrochamiento o acortamiento de entrenudos, amarilleo, desarrollo lento y anómalo de la planta, necrosis en el interior de los limbos. Sin embargo, cuando se realizaba un corte transversal en el rizoma, se observaban oscurecimientos vasculares similares a los observados en el verdadero “Mal de Panamá” (MP), que podían continuar ascendiendo por el pseudotallo, aunque en el FMP eran de forma discontinua, mientras que el MP son continuos pudiéndose seguir su trayectoria desde el rizoma hasta el pseudotallo. Los hijos pueden estar afectados o no. Las raíces también podían estar muertas, o presentar necrosis en los ápices.

Deacon et al. (1985) también estudiaron la microflora asociada a los síntomas observados y realizaron estudios de patogenicidad en condiciones normales con algunas de las especies aisladas, sobre todo con *Fusarium oxysporum* (FO), obteniendo resultado negativos. Observaron que en ocasiones no se obtenía ningún organismo en los aislamientos. Además, establecieron que el patrón de distribución podía ser errático dentro de una plantación y que había grandes diferencias de incidencia entre plantaciones, encontrando máximos de incidencia de hasta el 60 %. Después de estos resultados trataron de correlacionar el desorden con otros agentes bióticos y con algunos factores abióticos, encontrando que en ocasiones estaba asociado a altas poblaciones de nematodos (*Meloidogyne* spp) y en otras parecía estar relacionado con bajas temperaturas, o con suelos pesados de pobre drenaje y con tendencia a la compactación. No pudieron establecer claramente la etiología ni la epidemiología y sugirieron que podría tratarse de un desorden relacionado con algún tipo de estrés. Estudios posteriores de Deacon (1997) y los de Snyman, (Zaag de Beer, comunicación personal), confirmaron que los nematodos no eran la causa directa, sino en todo caso un factor de estrés.

En Jones (2000), Lahav (1999) realiza una revisión de la bibliografía referente a enfermedades de origen desconocido citando autores que bajo distintos nombres describen unos desordenes cuyos síntomas parecen similares a los que hoy asociamos al FMP. Entre otros se refiere a Prescott (1917) que lo denomina “Colorado disease”, porque apareció en la región de Colorado, Honduras y a Dunlap (1923) y Permar (1925), quienes observan lo descrito por Prescott (1917) en la región de Changuinola, Panamá.

Tras un período en que no aparecen referencias al desorden, posiblemente -apunta Lahav (1999) porque se había abandonado el uso del cv. ‘Gross Michel’ por su alta susceptibilidad al Mal de Panamá-, volvieron a detectarse casos en los años 50-60, cuando la zona se replantó con cultivares del subgrupo Cavendish (AAA), denominándose entonces “Yellow Mat”, una traducción al inglés del termino español “Mata Amarilla”. En estas fechas aparece la “enfermedad de Roxana” citada por Allen (1957) en la provincia de Limón, Costa Rica, que también hace referencia a síntomas similares a los descritos para “Yellow Mat”, con daños asociados al floema y atribuida posiblemente a un virus.

Lahav (1999) hace referencia a que sometiendo las plantas a situaciones de encharcamiento no se reproducen los síntomas del “Yellow mat”. También hace mención a las pruebas de patogenidad y estudios histológicos realizados por Reinking (1926). Sus trabajos no explicaban la etiología del “Yellow Mat” ya que no pudo reproducir los síntomas con las inoculaciones de especies pertenecientes al género *Fusarium*, pero sí estableció un criterio de diagnóstico diferencial entre el “Yellow Mat” y el MP mediante estudios histológicos con los que concluyó que los oscurecimientos vasculares estaban asociados al floema y no al xilema como en el caso del MP.

Barnes (1962) describió algo similar para los cultivares del grupo Cavendish ‘Giant Cavendish’ y ‘Lacatan’ en áreas de Granada, en la región caribeña. En general se observó que la incidencia era errática y baja en toda la zona de la costa atlántica hasta Surinam donde el desorden también ha sido descrito por Da Costa (1982).

Kangire (2000) describió un desorden similar al producido por FOC en Uganda, aunque lo atribuyó a condiciones de estrés provocado por una elevada cantidad de calcio y fósforo en suelo. Recientemente, Maciel Cordeiro y Lúcia Borges (2000) en Brasil, en los estados de Bahia y Amazonas ha observado plantas con síntomas que se corresponden con los descritos hasta el momento como “Mata amarilla” o “Colorado diseases”, de causa incierta, aunque en este caso también está asociado a podredumbres blandas en el pie del

pseudotallo causadas por *Erwinia* en cultivares ‘Aterra’ (AAB). En cuanto a las posibles causas, citan de nuevo a los suelos pesados y mal drenaje y posible implicación de la nutrición potásica, aunque la eliminación de esta hipótesis pasa por la mayor probabilidad de que sea un problema patológico ya que tiene una distribución vascular.

Aunque no sabemos si estamos ante un patosistema real huésped/patógeno, y por tanto no podemos hablar de susceptibilidad o resistencia, los síntomas se corresponden a la respuestas ante algún factor de estrés, ya sea biótico o abiótico. No existen muchos documentos en la bibliografía que se ocupen específicamente de los cambios histoquímicos producidos por estrés abiótico en la platanera. No obstante, existen abundantes referencias para otros patosistemas, en los que se explican procesos similares a los descritos en el FMP como es el caso de los oscurecimientos vasculares, amarillos foliares, cambios en la organización y estructuras celulares, explicados todos mediante los mecanismos de defensa de las plantas ante agresiones bióticas, abióticas o por su interacción. Los oscurecimientos vasculares producidos por FOC han sido muy estudiados por Aguilar et al. (2000b); Beckman (1990); Beckman et al. (1974) y Trujillo (1962). Respecto a las posibles causas del “Yellow Mat”, Lahav (1999) concluye que podrían estar relacionadas con factores abióticos del suelo, dado que algunos síntomas foliares recordaban a la deficiencia en potasio y en calcio (Stover, 1972), y en condiciones de bajas concentraciones de O₂ y alto CO₂ que se dan en situaciones de encharcamiento, el potasio se absorbe con dificultad y se producen bloqueos entre los diferentes iones del suelo, en especial del calcio (Hammond 1955) y que en todo caso podía estar implicado algún microorganismo con carácter oportunista, aunque no se descartaba la implicación de fitoplasmas o virus (Stover, 1972#460) y (Lahav, 1999).

Como los trabajos de Deacon et al. (1985), los de Prescott (1917) y los de Dunlap (1923) referidos por Lahav et al. (1999), así como nuestras observaciones preliminares (Sabadell y Hernández, 1999) y (Hernández y Sabadell, 2002) sugerían diferentes causas abióticas como posible origen del desorden, a continuación se revisa cómo afectan los factores ambientales a la platanera, y a otras plantas hospedadora con especial referencia a su implicación en síntomas similares a los descritos para el FMP. Nos centraremos principalmente en los factores abióticos mas comunes que hemos encontrado asociados a plantas sintomáticas en nuestras observaciones preliminares o, en las plantaciones afectadas que describiremos como efecto de la compactación, efecto del encharcamiento,

efecto de la temperatura, efecto de los daños mecánicos, efecto del abonado (deficiencia en Calcio y micronutrientes) así como efecto de las especies fúngicas y bacterianas y el efecto de la interacción de factores.

3.2 Especies de *Fusarium* similares a las asociadas al FMP en platanera y en otras plantas hospedadoras.

Deacon et al. (1985), Reinking (1926) y Sabadell González y Hernández (1999) encontraron especies de *Fusarium* asociadas al FMP y al “Yellow mat” pero ninguno de los estudios han podido demostrar el papel de dichas especies en el FMP ni en el “Yellow mat”. Quizás fuera necesaria la interacción de ciertos factores de estrés como ocurre en el síntoma de seca del olivo (Hernandez et al., 1998) o la combinación de determinados microorganismos, ya que con frecuencia, varios patógenos radicales se presentan formando complejos de etiología compleja, o bien participan como patógenos secundarios o de debilidad en plantas afectadas por diversos tipos de estrés (Schippers y Gams, 1979).

En Sudáfrica el Falso Mal de Panamá ha sido asociado con daños causados por nematodos por Deacon (1997), aunque se demostró que no eran la causa del problema y que como mucho podían ser un factor de estrés añadido, con una importancia relativa en el desorden que nos ocupa. En Canarias, también se han encontrado nematodos asociados a algunos casos de FMP. Quizás el papel del nemátodo, si es que tiene alguno sería causar una modificación de la susceptibilidad del huésped a determinados hongos (Hasan, 1993) o incrementar la severidad de la enfermedad (sinergismo), como ocurre en el caso del estudio de Vovlas et al. (1994) en Creta, sobre platanera con síntomas aéreos de decaimiento y con necrosis en raíces producidas por diferentes nematodos. Los síntomas de decaimiento eran más intensos especialmente cuando las raíces se encontraban infectadas además por hongos y/o bacterias del suelo cuya frecuencia de aparición fue: *Acremonium sp.* (24%), *Rhizoctonia solani* (12%), *Fusarium oxysporum* (12%), *F. solani* (6%), *Phytium sp.* (4%), *Fusarium compactum* (3%) y *Cylindrocarpon sp.* (3%). Además de la presencia consistente de estos hongos encontró asociadas especies bacterianas pectinolíticas de los géneros *Erwinia* y *Pseudomonas*. Pinochet y Stover (1980) encontraron especies fúngicas asociadas con *Radopholus similis*, el cual causa lesiones al cv. ‘Cavendish’. Cuando se inoculan conjuntamente con hongos como *Cylindrocarpon musae* las necrosis son más extensas, seguido de *Fusarium solani* y *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Acremonium stromaticum* causa menos daño que los otros hongos pero en presencia del

nemátodo destruye más raíces. En otro estudio, Pinochet (1979) encontró una asociación de determinadas especies fúngicas con lesiones de nematodos tanto en plátano como en banano. Los hongos se encontraron en el 71% de bananas muestreadas: *Acremonium stromaticum* (22%), *Fusarium solani* (18%), *Cylindrocarpon musae* (17%) y *F. moniliforme* (14%). Los mismos hongos y con frecuencias similares fueron encontrados asociados a lesiones de nematodos en plátanos. Peregrine (1992) describe que las lesiones características que se producen en las raíces de *Ensete* a causa de *Pratylenchus goodeyi*, se encuentran asociadas a hongos secundarios del suelo que aumentan la intensidad del daño. Además, detectó la presencia de *Xanthomonas campestris pv musacearum* en las lesiones y posteriormente invadiendo el sistema vascular y pseudotallo.

En otro patosistema encontramos la primera descripción de la asociación de las especies *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, *Rhizoctonia solani* AG4, y *Fusarium proliferatum* en *Trifolium vesiculosum*, formando un complejo de enfermedades (Pemberton et al., 1998).

Especies de *Fusarium* tales como *F. oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. solani* asociadas al FMP (Hernández y Sabadell, 2000, 2002; Sabadell González y Hernández, 1999; Sabadell y Hernández, 1999; Sabadell y Hernández, 2003), o al “Yellow Mat” han sido asociadas a otras plantas hospedadoras demostrándose en algunos casos que eran el agente causal de la enfermedad. Wu y Huang (1997) en lirio, Chao et al. (1998) en álamos, describen *F. proliferatum* como patógeno vascular. *F. subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*) fue aislado de tejidos necrosados en hojas, ramas y pseudobulbo (Mee et al., 1998) así como ocasionalmente también fue aislado *F. moniliforme* (*G. fujikuroi*) en plantas de *Cymbidium sp.* (Broadhurst y Hartill, 1996). Aislados procedentes de la corona y de las raíces de espárrago con síntomas de podredumbre, pertenecientes a las especies *F. proliferatum*, *F. oxysporum* y de *F. solani* fueron evaluados en test de patogenicidad *in vitro*. Los aislados de *F. proliferatum* y *F. oxysporum* fueron los más patogénicos. La patogenicidad de los aislados de *F. oxysporum* fue caracterizada como *F. o. f.sp. asparagi* (Elena y Kranias, 1996). Las cuatro especies *Fusarium solani*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum* y *F. subglutinans* (*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*) fueron aislados de raíces de orquídeas enfermas y se demostró su asociación con el incremento de las necrosis radicales cuando fueron reinoculados en raíces sanas (Benyon et al., 1996).

Engels y Kramer (1996), estudiaron la producción de micotoxinas producidas por especies del género *Fusarium* presentes en *Lolium spp.*, encontrando una amplia variedad de

especies capaces de producirlas. *Fusarium proliferatum* y *F. subglutinans* [*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*], especialmente, producen micotoxinas tales como la beauvericina, fusaproliferina que pueden ser tóxicas para los seres humanos (Moretti et al., 1998). En el caso de *F. proliferatum*, Abdalla et al. (2000) demostraron su patogenicidad sobre palmeras datileras mediante inoculaciones, además de comprobar la producción de micotoxinas tales como beauvericina, fumonisina B1, fusaproliferina, ácido fusárico y moniliformina. En el caso de *F. subglutinans* [*Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*]. Tapia et al. (1998) y Borrás Hidalgo et al. (1998; 1999) y han determinado la producción de determinadas toxinas implicadas en la patogenicidad de esta especie en piña. Toxinas producidas por *F. solani*, podrían estar implicadas en las obstrucciones xilémicas en cítricos (Nemec, 1995). Existen algunas referencias bibliográficas que atribuyen un carácter patógeno a especies de *Fusarium* únicamente bajo condiciones de estrés para la planta como es el caso de *F. subglutinans* en maíz (Kostecki, 1994).

Kistler (1997), trabajando con arroz, demostró que algunos microorganismos oportunistas formaban parte de la flora saprófita endófito y que esta flora era dependiente del área de cultivo. Estos microorganismos oportunistas o de debilidad coincidiendo con situaciones de estrés del hospedador pueden provocar procesos infecciosos que desembocan en una enfermedad (Agrios, 1988). El impacto de dos hongos, *Colletotrichum musae* y *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), sobre la capacidad fotosintética de dos cultivos, banana y maíz, fue estudiado por Pinto et al. (2000). Las curvas de respuesta a la luz de ambas especies mostraron que la capacidad fotosintética fue severamente reducida en las plantas infectadas con endófitos, concluyendo que es posible que la reducción fotosintética en ambos cultivos fuera causada por toxinas producidas por los hongos.

3.3 Naturaleza del amarilleo foliar

El amarilleo de las hojas, es una sintomatología asociada al FMP. Los amarillos foliares pueden producirse por factores bióticos y abióticos como ya hemos visto a lo largo de la revisión.

Dentro de los bióticos, los más característicos son los producidos por patógenos vasculares como *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp., *Ceratocystis* sp., *Ralstonia* sp., *Calvibacter* sp. causantes de enfermedades sistémicas. En platanera, este es uno de los síntomas más característicos tanto del Mal de Panamá como del Moko (Thwaites, 1999). En los patosistemas FOC-platanera; *Ralstonia*-platanera, como en otros patosistemas, el amarilleo

se produce como consecuencia de la obstrucción de los haces vasculares por el patógeno, aunque no se descarta el papel que puedan tener ciertas toxinas fúngicas como hemos visto en el apartado anterior. Esta situación dificulta el flujo de agua y nutrientes desde la raíz y provoca una carencia de elementos tales como el calcio, zinc y hierro en las hojas de crecimiento activo, lo cual induce la movilización de estos elementos desde las hojas más viejas (Beckman, 1990).

Dentro de los factores abióticos, el amarilleo también ha sido relacionado en platanera y en otras plantas hospedadoras con situaciones de encharcamiento y la asfixia radical concomitante (Aguilar, 1998a); el estrés hídrico tanto por exceso como por defecto de agua, así como por diversas carencias y toxicidades tales como deficiencias en boro (Venter y Currier, 1977) y (Ali y Jarvis, 1988), y otras bastante comunes como las de calcio, hierro, zinc, etc. Todos estos aspectos serán comentados con mayor detalle en los siguientes apartados de esta revisión

3.4 Naturaleza de los oscurecimientos vasculares

A nivel celular podemos establecer diferencias entre los producidos por invasión de patógenos vasculares fúngicos y bacterianos, que generalmente se dan en el xilema o los producidos por diferentes formas de estrés abiótico donde nos encontramos con alteraciones en la organización y funcionalidad muy importantes tanto en el xilema como en el floema. En platanera los oscurecimientos vasculares asociados al xilema han sido muy estudiados en el Mal de Panamá y en el Moko por Trujillo (1962) y Beckman (1987; 1990). En el caso del “Yellow Mat”, Lahav (1999) describe que en plantas afectadas en el episodio de 1964, se observaron oclusiones en el floema con material amorfo y menciona los estudios de Reinking (1926), citados por Dunlap (1923) donde las obstrucciones vasculares fueron asociadas la floema, lo cual sirvió para establecer un diagnóstico diferencial entre el MP y el “Yellow Mat”

3.4.1 Xilema

La mayoría de oscurecimientos en el xilema están asociados a la infección por hongos y bacterias vasculares (Van Alfen, 1982) y (Beckman, 1987). Los vasos del xilema de plantas infectadas por hongos vasculares presentan una típica acumulación de geles de color pardo/marrón producidos por la planta, y compuestos principalmente polisacáridos y fenoles. Este pardeamiento según diferentes autores se deben en parte a la oxidación de

los fenoles por enzimas de la propia planta o del microorganismo patógeno (Novo et al., 2002).

Trujillo (1962) y Beckman et al. (1974) en el estudio de la patogénesis del MP en platanera, explicaron el papel de los fenoles en la defensa de la platanera frente a FOC, describiendo los procesos de invasión y colonización de los vasos xilemáticos y las respuestas celulares defensivas, concluyendo que a mayor concentración de sustancias fenólicas menor era el número de las perforaciones naturales en las placas cribosas, con lo que la planta manifestaba una mayor resistencia a la infección y diseminación del patógeno. Beckman (1990), también observó que son las células acompañantes del xilema las que tienen capacidad de respuesta frente a las infecciones y que en las etapas iniciales de FOC en platanera el xilema se encuentra colapsado por diferentes sustancias como callosas, lípidos y gomas, o evaginaciones de células acompañantes bloqueando la luz del haz que reciben el nombre de tílides.

Para otras plantas hospedadoras también se han descrito oscurecimientos vasculares asociados al xilema que se producen como respuesta a la invasión de patógenos, o como respuesta a un agente etiológico desconocido, pero no hemos encontrado referencias para especies de *Fusarium* asociadas al FMP en platanera.

Así, Trujillo y Obrero (1978) observaron que *Cephalosporium sp.* en *Cassia serattensis* inducía la formación de tilosas en xilema. El bloqueo de los haces vasculares lleva asociada la sintomatología de marchitamiento (Duniway, 1971) y manifestación de carencias nutricionales como describen Hampson y Sinclair (1973) en melocotoneros inoculados con *Cytospora leucostoma*, que causa canchales en ramas y una importante disfunción del xilema colapsándolo e impidiendo el transporte de nutrientes. Los árboles inoculados manifestaban síntomas semejantes a los que se producen bajo estrés hídrico en las ramas distales de los sitios inoculados. Las hojas de estas partes distales mostraban síntomas de deficiencia en calcio y un bajo contenido en aluminio, boro, calcio, magnesio, manganeso, fósforo y zinc cuando se compararon con otras zonas de los mismos árboles no infectadas. Las gomas presentes en los tejidos de cambium y xilema eran las principales causantes de la disfunción xilemática. Esto sugiere que las gomas juegan un papel relacionado directamente con la viscosidad de los fluidos que transportan a través del xilema los elementos nutritivos y el bloqueo xilemático, como respuesta a la infección de *C. leucostoma*.

Mollenhauer y Hopkins (1976) estudiando la vid susceptible a la Pierce's disease, observaron agregados bacterianos que colapsan el xilema impidiendo el transporte del agua y nutrientes manifestando deficiencias nutricionales. En las variedades resistentes además se observó la inducción de formación de tilosas y gomas por la planta con el fin de encapsular las bacterias y evitar la infección de otros elementos del xilema.

Beretta et al. (1988) realizaron estudios en *Citrus*, donde se compararon dos enfermedades de sintomatología vascular similar y cuyo agente causal no se conocía. Los síntomas se caracterizaron por un bloqueo del xilema debido a sustancias, en un caso amorfas y en el otro formando fibras. Tras un estudio histoquímico concluye que las sustancias amorfas reaccionaron positivamente para callosa, lignina, sustancias pépticas, gomas, proteínas y lípidos. Las sustancias filamentosas se teñían positivamente para ligninas, gomas, proteínas y lípidos.

Respecto a los oscurecimientos xilemáticos producidos por factores abióticos, Marriott et al. (1979) hacen referencia a raíces de yuca que se decoloran por pérdidas de agua producidas por cortes y abrasiones y describen que las decoloraciones se encuentran asociadas al colapso del xilema. Rickard et al. (1979) estudiaron la naturaleza de la pigmentación en el xilema de Cassava mediante técnicas histoquímicas y concluyó que contenían compuestos lipídicos, lignina y carbohidratos derivados de células parenquimatosas adyacentes, las decoloraciones en xilema son resultado de un proceso fisiológico de la planta en respuesta a heridas.

Algunas de las alteraciones bioquímicas típicas de respuesta hipersensible que se dan en las reacciones incompatibles con hongos, bacterias y virus en las plantas, pueden ser inducidas por estrés o por productos químicos sin necesidad de agentes bióticos (Van Loon, 1983). Se han observado oscurecimientos vasculares asociados al xilema debidos a cortes en los tallos de crisantemo (Van Doorn y Cruz, 2000).

Noon y Booth (1977) describen en raíces de *Cassava*, decoloraciones vasculares de las que aísla microorganismos asociados a las decoloraciones que no se encuentran en los tejidos sanos. Pero cuando los inoculan no se reproducen los síntomas. Los resultados sugieren que estos microorganismos no son la causa primaria de las decoloraciones y que pueden ser debidas a causas endógenas fisiológicas.

Van Doorn y Cruz (2000), estudiaron los bloqueos xilemáticos que se producían en las flores de crisantemo bajo temperaturas entre 5°-20°C, y otras condiciones ambientales con

el fin de evitar la infección con bacterias. Los resultados sugieren que los bloqueos xilemáticos están relacionados con reacciones oxidativas.

3.4.2 Floema

En procesos no infecciosos como son el estrés abiótico, deficiencias nutricionales, o procesos infecciosos que conducen a bloqueo de nutrientes en etapas posteriores, también se ve afectado el floema, pues se ve alterada su función (Clark y Smith, 1988; Stewart et al., 1973).

Algunas especies de *Fusarium* como las asociadas al FMP, han sido citadas para otras plantas hospedadoras como causantes de decoloración en floema. Blodgett et al. (1998) estudiaron la sistémica decoloración vascular en tallo y raíces y el decaimiento de la parte aérea de *Amaranthus hybridus* en Sudáfrica. Los síntomas incluían decoloración en el floema, xilema del cormo, canchales negros y debilitamiento del tallo propenso a quebrarse. *Fusarium sambucinum*, *F. oxysporum*, y *F. subglutinans* se encontraron asociados a esta sintomatología.

Las virosis y micoplasmosis (fitoplasmas) utilizan el floema como medio de dispersión en la planta (McCoy, 1982), pues son patógenos que necesitan de la maquinaria celular para completar su ciclo vital. Las Rickettsias también invaden la planta a través del floema y células adyacentes (Kohn et al., 1974).

Existen casos reflejados en la literatura de oscurecimientos vasculares asociados al floema causados por estrés abiótico, como es el caso en la caña de bambú (Liese, 1998), donde esta sintomatología se asocia a daños mecánicos en las raíces al realizar la práctica cultural de deshijado. En este caso, parece que los oscurecimientos son debidos a la oxidación de determinados componentes fenólicos, como respuesta hipersensible a una herida, que desemboca en el colapso y cicatrización de la zona dañada con el fin de evitar infecciones (Van Loon, 1983) en (Ponz, 1995).

3.5 Interacción factores abióticos/bióticos. Triángulo epidemiológico

La enfermedad depende de cuatro factores: la susceptibilidad de la planta cultivada (planta huésped), la presencia de un patógeno, las condiciones ambientales favorables para la infección (temperatura, humedad relativa, tipo de suelo y fertilidad, etc.). La severidad de la enfermedad depende del tiempo y de la interacción entre los tres factores (Roget, 2001). Muchas veces encontramos que la actuación de un factor provoca una mayor susceptibilidad a otros o que es necesaria la interacción de varios factores abióticos y bióticos para que el resultado se manifieste como enfermedad.

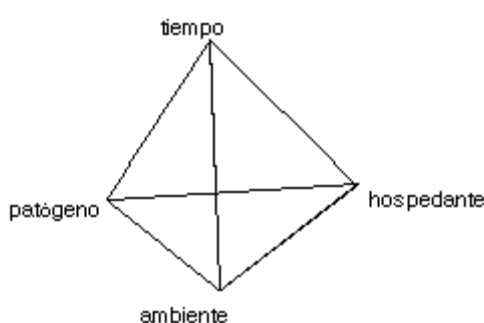


Fig.2. El triángulo epidemiológico de la enfermedad (tetraedro si incluimos el factor tiempo) representa las interacciones de los 4 factores principales gráficamente.

3.5.1 El hospedador. Respuestas defensivas

La respuesta de la planta ante los factores de estrés puede ser específica o inespecífica ante la agresión de un determinado factor. Las plantas poseen una serie de mecanismos de defensa que pueden clasificarse en pasivos o preexistentes, en los que se incluyen barreras estructurales (cutícula, reservorios de compuestos antimicrobianos localizados estratégicamente) y activos, los cuales se dan en respuesta a un patógeno invasor y que requieren del metabolismo del hospedador (Osbourn, 2001). Estos mecanismos de defensa activos son inducidos por el patógeno y pueden ser respuestas primarias (reacciones de hipersensibilidad) las cuales generalmente terminan en muerte celular programada o apoptosis, respuestas secundarias las cuales son inducidas por moléculas señal o elicitores y finalmente resistencia sistémica adquirida (SAR en terminología inglesa) inducida hormonalmente, como es el caso de las fitoalexinas (Nicole et al., 1996).

En general los procesos defensivos que se dan bajo estrés abiótico suelen ser inespecíficos y también pueden darse ante la infección por un patógeno (Anónimo, 2002). Este hecho, da lugar a una sintomatología convergente, en diferentes desordenes y enfermedades de etiologías muy diversas, como los marchitamientos, amarillos foliares, etc. Por ejemplo, la lignificación de las paredes celulares puede activarse bajo condiciones de estrés

inespecífico (López Encinas, 2003). Otro ejemplo de ello es la respuesta inespecífica que consiste en la síntesis de monofenoles, esta puede conducir a la acumulación en tejidos no dañados de grandes cantidades de productos ya preformados, o dar lugar a la aparición de nuevos productos, las fitoalexinas, que aparecen bajo situaciones de estrés abiótico (ej. deficiencia en Boro (Cakmak y Römheld, 1997) y biótico, existiendo una diferencia en su acumulación que permite diferenciar las respuestas. Como consecuencia aparecen necrosis celulares en algunas ocasiones ya que como describen Garcia et al. (1978) existe independencia entre los fenómenos de acumulación de fitoalexinas y necrosis celular. Algunas de las alteraciones bioquímicas típicas de respuesta hipersensible que se dan en las reacciones incompatibles con hongos, bacterias y virus en las plantas, pueden ser inducidas por estrés o por productos químicos sin necesidad de agentes bióticos (Van Loon, 1983).

Deborath et al. (2001) compararon en arroz, la inducción de diferentes enzimas, y acumulación de compuestos fenólicos y lignina bajo la inoculación de *Rhizoctonia solani* (patógeno) y *Pestalotia (Pestalotiopsis) palmarum* (no patógeno), observando que la actividad enzimática de peroxidasa (PO) y fenilalanina amonio-liasa (PAL) fueron significativamente incrementadas después de la inoculación con *R. solani* y *P. palmarum*, siendo mayor la respuesta en las plantas inoculadas con el organismo no patógeno comparándolo con la inoculación del patógeno. La inoculación de *P. palmarum*, fue seguida de una rápida acumulación de compuestos fenólicos y aumentó el contenido en lignina en un 91% frente al 37% con la inoculación del patógeno *Rizoctonia solani*. Beckman (1987) describe que la producción de geles o gomas que es la primera fase del bloqueo xilemático, puede darse como respuesta inespecífica a invasión de organismos patógenos o no patogénicos.

3.5.2 El patógeno

3.5.2.1 Efecto de la Temperatura sobre la patogenicidad

En general, la temperatura es un factor que afecta al desarrollo y crecimiento de todos los organismos. En el caso de los hongos fitopatógenos, el rango de temperatura óptimo del desarrollo de la fase vegetativa micelial se encuentra en el rango óptimo de crecimiento del huésped al que ataca, siendo entre los 20-30°C en general, variando entre las diferentes especies.

No obstante puede suceder que el rango de temperatura en el que se produce la infección sea para la planta huésped una temperatura inferior a la óptima de su crecimiento, en la que todas las constantes vitales y mecanismos de respuesta frente a los patógenos se vean ralentizados y el hongo fitopatógeno no encuentre resistencia a su penetración en la planta. El desarrollo de la sintomatología de la enfermedad puede producirse una vez la planta ya infectada de forma latente, se encuentre en condiciones favorables para su desarrollo y para el desarrollo del hongo en su interior. Zeller & A. Schmidle en Kohn et al. (1974) concluyeron que bajo condiciones naturales la infección por *P. syringae* y *P. mors-prunorum* sobre “cereza ácida” ocurre a 5-10° C, pero los síntomas típicos y el desarrollo del daño solo se manifiesta a 15-20° C.

Puede darse el caso de una interacción entre factores de estrés abiótico que condicionen una mayor susceptibilidad del huésped a una enfermedad determinada. Muchos hongos fitopatógenos del suelo infectan a su huésped en invierno, cuando se produce la parada vegetativa de las plantas debida al frío ambiental. Generalmente en esta época del año también se producen lluvias de gran intensidad que pueden provocar una mayor permanencia del agua en el suelo y provocar situaciones localizadas o generales de hipoxia en el sistema radical, que estaría aumentando la posibilidad de infección en el caso de que hubiera un patógeno presente (Aguilar et al., 2000b). Pires de Matos et al. (2000) mostraron que la intensidad de la fusariosis en la piña producida por *F. subglutinans*, dependía de los factores ambientales, las bajas temperaturas aumentaban la intensidad de la enfermedad.

3.5.2.2 Efecto del encharcamiento sobre la patogenicidad

El encharcamiento conduce a situaciones de estrés para la planta y puede que esta no tenga una capacidad de respuesta adecuada frente al ataque de un patógeno, pero hay que destacar, que en el caso de los hongos fitopatógenos del suelo, los efectos negativos del encharcamiento pueden afectar también al correcto desarrollo, viabilidad y supervivencia del hongo en el suelo. Stover (1953), observó que algunos *Fusarium spp* sobrevivían mejor en suelos con un 15 % de saturación de agua. A mayor contenido de humedad, por ejemplo 65 %, la supervivencia de las bacterias se ve favorecida a expensas de los *Fusarium spp.* y otros hongos. Simmonds (1966) describe un método para destruir FOC mediante la inundación del terreno durante periodos de seis meses. Estos lagos artificiales, se renovaban una vez y media cada semestre para compensar las pérdidas debidas a filtrado y

evaporación. El resultado de esta profunda inundación fue la creación de unas condiciones casi anaerobias, desfavorables para la supervivencia de FOC. Con este método se consiguió la destrucción de un 95 % de los hongos del suelo.

Marin et al. (1995) observó que el crecimiento de 2 aislados de *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) y 4 aislados de *F. proliferatum* fue significativamente influenciado por el potencial de agua. El rango de temperatura óptimo fue entre 20-35° C. El crecimiento se paró a 4°C y 0.994-0.96 aw existiendo una interacción entre estas dos variables sobre el crecimiento de los hongos. Optimo pH y temperatura para el crecimiento fue 5.5 y 25°C para los dos aislados de *F. proliferatum* y pH 7.0 y 30°C para los aislados de *G. fujikuroi*. Los efectos del pH, temperatura y aw individualmente, interacción dos a dos e interacciones triples fueron todas encontradas estadísticamente significativas para los tres aislados.

Bolkan et al. (1979) observó que conidias libres de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* sobreviven mejor con temperaturas en suelo de 4° y 18° C que a 25° y 30° C , en suelo aireado y húmedo con 10- 35% de contenido de material vegetal.

Dada la escasa literatura que hay sobre el FMP, trataremos de encontrar algún indicio en la literatura que se refiera a síntomas similares a los descritos para el FMP producidos por los factores ambientales tanto en platanera como en otros cultivos.

4 FACTORES ABIÓTICOS.

El concepto de estrés en los vegetales se refiere a la influencia de determinados factores externos que afectan al normal funcionamiento fenológico de la planta tales como efectos sobre el crecimiento del cultivo y sobre la productividad (Bingham, 2000; Chellemi, 2001; Irizarry et al., 1980) y que determinan una mayor sensibilidad a sufrir ataques por parte de patógenos (verdaderos y/o de debilidad-oportunistas) (Burgess, 1998) y (Aguilar et al., 2000b) o a manifestar desordenes fisiológicos (Eckstein y Robinson, 1996). Un ejemplo es en el pino rojo, Stanosz et al. (2001) demostraron la presencia de *Sphaeropsis sapinea* como endofito patógeno latente. La enfermedad se producía bajo situaciones de estrés hídrico

En situaciones de estrés abiótico (seca, daños mecánicos, daños por desinfección, disponibilidad de oxígeno, cambios en el potencial hídrico, salino y osmótico, cambios de pH) se estimula el metabolismo de los compuestos fenólicos (Weaver, 1994). La acumulación de estas sustancias puede provocar en ocasiones la necrosis de las células que las acumulan como respuesta a una situación de estrés biótica o abiótica (García- Arenal, 1978), como hemos revisado anteriormente en el apartado de respuestas de las plantas.

4.1 Factores climáticos

Los factores climáticos son inmodificables cuando se trata de cultivos al aire libre, aunque en invernadero pueden atenuarse valores extremos que serían perjudiciales para el desarrollo y el rendimiento adecuado del cultivo o incidir en la severidad de una enfermedad o plaga determinada.

La altitud es un factor limitante para el desarrollo de la planta, en general los rendimientos se reducen con el incremento en la altitud y el ciclo vegetativo se prolonga. Las variaciones en altitud prolongan el ciclo biológico. En Canarias por cada 100 m de altitud se prolonga el ciclo 45 días (Aubert, 1973). En la 3ª zona (límite para el desarrollo comercial del cultivo), a 300 m.s.n.m. en la vertiente norte, pueden producirse severos daños por frío.

El viento es un factor atmosférico de mucha importancia por sus efectos sobre el crecimiento y desarrollo de la planta. Uno de los daños más comunes es el desflecamiento de los semilimbos. El área foliar se reduce y afecta directamente al peso de los racimos y a la calidad de estos (Champion, 1968).

El rango de energía comprendida entre 0,4-0,7 nm del espectro de la radiación solar es el más importante por su intensidad y por su calidad, pues influye directamente en la capacidad fotosintética de la planta. Además, la calidad espectral de la luz regula el fototropismo y controla procesos como la germinación y la floración. La duración del fotoperiodo es importante para el desarrollo de los patrones de la planta. Las musaceas crecen y se desarrollan bien en condiciones de semipenumbra. Se ha observado que en plantas que crecen en condiciones de menor intensidad de luz, se prolonga su periodo vegetativo, son más altas y desarrollan mayor área foliar (Champion, 1968; Soto, 1985).

4.1.1 Temperatura ambiental

La Temperatura está relacionada con la altitud, la radiación solar y los movimientos de la atmósfera. Influye sobre la respiración y fotosíntesis de la planta y en consecuencia sobre su ciclo vegetativo. La temperatura idónea para el cultivo de la platanera oscila entre los 15,6 y 37,8°C, la media idónea es de 27°C dependiendo de la variedad. Para los cultivares del subgrupo Cavendish, mejor adaptados a los subtrópicos, se produce una parada vegetativa entre los 9°-11°C en el límite inferior y entre 38°-40°C en el límite superior (Ganry, 1973; Green, 1969). Temperaturas mayores o menores pueden causar deterioro y lentitud en el desarrollo, además de daños en la fruta (Ganry, 1973).

Las bajas temperaturas, inferiores a 16°C producen un efecto semejante a un exceso de agua, la planta muestra síntomas de marchitamiento y aparece una coloración amarilla generalizada acompañada de una muerte prematura de la planta. Se producen obstrucciones o cierres en los conductos respiratorios y nutricionales. Este efecto fisiológico se produce a causa de bajas temperaturas y también por exceso o por deficiencia hídrica y se conoce como “obstrucción foliar”. El crecimiento de las vainas foliares se reduce y se produce un acortamiento de entrenudos o pecíolos, así como un bloqueo de la emisión de hojas que obstruye la salida de la inflorescencia (Soto, 1985). Los periodos de fríos matinales y bajadas de temperaturas nocturnas por debajo de 10°C durante más de 4 horas, que afectan con regularidad a zonas del norte de las islas canarias pueden ocasionar paralización parcial del desarrollo de la planta, con un efecto de obstrucción foliar ya mencionado antes (Champion, 1968).

Un síntoma común en la platanera, producto del efecto de bajas temperaturas y también asociado al FMP es el abrochamiento y el amarilleo de las hojas, debido también a que la

disponibilidad y absorción de los nutrientes presentes en el suelo que se puede ver reducida (Green, 1969).

A nivel histológico se producen cambios como el cierre estomático que provoca la disminución de la evapotranspiración (Suarez Sanchez y Santana Ojeda, 1996; Marriott et al., 1978; Robinson y Bower, 1988). En los estudios realizados por Santana et al. (1992) en la isla de Tenerife en los años 1988 y 1990 se observó que la evapotranspiración de las plataneras Dwarf Cavendish se veía reducida durante los meses de enero y febrero cuando se dan las temperaturas mas bajas del año. No obstante, aunque los síntomas externos por frío pueden coincidir con los descritos para el FMP, los síntomas internos no se han descrito asociados a estos factores.

4.2 Factores edáficos

El mantenimiento de la humedad del suelo próxima de la capacidad de campo parece indispensable para el crecimiento óptimo del banano (Dorel y Ozier Lafontaine, 1998).

Factores físicos como el nivel freático, arcillas impermeables o capas de arena presentes en el suelo pueden alterar la profundidad efectiva y la permeabilidad del suelo (Forsythe, 1975).

Las características químicas (Jackson, 1982) del suelo hacen referencia a pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), contenido y disponibilidad de elementos nutritivos, que de una forma combinada determinan el estado de fertilidad de un suelo.

La platanera muestra un rango de adaptación muy amplio, por lo que puede cultivarse tanto en suelo ácidos con pH 4.0, como alcalinos con pH 8.0. Su mejor comportamiento productivo se registra entre pH 6.0 y 7.0. Las siembras en suelos ácidos pueden presentar problemas de bloqueo de nutrientes respecto a la disponibilidad en formas asimilables por la planta de los elementos siguientes: fósforo, magnesio, boro, calcio y molibdeno, además de toxicidad por manganeso, hierro y aluminio. Cuando se trata de suelos alcalinos, pueden haber problemas de deficiencias en zinc, hierro, manganeso, boro, formación de fosfatos insolubles y posible exceso de sodio.

Las características del suelo, tanto físicas como la capacidad nutritiva, salinidad, encharcamiento, impedancia mecánica y patógenos presentes en el suelo capaces de infectar las raíces, tienen un efecto directo sobre el crecimiento, actividad fotosintética y la duración del cultivo (Chellemi, 2001). Las raíces presentan respuestas determinadas ante las condiciones específicas del suelo que consisten en variaciones de las elongaciones,

numero de raíces y exudados radicales. También se producen cambios en la arquitectura radical (Bingham, 2000).

4.2.1 Encharcamiento del suelo

Como consecuencia de situaciones de encharcamiento en el suelo pueden producirse principalmente tres tipos de estrés abiótico sobre la planta: hipoxia radical (Daugherty y Musgrave, 1994; Huang y Johnson, 1995; Shtefyrtse y Chernat, 1994), aumento de la salinidad (Barrett-Lennard, 1986) y mayor compactación (Engelaar et al., 1993) que desglosaremos más adelante. También, existen cambios químicos asociados directamente al encharcamiento de los suelos como son el bloqueo de determinados nutrientes e iones, el aumento de la conductividad eléctrica (Naidoo et al., 1992) y la disminución del pH. Se sabe que en condiciones de encharcamiento se incrementan las tasas de enzimas como la alcohol deshidrogenasa, la lacasa, la superóxido dismutasa, entre otras (Burdick y Mendelssohn, 1990) y se incrementa la compactación de los suelos (Grimaldi, 1986). Otra consecuencia del encharcamiento es que debido a la saturación de humedad, se favorece la aparición de plagas y enfermedades.

Generalmente periodos prolongados de encharcamiento conducen a la compactación del suelo y producen alteraciones de conductividad eléctrica, disminución del potencial redox, aumento de la salinidad y del pH que alteran la distribución y el equilibrio entre los iones y elementos del suelo, disminuyendo la disponibilidad de estos para la planta (Cachorro et al., 1993; Ding y Musgrave, 1995; Eckstein y Robinson, 1996), en especial del calcio, así como cambios celulares en respuesta a todos estos factores abióticos (Barrett-Lennard, 1986; Malcolm y Lewis)

El encharcamiento de los suelos produce sintomatología de amarilleo foliar y provoca necrosis en las puntas de las raíces similares a las que provoca el FMP, pero nunca ha sido citado como causante de los síntomas internos en rizoma y oscurecimientos vasculares que se dan en este desorden FMP. Lahav et al (2000), cuando revisan el “Yellow Mat” menciona que el encharcamiento por si mismo no producía el FMP, y tampoco se han encontrado síntomas similares en otros patosistemas. Holder y Gumbs (1983) estudiaron el efecto del encharcamiento sobre la producción de un cultivo de platanera, concluyendo que se ven reducidas todas las variables fonológicas, altura y diámetro del pseudotallo, así como la productividad medida en número de dedos por mano y número de manos por piña en un 43 % menos que los controles. También describieron otros problemas asociados

como la anaerobiosis en la zona radical cuyo efecto se traduce en una disminución del volumen de las raicillas, reducción de la evapotranspiración, de la respiración y otras actividades metabólicas como cambios hormonales.

Aunque el encharcamiento de los suelos es un factor limitante para el cultivo de la platanera, no ha sido muy estudiado. Solo existen unos pocos trabajos, como el realizado por Ghavami (1976), en bananas, ensayó diferentes profundidades del agua de drenaje (60, 90 y 120 cm), observando que la mayor profundidad producía marchitamiento en el cultivo, y que a menor profundidad del agua de drenaje, menor era la duración del ciclo (crecimiento vegetativo y maduración de los frutos). Irizarry et al. (1980) en Platanos, cv. 'Maricongo' estudiaron como afectaba el mantenimiento del agua de drenaje a diferentes profundidades, sobre el desarrollo radical y la producción de plátanos.

Aguilar et al. (2000b) hacen referencia a que el exceso de agua puede dañar el sistema radical y contribuir a la susceptibilidad de los bananos al MP debido a la aparición de situaciones de hipoxia radical, especialmente tras lluvias muy intensas o suelos pesados.

En otras plantas hospedadoras, como en bambú, Sheikh et al. (1978) citan la posible predisposición de las plantas al ataque de *Poria*, *Rhizoctonia* y *Polyporus*, que causaron la muerte, debido al crecimiento bajo condiciones de encharcamiento. En tomate, Bradford y Hsiao (1982) describieron una reducción del potencial de hídrico de raíces, disminución de la transpiración, apertura permanente de los estomas y epinastia de los peciolo debido a la inducción de la producción de etileno bajo encharcamiento del suelo. Otros autores han estudiado la influencia de la salinidad como resultante del encharcamiento, en combinación con la hipoxia tales como Owen Bartlett (1977) en el desarrollo radical del algodón y Stevens (1995) en Sultana grapevines.

4.2.2 Salinidad

Como hemos visto anteriormente, el agua de riego utilizada en Canarias suele tener un elevado contenido en sodio y cloro. Esta condición, unida al bajo contenido de calcio y elevado contenido de arcillas de los suelos en Canarias, además del aporte de potasio mediante el abonado, provocan que estos suelos tiendan a la salinidad y se comprometa la estructura del suelo apropiada para un buen drenaje y se produzcan bloqueos de determinados elementos (Suárez y Santana, 2002).

La consecuencia del estrés salino sobre las plantas es principalmente, el aumento de la presión osmótica de la solución del suelo y como consecuencia una mayor dificultad en la

absorción de agua (Lahav, 1995) por lo que se producen bloqueos de nutrientes en el suelo destacando su efecto sobre el calcio como ha sido citado por Adams et al. (1990) en tomate, Halperin et al. (1997) en cebada, Azaizeh y Steudle (1991) en maíz, y Lahav, (1995) en platanera. Este elemento interviene entre otros procesos, en la formación del sistema radical y en la formación del xilema, el cual disminuye de tamaño, por lo que también disminuye la capacidad de transporte de agua a todos los órganos y tejidos de la planta. Asch et al. (1995) en arroz y Udoenko et al. (1976) en cebada, trigo y judías, describieron estas modificaciones. En maíz, Azaizeh y Steudle (1991) hacen referencia a los cambios experimentados en el transporte del agua desde el suelo a la planta bajo salinidad y como la adición de calcio puede compensar la pérdida del transporte. En fresa se han descrito cambios similares por Dobren' kova (1980). El Zinc interviene, junto con el boro y el calcio en la diferenciación celular y desarrollo del xilema, hecho que se ve alterado bajo condiciones de salinidad observándose una disminución en el número y tamaño de los haces del xilema también observado por Gadallah y Ramadan (1997). La salinidad además puede producir retraso en el desarrollo y manifestación de deficiencias en calcio observado por Belda et al. (1996) en el tomate. Los mismos autores, en el mismo cultivo también determinaron que la salinidad aumenta la conductividad eléctrica en el suelo y mediante estudios histoquímicos realizando tinciones con safranina reveló la mayor lignificación de los haces del xilema (Belda y Ho, 1993).

El estrés abiótico producido por la salinidad conduce a cambios estructurales como la reducción del cilindro central vascular de los haces lignificados (el xilema y fibras) y el aumento del tejido parenquimático en el córtex de *Atriplex spp* (Abo Hassan et al., 1980). También se ha descrito una disminución en el número y en el tamaño de los vasos xilemáticos en tomate (Moskaleva y Sinel' nikova, 1976), en rábano (Melati et al., 1993) También podemos encontrar deposiciones de lignina en los haces vasculares de las raíces de *Phaseolus vulgaris* determinándolas con tinciones de azul de toluidina, como describe Cachorro et al. (1993) en respuesta al estrés salino y bajas concentraciones de iones de Calcio en suelo.

Beretta et al. (1988) observaron oclusiones en los vasos del xilema por la acumulación de Zinc en suelo debido a estrés salino en *Citrus*. Reinhardt y Rost (1995) estudiaron los efectos de la salinidad en el desarrollo de los tejidos en algodón cv. 'Acala SJ-2', concluyendo que la salinidad afecta al crecimiento y diámetro de las raíces. También

observaron que las raíces expuestas a salinidad muestran una mayor vacuolización en las células de todos los tejidos, más notorio en las células del metaxilema situadas en el córtex. Otros cambios que induce la salinidad son la prematura diferenciación del protofloema, la intensa tinción de la endodermis y el interior de algunas células de parénquima y del xilema, y la inducción de emisión de nuevas raíces laterales más frecuentes que en las raíces de plantas no estresadas. Como indicador de salinidad en las raíces puede tomarse como referencia el aumento de la acumulación de la hormona ABA. Un caso de interacción de estrés por salinidad e infección de un patógeno es el descrito por Howell et al. (1994), quienes demostraron el efecto interactivo de la salinidad y *Verticillium Alboatrum* en la severidad de la verticilosis en alfalfa.

4.2.3 Compactación

Desde el punto de vista físico la compactación es una consecuencia inmediata del encharcamiento, provocando cambios estructurales en los suelos, que condicionan cambios de las relaciones hídricas entre la planta y el suelo, tales como disminución de la porosidad (Heiskanen y Roeber, 1996) y por lo tanto un cambio en la capacidad de campo, punto de marchitez, etc. que afectaran directamente a la planta y a su nutrición.

Situaciones de encharcamiento y sequía en el suelo durante periodos de tiempo prolongados provocan el agotamiento del oxígeno disponible para la planta, compactación del suelo, sobre todo cuando este contiene un elevado porcentaje de arcilla, pudiéndose producir heridas y necrosis en las raíces de las plantas (Malcolm y Lewis).

En Canarias, los estudios de Domínguez (2000) en las áreas con índice de MP más severas, mostraron que los suelos tenían tendencia a la formación de agregados estables de arcillas con el agua de riego, que podían conducir a situaciones de anaerobiosis en el suelo y elevado contenido en Hierro. El reducido tamaño de las partículas, cuando se secaba el suelo, tendían a la compactación.

En su tesis doctoral, Aguilar (1998b), puso de manifiesto que el efecto de la compactación no ha sido muy estudiado en platanera. La compactación del suelo afecta al desarrollo de la planta y provoca una disminución de la altura de la planta, un retraso en la floración y una reducción del número de hijos emitidos. La reducción de la aireación del suelo puede producir asfixia radical. También tiene efectos sobre el enraizamiento, reduce el número de raíces, siendo estas más anchas en diámetro. También afecta a la nutrición de la planta

pues provoca una reducción de la absorción del nitrógeno, fósforo, potasio y el calcio y una absorción masiva del manganeso (Dorel, 1993).

La escasa bibliografía referente a las consecuencias de la compactación del suelo en platanera, se refiere a los efectos sobre el desarrollo del cultivo aunque no existen síntomas en el interior del rizoma ni de oscurecimiento vascular asociados a este factor abiótico de estrés.

4.2.4 Hipoxia y anoxia radical

La saturación hídrica del suelo reduce el oxígeno, aumenta el CO₂ y la concentración de etileno en el suelo (Huang et al., 1997a; Huang et al., 1997b; Ponnampuruma, 1984), (Trought y Drew, 1980). La disponibilidad de oxígeno se ve reducida pues todos los poros del suelo están llenos de agua y esta no se renueva, agotándose en poco tiempo el oxígeno disuelto en ella debido a la actividad metabólica de microorganismos del suelo y a la propia actividad de las raíces de la planta desplazando el aire que ocupaba los poros. Además, este hecho se ve agravado porque el oxígeno presenta una capacidad de difusión en el agua 1/10.000 de su valor en el aire y la escasa aireación conduce a situaciones de hipoxia (4 kPa de O₂) o anoxia (ausencia de O₂), debido al consumo de este por las raíces y microorganismos del suelo. El agua presente en el suelo en cantidades excedentes a la de capacidad de campo es perjudicial para todas las plantas y la platanera es muy sensible a ella. Sus raíces requieren del oxígeno para realizar su función. El efecto de la asfixia en la platanera es el amarilleamiento que comienza por las nervaduras. Si la asfixia se prolonga en el tiempo, las raíces serán irremediablemente dañadas y se producirán necrosis en los ápices y cambios estructurales en ellas.

Aguilar et al. (1999) observaron que las raíces de platanera experimentan cambios estructurales cuando se producen situaciones de hipoxia, como la inducción de la formación de aerenquima, mecanismo de defensa para facilitar la aireación aunque podría ser utilizado por los patógenos del suelo para colonizar la planta (Malcolm y Lewis). La anoxia radical puede conducir a la planta a una mayor susceptibilidad al ataque de determinados patógenos como demostraron Aguilar et al. (2000a) quienes probaron que en situaciones de saturación hídrica la resistencia del cv. 'Willians' a la infección por FOC, podía perderse.

En otras plantas hospedadoras, Everard y Drew (1989) describieron tres etapas del efecto del encharcamiento y la deficiencia de oxígeno sobre el sistema radical del girasol: cierre

estomático, marchitamiento y oclusiones en xilema. A nivel celular aparecen modificaciones químicas en las paredes celulares, como la lignificación y la suberificación, además de una mayor presencia de cristales de oxalacelato que reciben el nombre de rafidios (Lecuona, 1975).

Ding y Musgrave (1995) también observaron el aumento de aerenquima en un 40 % en raíces de trigo bajo condiciones de encharcamiento. Bingham (2000) y Liao y Lin (2001) hacen una revisión de los cambios que se dan en las raíces bajo situaciones de hipoxia-anoxia, desde el punto de vista metabólico: cambio de rutas metabólicas aeróbicas hacia anaróbicas; expresión diferencial de determinadas hormonas como ABA y morfológicos-anatómicos: como el aumento de tejido aerenquimático, etc.

Misaghi et al. (1978) también relacionaron las oclusiones presentes en xilema en algodón con estrés hídrico y la infección por *Verticillium dahliae*.

En cuanto a la posible traducción en practicas agrícolas que mejoren los cultivos, Burgess, (1998) en *Eucalyptus* indica que los tratamientos previos en condiciones de hipoxia ayudan a soportar las condiciones de anoxia, conclusiones a las que también llega Aguilar, (1998a) en platanera.

4.2.5 Deficiencias nutricionales

La manifestación de deficiencias nutricionales en las plantas es un indicador sin lugar a dudas de una situación de estrés en la planta, ya sea de origen biótico o abiótico. En la siguiente tabla se muestran los valores de referencia extraídos de diferentes fuentes incluidas en Alves (1997) y en Galan Sauco (1992) para una correcta nutrición de la platanera tomando la muestra foliar de acuerdo con el método internacional de referencia (MEIR) basado en numerosos ensayos de Martin-Prevel (Galan Sauco, 1992).

Tabla 1. Valores de referencia extraídos de diferentes fuentes incluidas en (Alves, 1997) y (Galan Sauco, 1992)

Nutriente	Bajo	Medio	Alto
N(%)	<2.40	2.40-2.80	>2.80
P(%)	<0.13	0.18-0.25	>0.25
K(%)	<2.90	2.90-4.00	>4.00
Ca(%)	<0.40	0.74-1.70	>1.70
Mg(%)	<0.20	0.30-0.50	>0.50
Na ppm	<0.60		>3500
Fe ppm	<70	70-200	
Zn ppm	<15	20-35	>35
Mn ppm	<80	>80	>6000
B ppm	<10	60-300	>300
K/(Ca+Mg)		0.5-3	

Las deficiencias nutricionales, influyen en el normal desarrollo y funcionamiento de los tejidos y órganos de las plantas. Las deficiencias nutricionales pueden venir ocasionadas por la ausencia en el suelo o por la incapacidad de la planta de transportarlos o asimilarlos. Así muchas enfermedades vasculares conducen a la manifestación de deficiencias en la planta debido a la interrupción del transporte del agua y micronutrientes móviles (calcio, manganeso, zinc) a través del xilema como ha sido citado por (Zimmermann et al., 1994) y por Clark y Smith (1988) para Kiwi, y del resto de nutrientes y micronutrientes inmóviles (Boro) a través del floema según han referido Marschner et al. (1996), Welch y Rengel, (1999) y Epstein (1973) para banana, aunque existen descripciones en la literatura del movimiento del Boro a través del floema en determinadas condiciones de estrés (Raven, 1980), (Shelp et al., 1995), (Brown y Hu, 1998), (Hu et al., 1997) a nivel general y Lehto et al. (2000) en coníferas.

Diferentes autores hacen especial mención a la deficiencia en calcio, boro y zinc, y sus implicaciones en los cambios celulares, y mediante técnicas histológicas describen las consecuencias en los tejidos, y su implicación en el desarrollo del xilema y especialmente en el desarrollo y diferenciación del floema (Abo Hassan et al., 1980; Adams y Ho, 1989; Adams et al., 1990; Herichova, 1986; Pissarek, 1980) en diferentes plantas. En Canarias, Borges Perez (1991) demostró que una aplicación de zinc en el suelo reduce notablemente la incidencia y severidad del Mal de Panamá.

En las plantaciones de platanera de Canarias encontrar deficiencias nitrógeno, fósforo y potasio resulta extraño, ya que son componentes principales de los abonos que se aplican habitualmente. Todo lo contrario, el exceso de potasio en suelo puede ser muy frecuente en los suelos Canarios (García et al., 1978). La toxicidad por exceso, se presenta como un halo marginal decolorado evolucionando luego a necrosis. Para el sodio raramente se da la deficiencia. Es más frecuente la toxicidad por exceso. Se presenta en forma de quemaduras que empiezan por un halo marginal y terminan por necrosis por todo el borde de la hoja.

Las carencias más importantes en Canarias son el calcio y zinc, (García et al., 1978), cationes fácilmente retenidos por el suelo bajo situaciones de encharcamiento como se ha visto anteriormente. La aparición de los primeros síntomas de deficiencia tanto como en zinc y como en calcio se produce en las hojas más jóvenes.

En el caso de zinc aparecen manchas cloróticas en bandas, a menudo casi blancas en el sentido de las nervaduras secundarias y de anchura variable, alternadas con bandas

perfectamente verdes. Aspecto similar a la virosis por CMV (Lockhart y Jones, 2000). Son frecuentes hojas de tamaño reducido, puntiagudas, muy alargadas, agrupándose en roseta, similares a las de la carencia en hierro. También puede darse la producción de frutos deformados.

La deficiencia en calcio se caracteriza por clorosis generalizada en forma de dientes de sierra en las extremidades de las hojas. Escaso desarrollo vegetativo, acortamiento de entrenudos con modificación del plano de emisión foliar en hélice, ondulaciones de los márgenes. Influencia sobre el rendimiento cuantitativo casi nulo, pero frutos de calidad mediocre con tendencia a la separación mucho antes de la madurez. También pueden presentarse hojas con los limbos reducidos que adoptan una forma semejante a “cola de pescado”. Factores abióticos como el encharcamiento y la salinidad pueden conducir a bloqueos de disponibilidad de calcio y otros elementos para las plantas como ha sido citado por Drew et al. (1979) para trigo, y para tomate por Adams et al. (1990) como se ha visto anteriormente. El calcio está implicado en la formación de la lámina media de las membranas celulares. Muchos patógenos sintetizan enzimas extracelulares pectinolíticas que pueden degradar esta lámina y utilizarla como vía de entrada. Marschner (1986), demostró que la presencia de calcio en el suelo podía inhibir la actividad enzimática de estos.

La sintomatología aérea de la deficiencia en Boro recuerda a la descrita para el FMP o ‘Yellow Mat’ (Jones, 2000), amarilleo que comienzan por las hojas más jóvenes. Deformaciones morfológicas en las hojas jóvenes, limbos muy reducidos y ondulación de los márgenes. Necrosis de color tabaco sin clorosis previa por el borde de las hojas, principalmente en el extremo. Clorosis entre nervaduras y estrías perpendiculares a las nervaduras secundarias. El crecimiento es interrumpido. Su carencia es la responsable de la degeneración de las raíces y el desarrollo de la cavidad “blackish” en el meristemo apical del rizoma Charpentier (1968) en Jones (2000). El boro interviene en los procesos de división celular y en el metabolismo de los ácidos nucleicos. Una deficiencia de este puede llegar a bloquear la división celular de las raíces principalmente (Ali y Jarvis, 1988). El Boro también interviene en la formación de las paredes celulares e interfiere en las reacciones enzimáticas dependientes del manganeso (Blevins y Lukaszewski, 1998). Una correlación entre la deficiencia en boro y el aumento de la severidad en raíz de la enfermedad llamada corazón negro en nabos y rábanos fue encontrada por Shelp et al.

(1987). Venter y Currier (1977) determinaron que la deficiencia en boro inducía la formación de callosa, elemento presente en las oclusiones xilemáticas. Cakmak y Römheld (1997) estudiaron la inducción de la formación de compuestos fenólicos, además de cambios en la permeabilidad a protones de las membranas celulares e incrementos en la actividad enzimática de la polyfenoloxidasas bajo deficiencia en boro. Camacho-Cristóbal y González-Fontes (2002) observaron que la deficiencia en boro provoca cambios cualitativos y cuantitativos en el metabolismo fenólico de plantas de tabaco, además de un aumento en la actividad de las enzimas fenilalanina amonioliasa (PAL) y polifenol oxidasa (PPO).

Resulta difícil la distinción de la deficiencia en boro con las deficiencias en azufre, aunque esta última es típica de las plantas procedentes de cultivo *in vitro*, a los dos meses de ser plantadas presentan una clorosis en las dos o tres hojas más nuevas, reversible y acompañada por una disminución de la velocidad de crecimiento (Lahav y Israeli, 2000). En plantas adultas no es muy frecuente. El magnesio es importante por su relación con potasio, que puede mejorarse si se añade calcio (Charpentier, 1968) en (Lahav y Israeli, 2000).

Alvarez et al. (1999) observaron que los suelos canarios se caracterizan por contener manganeso y hierro en niveles bajos, aunque en los sistemas agrícolas, estas carencias generalmente se suplen con el abonado. Los síntomas de la deficiencia en manganeso se inician en hojas jóvenes. Inicialmente clorosis marginal que se desarrolla en clorosis con aspecto estriado siguiendo las nervaduras transversales. Lahav y Israeli (2000) describen que esta deficiencia aumenta la probabilidad de que las hojas sean atacadas por el hongo *Deightonella torulosa*, que provoca necrosis marginales. Influencia sobre el rendimiento. Cuando hay un exceso de manganeso aparecen manchas blancas que luego se necrosan de manera similar a las quemaduras de sol. Por último la deficiencia en hierro se caracteriza por una clorosis generalizada de la planta.



MATERIAL Y MÉTODOS

1. INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y DESCRIPCIÓN DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ” EN CANARIAS.

1.1. Datos climáticos

Para hacer un estudio de la incidencia temporal y local del desorden, se han analizado los datos climáticos que han sido facilitados por el servicio de meteorología del Cabildo de Tenerife (años 1996-99) y por el departamento de suelos y riegos del ICIA (años 1999-2002). Hemos utilizado la temperatura y humedad relativa para intentar correlacionar los momentos de máxima expresión de la sintomatología con los datos de temperaturas bajas extremas.

1.2. Muestreos de material vegetal y encuesta epidemiológica

Se revisó el material suministrado a los agricultores en el año 1999, seleccionando aquellos casos que eran superiores a mil plantas, dentro de las zonas productoras de plátanos Las Galletas en la vertiente sur y Buenavista en la vertiente norte de la isla de Tenerife. La selección incluyó al menos un 5% de los casos de FMP. Esta metodología estaba basada en la que se utilizó para el estudio del último episodio del Mal de Panamá (Alonso *et al.*, 1994; Hernández, 1997). En las visitas a las plantaciones, se realizaba una encuesta a los agricultores sobre las condiciones del cultivo basada en la utilizada por Alonso *et al.* (1994) en sus estudios sobre el MP, con el fin de poder definir el contexto del FMP, buscando los factores comunes en las plantaciones que pudieran estar influyendo en la expresión de los síntomas.

En 18 plantaciones los muestreos se realizaron directamente en campo, 11 de la vertiente norte y 7 de la vertiente sur. En total se muestreó material vegetal procedente de 90 plantas con síntomas. Además, a lo largo de la realización del trabajo, esporádicamente se han visitado otras fincas con FMP cuyos propietarios se han puesto en contacto con nosotros o bien nos remitían muestras de material vegetal al laboratorio para que fueran diagnosticadas. En conjunto, el número total de plantaciones objeto de estudio ha sido de 59 de las que se han estudiado 172 plantas.

Todas las muestras se han procesado con el fin de realizar los aislamientos de los organismos asociados. Se estudiaron 567 fragmentos o submuestras procedentes en su mayoría de rizoma, y cuando fue posible de pseudotallo y raíz. Los fragmentos se

desinfectaron superficialmente con una serie de lejía comercial (35 g de cloro activo) 5%, alcohol 70% y agua destilada estéril. Se realizaron siembras de material afectado en medios PDA, Komada (Komada, 1976) y LPGA, para la obtención de la colección de aislados asociados a plantas sintomáticas de FMP, que han sido objeto de estudio en este trabajo.

1.3. Análisis Foliare

Para determinar si el estado nutricional de las plantas estaba relacionado con la expresión de síntomas asociados al FMP, se tomaron entre 3-5 muestras foliares por parcela de unos 1000 m², en algunas de las plantaciones más severamente afectadas. Los análisis foliares se realizaron según la Norma Internacional (Martin-Prével, 1984) siempre que el estado fenológico de las plantas lo permitía y se determinaron los micro y los macroelementos de acuerdo a los métodos oficiales de análisis (Anónimo, 1994). Todos estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Suelos y Riegos del ICIA, y la metodología empleada fue la protocolizada para cada elemento: N, P, K, B, Zn, Ca, Na, Mg, Mn, y Fe.

Los métodos utilizados para los análisis foliares fueron:

N: Mineralización vía húmeda y determinación colorimétrica en Autoanalizador Technicon AAI como el complejo salicilato de amonio y leído a 660 nm.

P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn y Cu: Mineralización (incineración a 450 °C y extracción con ácido clorhídrico diluido caliente) y determinación:

P: Colorimétricamente como el complejo ácido vanadomolibdofosfórico y leído a 420 nm en Autoanalizador Technicon AAI.

Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu: Espectrofotometría de absorción atómica con lámparas específicas para cada elemento, añadiendo 1% P/V de La en el caso de Ca y Mg y 0.1% de Cs en el caso de Na y K.

1.4. Análisis físico-químicos de los suelos agrícolas.

Se eligieron 5 plantaciones con alto índice de incidencia. Se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos de 5 muestras alteradas por parcela de unos 1000 m² de superficie.

También se realizaron muestreos de los suelos de 2 plantaciones comerciales de la localidad de Buenavista del norte de Tenerife, de las que se tomaron muestras inalteradas y muestras alteradas. Las muestras inalteradas se tomaron con anillos metálicos diseñados

para esta metodología. Los análisis físicos se realizaron sobre muestras inalteradas determinándose, la densidad aparente, y las curvas de absorción de Richards (1965) según Forsythe (1975), donde se calcularon las $p_f 3$ (1/3 de 1000 cm) (agua correspondiente a la capacidad de campo) y 4.2 (16000 cm) de presión atmosférica (correspondiente al punto de marchitez). También se calculó la porosidad obtenida en función del volumen del anillo y del peso de la muestra de suelo. Estos análisis fueron realizados en el laboratorio de hidrología bajo la supervisión del Dr. Carlos Regalado.

Todas las muestras alteradas se procesaron para análisis químicos en los que se determinaron los cationes y los aniones solubles, los cationes de cambio, la capacidad de intercambio catiónica (CIC), el N, el K, el P y los microelementos, pH, CE, porcentaje de saturación, Nitritos, Nitratos y materia orgánica (Klute, 1986.; Page, 1986.). Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Suelos y Riegos bajo la supervisión de Dña. Ana Rosa Socorro.

Los métodos de análisis de suelos utilizados fueron (Forsythe, 1975):

Conductividad eléctrica (C.E. y pH) medidos en pasta saturada

Ca, Mg, Na y K: Se determinan por absorción atómica, en llama aire-acetileno, en el caso de Ca y Mg se añade solución al 1% p/v de lantano y para Na y K 0.1% de Cs.

Carbonatos y Bicarbonatos: Volumetría ácido-base empleando fenolftaleína y naranja de metilo como indicadores.

Cloruros: Volumetría de precipitación usando cromato potásico como indicador.

S-SO₄: Se determinan turbidimétricamente con sulfato de bario, usando suspensión semilla de sulfato de bario y solución de goma de acacia-ácido acético.

N-NO₃: Los nitratos son reducidos a nitritos por hidracina en solución alcalina, reaccionando con sulfamilamida para dar un compuesto que es leído a 550nm.

Bases cambiables: Extracción con AcONH₄ 1N pH:7 y determinación del Ca, Mg, Na y K por absorción atómica.

C.I.C.: saturación del suelo con iones NH₄, desplazamiento con Na.

P : Método colorimétrico de OLSEN.

Materia orgánica oxidable: Se determina el carbono orgánico del suelo que se oxida con dicromato en presencia de ácido sulfúrico.

$X*Ca = CIC - (XMg + XNa + XK)$.

Textura: Densímetro Bouyoucos, (arena: 2.0 mm - 0.05 mm, limo: 0.05mm - 0.002mm, arcilla: < 0.002mm).

1.5. Análisis microbiológicos de los suelos.

Se estudiaron 3 muestras procedentes de 3 puntos distintos de cada plantación. De cada una de ellas se realizaron tres repeticiones y el número final de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se calculó a partir de la media del conteo de tres placas por duplicado en cada medio de cultivo.

Las muestras de suelos para los análisis microbiológicos, fueron previamente secadas al aire libre y luego tamizadas con un tamaño de poro de 0.5 mm. Se procesaron mediante el método de las diluciones y siembra en placas empleando los medios PDA (patata dextrosa agar), Komada y KB, para la obtención de la flora total, flora *Fusarium* sp. y flora bacteriana (Warcup, 1950; Weaver, 1994). Se sembraron 100 µl por placa de las diluciones 10^{-1} - 10^{-4} . Las UFC se contaron en las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} en la mayoría de los casos.

2. AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AISLADOS BACTERIANOS Y FÚNGICOS

2.1. Aislamiento e identificación de bacterias asociadas al FMP.

Los métodos de aislamiento empleados han sido los clásicos en fitopatología, a partir de muestras vegetales dilaceradas en agua destilada estéril, previamente desinfectadas superficialmente con una dilución de lejía comercial (50 g de hipoclorito sódico) al 1 %, se realizaron inicialmente siembras en medios de cultivo generales LPGA y NGA. Según las características culturales, se realizaron descripciones de las diferentes morfologías de las colonias y éstas se purificaron en medios diferenciadores y selectivos para obtener finalmente cepas purificadas con las que poder realizar los pasos de identificación y caracterización siguiendo los criterios de Bradbury (1986; 1988), Hernández y Dubón (1992), Lelliott y Stead (1987), Schaad (1988) y de Sneath (1986).

La identificación de las cepas se realizó por medio de caracterizaciones metabólicas, ácidos grasos y claves sistemáticas Sneath, (1986) y Hernández y Dubón (1992).

2.1.1. Caracterización fenotípica y metabólica de las cepas bacterianas seleccionadas.

El conjunto de todas estas pruebas se realizó en el IVIA, bajo la supervisión de M^a Milagros López y Ramón Penyalver. Las cepas purificadas y conservadas en viales con una solución crioprotectora (glicerol al 30%) a temperatura de -80°C , se dejaron descongelar a temperatura ambiente. Se pipetearon 5 μl de cada cepa transfiriéndolos a tubos de ensayo con 4.5 ml de agua destilada estéril. Se sembraron en los medios de cultivo LPGA y KB, en triple estría por agotamiento. Después de 24 h de incubación a 25°C , se agruparon por similitud de color, tamaño y forma de las colonias. A cada grupo se le asignó un número y se conservaron repicadas en tubo inclinado con medio de cultivo Agar Nutritivo, a temperatura ambiente para las posteriores pruebas.

Para su caracterización se usaron pruebas bioquímicas, tales como la composición de la pared celular (tinción de Gram, KOH 3% y aminopeptidasa), oxidasa, ureasa, indol, esculina, arginina, gelatina, APN, almidón, patata, crecimiento aeróbico y anaeróbico en el medio Hugh y Leifson y observación bajo lámparas de rayos ultravioleta para ver si eran fluorescentes o no en medio KB (Sands, 1990).

De la combinación de los grupos morfológicos y bioquímicos obtuvimos otros subgrupos, de los cuales se eligió un representante (Rudolph *et al.*, 1990). Las clasificaciones se realizaron siguiendo los siguientes pasos (fig.3):

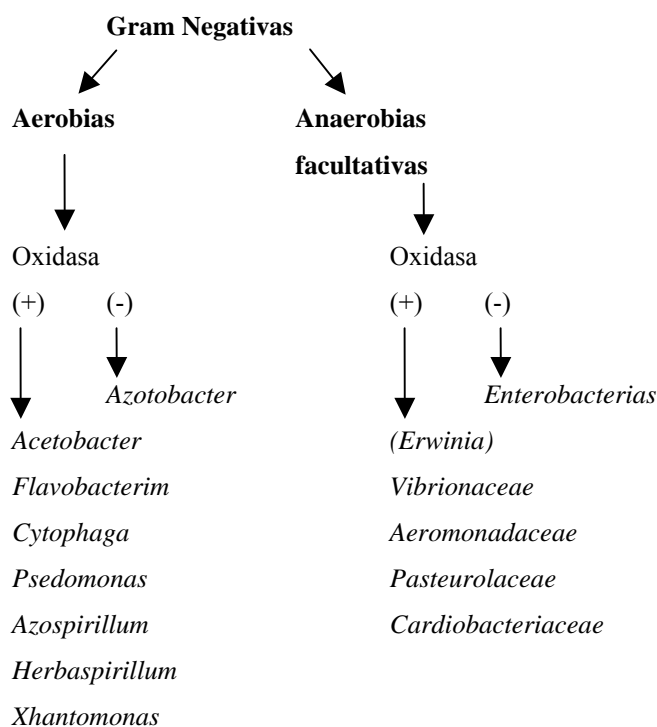


Fig. 3. Protocolo de identificación seguido según los resultados de las pruebas metabólicas obtenidos.

Todos los resultados se registraban en una base de datos con el fin de facilitar el agrupamiento de cepas con características similares y se clasificaban en tipos bacterianos.

2.1.2. Pruebas de hipersensibilidad en hojas de tabaco (Lelliot y Stead, 1987)

Con el objetivo de reducir el número de cepas, los resultados de taxonomía se unieron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel a los resultados de la prueba de hipersensibilidad en hoja de tabaco (HR) descartando las que no pertenecían a un género descrito para la platanera y que eran HR negativo. Una cepa HR negativo seguro que no tiene capacidad patogénica, en cambio una HR positivo puede tenerla o no.

Se preparó una suspensión de las cepas bacterianas en agua destilada estéril con una concentración en el rango de 10^6 y 10^8 UFC/ml, que fue cultivada durante 24h a 25° C en medio King B y se inyectó en el espacio intercelular de la hoja de tabaco desde el envés, por presión, empleando una jeringuilla hipodérmica. Se efectuaron dos inyecciones por

cada cepa en distintas hojas de la planta de tabaco. La reacción se consideró positiva si se formaba la necrosis plateada característica en la hoja a las 24 h. Los controles se realizaron con la misma metodología pero inyectando únicamente agua destilada estéril.

2.1.3. Método de Taxonomía bacteriana por perfil de ácidos grasos de membrana.

Para la clasificación e identificación de los aislados bacterianos se recomienda que las descripciones se basen en 25 o más cepas, siendo 10 el mínimo aceptable. La diversidad de la estructura de los ácidos grasos, la conservación de los patrones en los diferentes taxones y su estabilidad hace de ellos unos elementos excelentes para la identificación de bacterias. La caracterización de los aislados por la composición cualitativa y cuantitativa de los ácidos grasos de membrana fue utilizada por primera vez por Holdeman *et al.* en 1977 en bacterias anaerobias. Los ácidos grasos están formados por una cadena alifática con un número, en general par, de átomos de carbono (de 4 a 22) y un radical COOH, que les permite unirse a otros grupos. Según la longitud de su cadena pueden ser de cadena corta (4 a 6 átomos de carbono), de cadena media (de 8 a 10) o de cadena larga (de 12 o más). Los ácidos grasos presentes en la membrana de las bacterias fitopatógenas poseen entre 9 y 20 carbonos.

Para caracterizar un taxón, es necesario analizar diferentes repeticiones con cepas de diferentes orígenes, y mediante el cálculo de las medias y desviación estándar para cada muestra se puede construir un determinado perfil característico. La clasificación a nivel de género se realiza comparando las diferencias de los perfiles cualitativamente (presencia/ausencia de los ácidos grasos). A nivel de especies o subespecies es necesario calcular las fracciones entre los ácidos grasos estables de 14:0 y 16:0, o entre 15:0 ISO y 15:0 ANTEISO.

Todos estos cálculos se simplifican con un sistema automatizado creado por la casa comercial Hewlett-Packard[®] 5898 *Microbial Identification System* con la cooperación del Dr. Donald Fieldhouse (Sasser, 1990).

Se han realizado dos protocolos distintos. El método MIS (*Sample Processing Procedure*) y el método de metilación (Luquin *et al.*, 1991). Con éste último método se obtiene el perfil de ácidos grasos totales en la membrana bacteriana.

Los resultados de las pruebas fenotípicas, los perfiles de los ácidos grasos, los API[®] 20E, API[®] 20NE y las inoculaciones se procesaron utilizando el programa estadístico SYSTAT[®] 10 y mediante una base de datos creada en Microsoft[®] EXCEL 2000.

2.1.4. Protocolo de extracción de ácidos grasos MIS para la identificación de bacterias a través de Cromatografía de gases (Miller, 1985).

Se pretende obtener un cromatograma con un perfil específico que viene dado por la composición (tanto cualitativa como cuantitativa) en ácidos grasos de la membrana celular bacteriana con el objetivo de utilizarla como técnica de diagnóstico y de identificación a nivel de especie (Siverio *et al.*, 1996). El protocolo utilizado para la extracción de los ácidos grasos de la membrana celular bacteriana consta de 5 fases que consisten en: siembra de las cepas, saponificación, metilación, extracción y aclarado.

La siembra de las cepas se realizó en el medio TSBA (fig. 3), a partir de cultivos puros obtenidos a través de sucesivas siembras en estría en medios generales como son PDA, LPGA, NGA, o LB.

De acuerdo con el esquema de siembra de la fig. 4, se escogió el tercer cuadrante, donde las bacterias se encuentran en crecimiento exponencial y donde aún no hay problemas de competencia por el espacio y por los nutrientes.

Las placas de TSBA se incubaron a 28 °C y transcurridas 24 h, se recogieron unos 40 mg de biomasa con un asa de siembra y se pasó a un tubo de ensayo.



Fig. 4. Siembra por agotamiento, en 4 cuadrantes aconsejada por la casa comercial Hewlett-Packard® 5898 Microbial Identification System, para realizar el perfil de ácidos grasos sobre las colonias crecidas en el tercer cuadrante a las 24 h de crecimiento.

Los reactivos con el símbolo #, utilizados en el protocolo se describen en el anexo 1.17. El proceso comenzó con una saponificación de las células producida por la incorporación de 2 ml del reactivo #1 en el tubo de ensayo. Tras la agitación con vórtex durante 5-10 segundos, los tubos fueron introducidos en un baño a 100°C y transcurridos 5 minutos se agitó con vórtex de nuevo durante 5-10 segundos y se volvieron a introducir los tubos en un baño a 100°C, a los 25 minutos se enfriaban rápidamente introduciéndolos en hielo.

Para la metilación, se dispensaron 4 ml del reactivo # 2 en cada tubo, se agitaron los tubos con vórtex durante 5-10 segundos y se introdujeron en un baño a 80°C. Pasados 10 minutos se enfriaron los tubos rápidamente en hielo.

La extracción de los ácidos grasos se realizó dispensando 1,5 ml del reactivo # 3 en la muestra y agitando verticalmente durante 10 minutos. Se extrajo la fase inferior (fase acuosa), se añadieron 3 ml del reactivo # 4 en la muestra y se agitaron verticalmente durante 5 minutos para aclarar la muestra del reactivo #3. Opcionalmente, si no se separaban bien las dos fases, se podía centrifugar durante 5 minutos a 2.500 rpm. Otra alternativa era añadir a la muestra con una pipeta *Pasteur*, 3 gotas, de una solución salina saturada (20 g NaCl /100 ml de agua destilada). Finalmente se procedió a la extracción de la fase superior (fase orgánica), la cual se transfirió a un vial que se selló con un tapón hermético para su posterior inyección en el cromatografo. Si no se obtenían perfiles claros o los picos resultantes eran muy pequeños, podía ser debido a que no se recogía suficiente biomasa bacteriana para la extracción. Este problema podía solucionarse evaporando la muestra con un flujo de nitrógeno (gas), y resuspendiéndola en 100 μ l del reactivo # 3 o de hexano puro. De esta manera se consiguió concentrar la muestra unas 100 veces. Las condiciones del cromatógrafo se describen en el anexo 1.19.

2.1.5. Protocolo II, Metanólisis (Luquin *et al.*, 1991)

Las cepas bacterianas se sembraron en medio LPGA, de forma confluyente, y se incubaron a 28°C durante 24 h o 48 h (según fuera la tasa de crecimiento de éstas). Siempre se tuvo en cuenta que el cultivo no tuviera problemas de envejecimiento ni de muerte celular. La muestra se recogió en un tubo de tapón de rosca y se añadieron 2 ml del reactivo # 0. Se agitó durante 10-15 segundos en vórtex y se incubó durante 1 hora a 80°C en un baño (bien eléctrico o de agua). Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadieron 2 ml de hexano, agitando durante 10 minutos verticalmente, hasta conseguir una buena separación de las dos fases. Se eliminó la fase inferior. La superior se pasó a otro tubo igual que el utilizado para el protocolo MIS. Se dejó evaporar el contenido acelerando el proceso mediante incubación a 40 ° C en un baño (eléctrico o de agua) y con un flujo constante de nitrógeno (g), directamente sobre la muestra. Esta operación se repitió 2 veces volviendo a añadir otros 2 ml de hexano en la muestra. Finalmente se añadieron 0,5 ml de hexano y se conservó en la nevera hasta ser inyectado en el cromatógrafo.

2.1.6. Ensayo comparativo del crecimiento de una cepa bacteriana durante 24 h y 48 h mediante HPGC.

Según el manual de la casa comercial Hewlett Packard, es aconsejable dejar crecer durante 24 h a 28° C el cultivo bacteriano que se quiere identificar. Para el análisis, se recomienda recoger unos 40 mg de biomasa bacteriana del cuadrante tercero de una placa sembrada en estría dividida en cuatro cuadrantes tal y como se muestra en la fig.4.

Pero pueden existir diferentes problemas si se sigue con rigor esta norma del protocolo: existen cepas bacterianas que a las 24 h de incubación a 28°C, no han crecido lo suficiente como para recoger del tercer cuadrante 40 mg de biomasa bacteriana, o al revés, puede que tengan un crecimiento tan rápido que ya existan problemas de competencia y mortalidad en dicho cuadrante, lo que nos estaría interfiriendo luego en la composición de los ácidos grasos de membrana.

Así pues, con este ensayo, se quiso comprobar:

- Si existían diferencias en la composición de ácidos grasos de membrana de una cepa bacteriana entre los diferentes cuadrantes de una placa sembrada en estría confluyente.
- Si existían diferencias, entre el crecimiento a las 24 h y las 48 h (ambas a 28°C) respecto a la composición en ácidos grasos de membrana.

Se partió de un cultivo puro, sembrando de la forma que se aconseja en el método original en medio de cultivo TSBA (fig.4). Se realizó por triplicado por si había problemas de cantidad para algún cuadrante, para así poder reunir suficiente cantidad de biomasa bacteriana. También se sembró en forma de estría confluyente en medio TSBA en sólo una placa, pues sembrando de esta manera no existen problemas de biomasa disponible. Se realizó el protocolo como se ha descrito anteriormente, dejando crecer la cepas durante 24 h a 28° C y además durante 48 h a 28° C.

2.2. Identificación y caracterización cultural de los aislados fúngicos

La identificación se realizó siguiendo características culturales y morfológicas utilizando manuales generales (Barnett, 1972) y claves específicas. Para *Fusarium* se siguieron los criterios de Nelson (1983), Booth (1971) y los de Snyder y Hansen (1940).

La caracterización cultural se realizó de acuerdo con la morfología y coloración de las colonias aisladas. También se tuvieron en cuenta características como la producción de pigmentos difusibles en el medio, de manera similar a como se empleó con las bacterias, velocidad de crecimiento en medio PDA (Patata Dextrosa Agar) y Komada (Komada, 1976) a 25°C y 17°C, y observaciones microscópicas. Para la obtención y confirmación de cultivos puros, se obtenían cultivos monospóricos de todos los aislados a partir de siembras en estría de diluciones que daban lugar al crecimiento de un número de colonias entre 10 y 30 por placa a las 24 horas de crecimiento. Cuando había contaminaciones bacterianas, se realizaba un lavado del explante de una colonia introduciéndolo en un tubo con agua destilada estéril y se sembraba en un medio con antibióticos, generalmente Komada (Komada, 1975). Se repetía la operación si era necesario hasta que no aparecieran contaminantes en el medio de cultivo, y se procedía a la congelación en un medio crioprotector (glicerol 30%) a temperatura de - 80°C, después de haber repicado la colonia en un medio rico en carbohidratos como PDA.

2.2.1. Crecimiento de *Fusarium* para su identificación

En medios habituales como PDA, las colonias presentan un crecimiento rápido, que suele ocupar toda la placa (8-9 cm de Ø en 1 semana). El color que desarrollan depende de la especie y puede ser blanquecino, crema, anaranjado, rosa, rojizo, púrpura, etc. Estas coloraciones también pueden variar según los diferentes medios de cultivo. El micelio aéreo suele ser abundante y de aspecto algodonoso. La velocidad de crecimiento, la morfología y la pigmentación de la colonia son datos importantes para la identificación.

Las condiciones de cultivo para el crecimiento y la esporulación estándar son 25°C durante el día y 20°C durante la noche.

Los colores de las colonias usados en las claves de identificación y la descripción de las especies se encuentran ilustradas en las fichas número 1-8 del libro de Nelson, Tousson y Marassas (Nelson, 1983), tanto de la superficie como del reverso en medio PDA. Estos colores son los que hemos tomado como referencia para establecer una clasificación

cultural de los nuestros aislados. La caracterización de las variantes en los cultivos monospóricos se realizó a partir de la descripción de 10 por cepa aislada. Los elementos que se han considerado para la clasificación cultural y diferenciación de especies se muestran en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Características culturales de diferentes especies del género *Fusarium*, empleadas para su identificación. Procede de diversas fuentes (Nelson, 1983) y (Nelson y Ploetz, 1990).

	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. proliferatum</i>
Color micelio aéreo	Blanco, púrpura, azul	Blanco, crema	Blanco, púrpura	Blanco, púrpura	Blanco, púrpura
Color reverso colonia	Salmón pálido a púrpura oscuro	Crema, púrpura oscuro	Púrpura pálido a oscuro	Púrpura, azul pálido a oscuro	Púrpura, pálido a oscuro
Color difusible en agar	A veces, rojo	A veces violeta	No	No	No
Color esporodoquios	Naranjas, azules	Crema, azul, verde, nunca naranja	Naranjas	Naranjas	Naranjas
Macroconidias	++, producidas en esporodoquios	+++ producidas en esporodoquios	+, producidas en esporodoquios	++, producidas en esporodoquios y en micelio	++, producidas en esporodoquios y en micelio
Microconidias	+++ , células individuales, ovals	+++ , asociadas en cabezuelas, ovals	+++ , forman largas cadenas, ovals	+++ , ovals, aglutinadas semejante a glóbulos rojos	+++ , ovals, forman cadenas
Conidióforos	Monofialides cortas, +++ Polifialides -	Monofialides muy largas, +++ Polifialides -	Monofialides cortas, ++ Polifialides -	Monofialides cortas, ++ Polifialides ++	Monofialides cortas, + Polifialides +++
Clamidosporas	+++	+	-	-	-
Estado perfecto	No se conoce	<i>Nectria haematococca</i>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	<i>Gibberella subglutinans</i>	No se conoce
Características importantes	Monofialides cortas, predominio de microconidias, presencia de clamidosporas	Monofialides muy largas, microconidias en cabezuelas	Monofialides, microconidias en largas cadenas. Polifialides ausentes	Presencia de polifialides ausencia de cadenas de microconidias	Polifialides que producen cadenas de microconidias.

+++ : muy abundantes, ++ : abundantes, + : presentes, - : ausentes

2.2.2. Caracterización por Grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCGs) de los aislados pertenecientes al género *Fusarium*

Se siguió la metodología descrita por Correll (1987b), aunque en nuestro caso sólo se utilizó el VCG de referencia 0120, ya que es el único presente en Canarias (Regalado-Guijarro y Hernández, 1998) al cual pertenece *F. oxysporum* f sp *cubense* causante del Mal de Panamá.

Para la inducción de los mutantes de la cadena nitrato reductasa (*nit*), por cada aislado, se seleccionaron 2 líneas monospóricas, teniendo en cuenta la variabilidad presente en 10 monospóricos por aislado, que fueron sembradas en medio mínimo más 1,5 % de clorato potásico (Puhalla, 1985).

La caracterización de los tipos de mutantes *nit* se realiza haciéndolos crecer con 5 fuentes distintas de Nitrógeno (tabla 3):

Tabla 3. Caracterización de tipo de mutantes (+): crecimiento tipo salvaje (-): crecimiento hialino (Ploetz *et al.*, 1992)

	1	2	3	4	5	6
Salvaje	+	+	+	+	+	Ligero
Nit 1	-	+	+	+	+	Sí
Nit 3	-	-	+	+	+	No
Nit M	-	+	-	+	+	Sí

1. nitrato (NO₃): MM completo (Medio básico + nitrato)
2. nitrito (NO₂): M básico + 0.5 g/l Na NO₂
3. Hipoxantina: M básico + 0.2 g/l hipoxantina
4. amonio (NH₄): M básico + 1 g/l amonio tartrato
5. Acido úrico: Medio básico + 0.2 g/l ácido urico (no da información)
6. En realidad los *nit 3* se confirman por no poder excretar nitrito al medio, el resto de mutantes y el tipo salvaje si lo pueden hacer, aunque con el crecimiento en los anteriores medios, esta prueba no se utiliza.

Los enfrentamientos se realizaron con los mutantes *nit 1*, *nit 3* y *nit M* de los aislados con el *nit M* del VCG 0120 de referencia cedido por el Dr. Randy C. Ploetz de la Universidad

de Florida, que se dispusieron siempre en el centro de la placa, utilizando la misma plantilla, donde también se realizaron marcas isocéntricas para que los explantes de los aislados estuvieran a la misma distancia del explante central correspondiente al VCG 0120 (fig. 5).

La lectura se realizaba a los 15 días y en adelante hasta que se producía la aparición del heterocarion o los micelios de ambos aislados se unían sin haber formado la reacción de compatibilidad (fig 5).

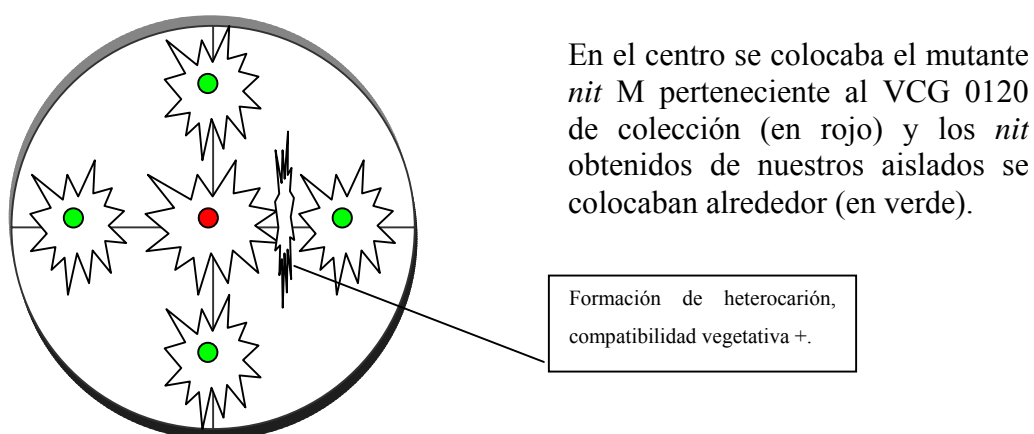


Fig. 5. Esquema para el ensayo de complementariedad entre VCG's de las especies pertenecientes al género *Fusarium*. Diseño de la plantilla basada en Domínguez, (2000).

En la tabla 4, se presentan las reacciones compatibles o incompatibles que se dan entre los diferentes tipos de mutantes.

Tabla 4. Complementariedad entre los diferentes mutantes (Ploetz *et al.*, 1992):

	<i>Nit</i> 1	<i>Nit</i> 3	<i>Nit</i> M
<i>Nit</i> 1	-/+	-/+	+
<i>Nit</i> 3	-/+	-	+
<i>Nit</i> M	+	+	-/+

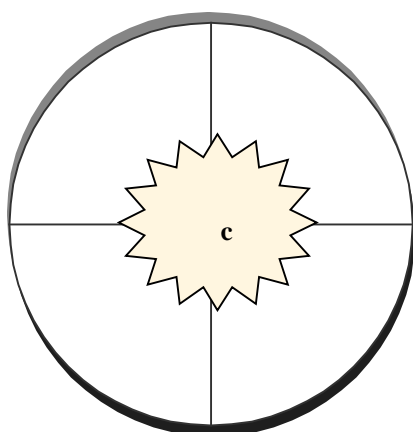
+: reacción compatible, formación de heterocarion.

-: reacción incompatible, no se forma heterocarion.

+/-: reacción variable, puede formarse heterocarion o no.

2.2.3. Caracterización por velocidad de crecimiento en placa con los medios de cultivo PDA y Komada (Komada, 1975), a 15° C y 25° C de los aislados pertenecientes al género *Fusarium*.

Se eligieron las temperaturas 25° C y 15° C porque de acuerdo con las claves sistemáticas, la velocidad de crecimiento a 25° C es un criterio utilizado para la identificación de algunas especies y corresponde al óptimo de muchas especies fúngicas y los 15° C por las bajas temperaturas que pueden registrarse en platanera en Canarias en los meses de invierno.



A un tiempo (**t**) en horas, le corresponde un crecimiento (**c**) en mm, donde la relación es:

$$c = b t + a$$

donde **b** representa la velocidad de crecimiento expresada en mm/h cuando **a** = 0.

Fig. 6. Esquema del diseño para el cálculo de la velocidad de crecimiento en placa de Petri de diferentes especies fúngicas.

El ensayo se desarrolló a partir de 2 cultivos monospóricos seleccionados a partir de 10 de cada aislado de diferentes géneros, aunque la selección incluyó proporcionalmente más aislados del género *Fusarium*, mayoritariamente de la especie *F. oxysporum*.

Los medios de cultivo se dispensaban poniendo 17 ml por placa para que la cantidad de medio no introdujera variabilidad en la velocidad de crecimiento. Partiendo del cultivo monospórico desarrollado en PDA durante siete días, se ponía un explante del hongo, en forma de cilindro de diámetro 4 mm en el centro de la placa, utilizando una plantilla donde se habían marcado el centro exacto de la circunferencia de la placa de Petri. Las lecturas se realizaban diariamente. Con una regla se medía el diámetro del crecimiento miceliar, siempre entre dos puntos que se encontraban marcados en la placa (Fig. 6). Por cada medio de cultivo y aislado se incluyeron 5 repeticiones. La velocidad de crecimiento era la pendiente de la recta de regresión lineal resultante de todas las medidas en mm respecto al tiempo (Koch, 1975).

3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

3.1. Pruebas de patogenicidad de bacterias

La caracterización patogénica se realizó uniendo todos los datos morfológicos, fisiológicos y metabólicos con los resultados de las pruebas de hipersensibilidad en el tabaco y las pruebas de inoculación en plataneras sanas. Con todos los aislados se inocularon plantas de platanera. Las cepas identificadas como enterobacterias (gram negativas, oxidasa negativas) fueron sometidas a las pruebas API 20E[®] y las cepas identificadas como no enterobacterias (gram negativas, oxidasa positivas) a los API 20NE[®] (Peñalver, 1994). Las cepas gram positivas se procesaron como un solo grupo, eligiendo un único representante que también fue inoculado en platanera sana.

Las cepas bacterianas a evaluar se cultivaron durante 24 h a 25° C en el medio KB y se prepararon suspensiones en agua destilada estéril a una concentración de aproximadamente 10⁸ UFC·ml⁻¹. Se inocularon 3 plantas de platanera por cada cepa seleccionada. Todas las plantas procedían de cultivo *in vitro*. Cuando las plantas tenían entre 6-8 hojas se inyectaron con una aguja hipodérmica 0.2 ml de la suspensión en los peciolo de la 4^a o 5^a hoja emitida antes de la última hoja no desenrollada o “cigarro puro”. Se señaló la zona del pinchazo con un círculo.

También se inoculó a nivel del rizoma, dejando una punta de micropipeta de 200 µl clavada durante 2 horas aproximadamente hasta que la suspensión fue absorbida por la planta. Como control se utilizó agua destilada estéril con los mismos procedimientos. Las pruebas se realizaron en macetas, en el invernadero climatizado del IVIA a 25°C y utilizando un sustrato de mezcla perlita:tierra esterilizado al vapor. Se regó con una solución nutritiva adecuada para la platanera y rica en micronutrientes (ANEXO. Solución Nutritiva).

Una vez por semana durante 6 meses se observaban las plantas estableciéndose como criterio el avance en mm de las bacterias inoculadas en el peciolo, y la aparición de algún síntoma como marchitez y amarilleo foliar. Al final del ensayo se cortaron todas las plantas a nivel del rizoma efectuando varios cortes seriados, tomando como variable la presencia o ausencia de necrosis vasculares o oscurecimientos en la superficie.

3.2. Pruebas de patogenicidad de hongos

3.2.1. Ensayos *in vitro*

El objetivo de estos ensayos era encontrar una metodología que pudiéramos estandarizar, que dieran reacciones rápidas para un diagnóstico de hongos fitopatógenos o hongos saprófitos en la platanera. Existen referencias que utilizan pruebas con plántulas del huésped para determinar la patogenicidad de diferentes microorganismos en el marco de los postulados de Koch.

La metodología se ha elaborado a partir de diferentes estudios similares a los nuestros y recomendaciones del INIBAP (Panis y Tien Thinh, 2001) y los de García-Rodríguez *et al.* (1987) en sus estudios sobre la propagación *in vitro* de plataneras (*Musa acuminata* Colla AAA var. 'Dwarf Cavendish') en las Islas Canarias.

Los valores de los síntomas internos y externos se analizaron según las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y de Mann Whitney, según si se trataban de varias o de solo 2 muestras) que utilizan la comparación en rangos de los valores de la variable estudiada. Las variables de crecimiento se analizaron según un ANOVA paramétrico. La separación de medias se hizo según la prueba de rango múltiple de Tukey con nivel de significación de aceptación de la hipótesis nula cuando $p \leq 0,05$. Todos los datos fueron analizados en el programa estadístico Systat version10 Copyright © SPSS. Inc., 2000.

3.2.2. Ensayo preliminar de puesta a punto de la metodología.

La metodología empleada consistió básicamente en la inoculación de aislados obtenidos de plantas con síntomas en plántulas de platanera obtenidas *in vitro* y colocadas en tubos de ensayo grandes que contenían medio de cultivo de enraizamiento habitualmente utilizado para la propagación *in vitro* de las plántulas de platanera por la empresa CULTESA. Esta inoculación se realizó en combinación con condiciones de hipoxia en las raíces de la planta. Este factor se consiguió añadiendo una capa de aceite mineral en la superficie de 4 cm de altura, de forma similar a como se cultivan bacterias anaerobias o se realizan pruebas de fermentación como es el caso de la utilización de la glucosa con el medio *Huff-Leisson*. Las especies fúngicas elegidas para la inoculación fueron: *F. oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. solani*, incluyéndose 3 repeticiones por inoculo en condiciones normales y 3 por inoculo en condiciones de hipoxia. Los controles consistieron en 3 plantas sin tratamiento alguno y 3 plantas con el aceite mineral

Las inoculaciones se realizaron tras una semana de haber dispensado el aceite en las plantas que correspondía. El inóculo consistió en 1 ml de una suspensión de conidias que oscilaba entre 10^4 y 10^6 conidias / ml, contadas con hematocitómetro que se transfirieron al medio de cultivo donde se desarrollaba planta con una jeringuilla hipodérmica.

El ensayo se mantuvo durante 2 meses en condiciones de laboratorio a aproximadamente 25°C y 280 lux de intensidad lumínica con un fotoperiodo de 16 h/día de luz fluorescente blanca con 4 tubos situados a 16 cm de distancia. Al final del ensayo se sembraron fragmentos de las raíces, rizoma y pseudotallo de las plantas inoculadas para comprobar que se reaislaban de ellas los inóculos. Estos fragmentos vegetales se desinfectaron superficialmente con una solución de lejía comercial al 0,5% durante 1 minuto, alcohol 70% durante 30 seg., lavado con agua destilada estéril y secado en la campana de flujo laminar durante media hora antes de sembrarlos en medio de cultivo PDA y Komada. También se comprobó que el inóculo de los tratamientos con aceite mineral continuara vivo al final del ensayo realizando una siembra en PDA a partir de una picadura con un asa de Köller realizada directamente en el aceite mineral.

3.2.3. Ensayo 2 en bote convencional empleado para cultivo *in vitro*:

Dado que en el ensayo preliminar se observó que las especies fúngicas se desarrollaban muy rápidamente sobre el medio de cultivo, y posiblemente competían con la planta por los nutrientes, se introdujeron cambios en la composición que básicamente consistieron en la eliminación de las hormonas que lleva el medio de cultivo de enraizamiento. En el Anexo3 se describe la composición del medio de cultivo utilizado

Básicamente, la metodología del ensayo fue la misma que en el ensayo preliminar, solo que en este caso se abarcó un mayor número de aislados con 5 repeticiones por tratamiento y se introdujo la variable temperatura, acondicionando dos cámaras con este objetivo, una con una bomba de refrigeración que mantenía la temperatura constante entre 15 y 17°C y la otra con temperaturas entre 26 y 28°C, las dos con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 de oscuridad y una intensidad lumínica de $150 \mu\text{E m}^2/\text{s}$ (280 lux) procedentes de tubos fluorescentes de luz blanca. Los especies fúngicas elegidas para la inoculación fueron: *F. oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. solani*, incluyéndose 5 repeticiones por inóculo en condiciones normales y 5 por inóculo en condiciones de hipóxia. Los controles consistieron en 5 plantas sin tratamiento alguno y 5 plantas con el aceite mineral, en la superficie del medio. También se introdujo la inoculación con todos los aislados a la vez y

con *Trichoderma sp.* y con un hongo sin determinar aislados de plantas con síntomas de FMP.

3.3. Pruebas de patogenicidad en invernadero

A la hora de plantear pruebas de patogenicidad tanto para hongos como para bacterias, nos hemos basado en referencias de la fitopatología clásica, en las que se utilizan inóculos con concentraciones muy elevadas de células respecto a lo que se espera encontrar en poblaciones naturales, utilizando plantas en condiciones controladas de invernadero que suelen durar entre 3 y 6 meses.

La escala de evaluación de los síntomas internos se ha basado en la recomendada por el INBAP en (Orjeda, 1998).

Las plantas se regaron siguiendo las recomendaciones semanales realizadas a los agricultores facilitadas por el Departamento de Suelos y Riegos del ICIA. En las plantas no adultas, se aplicaba un factor de corrección que se calculaba en relación con el área foliar de las plantas (Suárez, 1994).

3.3.1. Ensayo de patogenicidad en invernadero a 25-30°C y encharcamiento del suelo

Se realizó en condiciones controladas de invernadero utilizando tierra procedente de una plantación donde se dio el problema con gran incidencia, la cual se esterilizó al vapor. Se trabajó con plántulas de cultivo *in vitro* del cultivar 'Gruesa'. Los inóculos fueron líneas monospóricas de 28 aislados en total, 9 pertenecientes a la especie *F. oxysporum*, 7 a la especie *F. subglutinans*, 6 a la especie *F. proliferatum*, 4 a la especie *F. solani*, 1 perteneciente al género *Trichoderma sp.*, 1 de una especie sin determinar y un tratamiento consistente en una mezcla de todos los inóculos juntos. También se introdujo un aislado de FOC. Las plantas se inocularon con 50 ml de suspensiones de esporas del orden de 10^4 a 10^6 conidias/ml de cada especie fúngica. Se realizaron inoculaciones en condiciones normales (25° C, 80%, riego normal) y después de haber sometido a las plantas a encharcamiento permanente durante 2 semanas, con 8 repeticiones por tratamiento. Mediante agujeros que se cerraban o no, se mantenía un nivel de encharcamiento constante, creando situaciones de encharcamiento, cuyo tiempo de acción de 5 días encharcado y 2 días de drenaje semanalmente. El abono soluble de composición N:P:K (3:1:7) se aplicó mediante al riego por goteo a razón de 1 g/l, sin correcciones para el

calcio ni para microelementos. Se realizó un seguimiento de la evolución de pH y conductividad eléctrica del agua de riego y del agua drenada en los tratamientos de encharcamiento intermitente pero no se realizó ninguna corrección.

VARIABLES ESTUDIADAS

Al final del ensayo, se estudió la aparición o no de síntomas y las variables normales de crecimiento fenológico. Semanalmente se realizó una lectura de la altura y del diámetro del pseudotallo y del número de hojas emitidas. Al final del ensayo se contó el número de raíces en cada planta y se evaluaron los síntomas aéreos de amarilleo y “abrochamiento” o acortamiento de entrenudos, así como los síntomas internos en rizoma mediante la escala INIBAP. También se anotó la presencia/ausencia de nemátodos agalladores (*Meloidogine spp.*) y lesionadores (*Pratylenchus spp.*). Se realizaron siembras de rizoma tanto de plantas asintomáticas como de las que presentaban algunas necrosis en el interior del rizoma.

También se realizaron análisis foliares de los tratamientos control encharcados y no encharcados, con la misma metodología que los descritos en el punto 1.3 de ésta sección.

3.3.2. Ensayo patogenicidad en invernadero a 15-28° C, encharcamiento del suelo y simulación de daños mecánicos.

Se evaluó la capacidad patogénica de 28 aislados procedentes de plantas que presentaban los síntomas asociados al FMP, 9 pertenecientes a la especie *F. oxysporum*, 7 a la especie *F. subglutinans*, 6 a la especie *F. proliferatum*, 4 a la especie *F. solani*, 1 perteneciente al género *Thichoderma* sp., 1 de una especie sin determinar y un tratamiento consistente en una mezcla de todos los inóculos juntos. La prueba de patogenicidad se diseñó utilizando plántulas de cultivo *in vitro* del cultivar ‘Gruesa’, considerando la interacción de estos aislados fúngicos con el factor encharcamiento intermitente. Se utilizó un suelo procedente de una plantación afectada de FMP, previamente desinfectado al vapor, rico en arcillas y con tendencia a la compactación. El ensayo se mantuvo en una primera fase a 28° C y posteriormente a 17° C. Fue fertilizado con un abono complejo N:P:K+Ca (14:7:14:14) y microelementos. Además se realizó corrección del pH y CE del agua de riego. Las inoculaciones se realizaron añadiendo 50 ml de una suspensión de esporas que contenía entre 10^4 y 10^6 conidias/ml.

Por cada inóculo se realizaron los siguientes tratamientos: 8 plantas encharcadas mediante la inmersión de las macetas en cubos perforados a 20 cm del suelo para mantener el nivel

constante y 8 plantas con drenaje. A mitad del ensayo se realizaron cortes en las raíces a 4 de las 8 plantas de cada tratamiento.

Variables estudiadas

Las variables fenológicas estudiadas fueron: presencia/ausencia de necrosis en rizoma, y seguimiento de la evolución semanal del pH y CE en las plantas con tratamiento de encharcamiento. La duración del ensayo fue de 6 meses y vino condicionada por la aparición de síntomas en plantas inoculadas con aislados de referencia pertenecientes a la especie FOC. Al final del ensayo se realizaron siembras del material vegetal que presentaba algún tipo de necrosis en rizoma, en PDA y K, así como la recuperación del inóculo de cada maceta presente en el suelo, mediante la técnica de dilución y siembra en placa empleando los mismos medios de cultivo.

Se evaluaron los síntomas internos en rizoma mediante la escala INIBAP, y se realizaron análisis foliares de los tratamientos control encharcado y control no encharcado mediante las técnicas descritas en el apartado 1.3 de ésta sección.

4. INTERACCIONES DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS

4.1. Ensayos preliminares con suelos de plantaciones afectadas de Falso Mal de Panamá (FMP).

El objetivo de estos ensayos fue estudiar si las condiciones físico-químicas y/o microbiológicas del suelo podían inducir síntomas de FMP en plántulas de platanera

4.1.1. Ensayo con suelos de plantaciones del norte de la isla de Tenerife

Se eligieron suelos de 3 plantaciones comerciales de la zona productora de la vertiente norte de la isla de Tenerife, que presentaban el problema con alta incidencia. El ensayo se realizó bajo condiciones controladas de invernadero, con plantas procedentes de cultivo *in vitro* del cultivar ‘Gran enana’. La mitad de cada suelo se esterilizó al vapor, tres veces consecutivas dejándolos enfriar durante 24 h entre cada tratamiento. El suelo, una vez esterilizado, se distribuyó en macetas de 1.5 l de capacidad, del mismo modo que se distribuyó la otra mitad sin esterilizar. El control consistió en un sustrato turba :picón - lapilli volcánico- (70:30), la mitad del cual fue esterilizado al vapor y la otra mitad no. El ensayo fue de tipo factorial incompleto con 3 suelos, 3 muestras por suelo, 2 tratamientos

del suelo: esterilizado y no esterilizado y 7 repeticiones (plantas) por combinación de factores.

Las plantas se dispusieron en grupos de filas y columnas. Los grupos de 7 macetas con un mismo tratamiento, se colocaron al azar dentro de las columnas, que se orientaron perpendicularmente al gradiente de insolación del invernadero.

Se regaba a mano diariamente con 150 ml de un abono soluble N:P:K (3:1:7) sin corrección para calcio ni micronutrientes, a la dosis de 1 g/l. El pH y la conductividad eléctrica se midieron una vez por semana en el agua de riego, pero no se realizó ninguna corrección. El ensayo se mantuvo durante 3 meses. Las plantaciones de donde fueron tomados los suelos, los tratamientos y los códigos empleados se describen a continuación: Finca Zamora (Z), Finca Carmelo Villa (C), Finca Economista (E). La codificación consistió en las iniciales de las plantaciones, seguidas por el número de la muestra (1-3); esterilizado o no (S, N); número de repeticiones (1-7).

4.1.2. Ensayo con suelos de plantaciones del sur de la isla de Tenerife

Se utilizó la misma metodología que para el ensayo anterior, esta vez con suelos de 3 plantaciones de la zona productora de la vertiente sur, dos que presentaban problemas de falso mal de panamá y una con problemas de Mal de Panamá que se introdujo como control. El ensayo se realizó en el mismo invernadero que el anterior con condiciones de temperatura y humedad controladas. La duración del ensayo fue de 4 meses, cuando se había producido la expresión de síntomas en las plantas cuyo suelo contenía inóculo natural de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC).

Las fincas muestreadas fueron:

Finca Justino Martín Rocha (J), Finca José Carmelo Rodríguez San Blas (JC), Finca Juan Floreal -Mal de Panamá- (F). La codificación consistió en las iniciales de las fincas, seguidas por número de muestras del suelo (1-3); esterilizado o no (S, N); número de repeticiones: (1-7).

4.1.3. Variables estudiadas en los dos ensayos

Se realizó una lectura semanal de la altura y del diámetro del pseudotallo así como de la emisión de hojas. Al final del ensayo se evaluó la severidad de síntomas en el interior del rizoma y de síntomas externos, incluido los no típicos del FMP, utilizando una adaptación de la escala INIBAP empleada en la valoración de síntomas de Mal de Panamá. Esta es una

escala 1-3 para los síntomas aéreos: siendo 1 ausencia de amarilleo en hojas y 3 todas las hojas amarillas. Para la severidad de síntomas en rizoma se utilizó una escala 1-6, siendo 1 la ausencia de decoloraciones en el rizoma y 6 todo el rizoma decolorado.

También se estudió la presencia/ausencia de nemátodos y las variables peso fresco y seco de la parte aérea, y peso fresco y seco de la raíz. De las plantas que presentaban alguna anomalía respecto el control, tales como necrosis radicales y/o oscurecimientos en la estela del rizoma, se tomaron muestras y se realizaron aislamientos.

4.1.4. Siembras de muestras de material vegetal de plantas muestreadas en las plantaciones afectadas de las vertientes Norte y Sur. Aislamientos de microorganismos asociados.

Antes de montar el ensayo se muestrearon plantas con síntomas en estas plantaciones. El material vegetal objeto de estudio fueron fragmentos de rizoma, de pseudotallo y de raíz. Una vez seleccionado, fue esterilizado superficialmente con una dilución de lejía comercial al 0,1 %, seguida de una inmersión en alcohol al 70 % y aclarado con agua destilada estéril. Las siembras se realizaron en medios de cultivo PDA y Komada. Se aislaron y purificaron las colonias fúngicas y bacterianas en función de la morfología de las colonias. Después del ensayo se sembraron fragmentos vegetales de rizoma correspondientes a plantas que presentaban alguna anomalía respecto el control, tales como necrosis radicales y/o oscurecimientos en la estela del rizoma.

4.1.5. Análisis físico-químicos de muestras foliares y de suelos tanto de vertiente Norte como de vertiente Sur.

Antes y después del ensayo se realizaron análisis físico-químicos de los suelos empleados para la realización de las pruebas de patogenicidad. Las muestras de antes del ensayo fueron alícuotas de las tres repeticiones de los suelos una vez esterilizados al vapor. Después del ensayo se combinaron las tierras de las 7 repeticiones de cada tratamiento.

Antes del ensayo, se realizaron muestreos foliares de todas las plantaciones, siguiendo la metodología internacional (Martin-Prével, 1984), en la que se utiliza la tercera hoja antes de la última emitida. Después del ensayo también se analizaron muestras foliares conjuntas de las repeticiones de cada uno de los tratamientos.

Todos estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Suelos y Riegos bajo la supervisión de Dña. Ana Rosa Socorro Monzón. La metodología empleada fue la protocolizada para

cada elemento: N, P, K, B, Zn, Ca, Na, Mg, Mn, y Fe en foliares; y pH, CE, Porcentaje de saturación, CIC, Ca, Mg, Na, K, P, Nitritos, Nitratos y Materia orgánica (MO) en suelos.

4.2. Ensayo de cambio de la estructura física de un suelo de la vertiente norte de Tenerife mediante la adición de “picón”(lapilli volcánico).

El objetivo de este ensayo fue estudiar si los cambios en la estructura física del suelo repercutían en la inducción de síntomas de FMP.

La metodología seguida fue la misma que en los anteriores ensayos. Se recogieron tres muestras de suelo de la plantación afectada, el cual ya había sido estudiado en los ensayos de suelos del norte de Tenerife y fueron caracterizados como suelos con tendencia a la compactación. Se realizaron una serie de mezclas del suelo con diferentes proporciones de picón. Del mismo modo que en los anteriores ensayos, la mitad de los tratamientos fueron esterilizados al vapor tres veces consecutivas en tres días y la otra mitad no. En este caso los tratamientos fueron: Tierra natural (n) 100 %, repeticiones (n=1, 2, 3); Tierra (n) + Picón 25%; Tierra (n) + Picón 50%; Tierra (n) + Picón 75% y Picón 100 %, cada una con 7 repeticiones, esterilizadas (S) y no esterilizadas (N). Las plantas utilizadas pertenecían al cultivar ‘Gran Enana’. La distribución del ensayo se hizo al azar y se llevó a cabo en condiciones controladas de invernadero durante 4 meses. La solución nutritiva y la frecuencia de riego fueron idénticas que en los anteriores ensayos.

Variables estudiadas

Se realizó una lectura mensual de la altura y del diámetro del pseudotallo así como de la emisión de hojas. Al final del ensayo se estudiaron las variables peso fresco y seco de la parte aérea, peso fresco y seco de la raíz. Los síntomas externos y del interior del rizoma se valoraron con una escala similar a la utilizada en la escala del INIBAP para la evaluación del MP, descrita anteriormente.

Después del ensayo se sembraron fragmentos vegetales de rizoma correspondientes a plantas que presentaban alguna anomalía respecto el control, tales como necrosis radicales y/o oscurecimientos en la estela del rizoma. También se realizaron análisis físico-químicos de los suelos empleados y análisis foliares de muestras conjuntas de las repeticiones de cada uno de los tratamientos según la metodología descrita anteriormente.

4.3. Ensayo de diferentes tiempos de encharcamiento en sustrato turba: picón (70:30) en macetas de 5 litros de capacidad.

Con el objetivo de estudiar el efecto del tiempo de encharcamiento y la hipoxia asociada sobre la producción de síntomas de FMP, se diseñó un ensayo probando tiempos de encharcamiento medidos en horas. Previamente se calculó la cantidad de agua necesaria para la saturación del suelo a capacidad de campo y así calcular el riego diario para el tratamiento control. El método empleado se describe en el punto 4.3.1.

Se probaron 5 tratamientos de encharcamientos: A: 2 horas diarias, B: 4 horas diarias, C: 6 h diarias y D: encharcamiento total. El control fue regado con el abono soluble utilizado en los anteriores ensayos, con cantidades corregidas diariamente según el método de pesada en saturación y pesada a las 24 h descrito en el apartado anterior.

Se utilizaron plantas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en macetas de 5 litros de capacidad, llenadas con 700 g de una mezcla tierra:picón (70:30) El ensayo se distribuyó en cuadrado latino con 5 repeticiones por tratamiento en condiciones controladas de invernadero. El procedimiento seguido para el encharcamiento consistió en introducir las macetas en cubos (fig. 7). Los cubos tenían un agujero a 15 cm de la base para mantener el nivel de agua en todas por igual, que correspondía a la mitad de la maceta. El ensayo duró 3 meses.

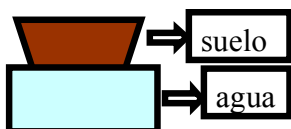


Fig. 7. Esquema del diseño empleado para producir encharcamiento sobre las plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en macetas de capacidad 5l.

Variables estudiadas

Se tomaban medidas semanales de la altura y del diámetro del pseudotallo, número de hojas y se medían la conductividad y el pH del agua drenada antes y después de rellenar los cubos hasta el nivel establecido.

En el momento del desmonte se estudiaron los pesos frescos y secos a 60°C de la parte aérea y raíz, el número de raíces, y la presencia / ausencia de nemátodos. Se realizaron análisis foliares y de suelos como en los anteriores ensayos.

4.3.1. Cálculos de la dosis de riego mediante la evapotranspiración y saturación del sustrato.

Se utilizaron 20 macetas de 1,5 l de capacidad, con 700 g de un sustrato tierra: picón (70:30). En primer lugar se calculó el contenido de humedad del suelo, con el método de secado del suelo a 105 °C, pesándolo antes y después utilizándose 5 repeticiones.

Posteriormente se calculó el consumo de agua debida a la evaporación sin la planta durante una semana, utilizándose 20 macetas. El método consistió en la saturación del suelo al 100%, pesándolo a continuación, y volviéndolo a pesar transcurridas 24 horas. La diferencia de peso era debida únicamente a la evaporación del agua

Por último se plantaron las plantas en las macetas, empleando el mismo procedimiento (pesada en saturación 100%-pesada a las 24 h). La diferencia correspondía a la suma del consumo de la planta más la evapotranspiración. Estas medidas fueron realizadas a lo largo de 13 semanas diariamente.

4.4. Ensayo de encharcamiento en sustrato turba:picón (70:30) en contenedores de 50 litros de capacidad.

Se probaron cuatro tratamientos de encharcamiento, teniendo en cuenta la duración y la intensidad de este: A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación y C: control sin encharcar. Se utilizaron plantas del cultivar ‘Gran Enana’ de 4 meses de edad.

El ensayo se dispuso en cuadrado latino. El sustrato utilizado fue una mezcla de turba:picón. El picón fue esterilizado al vapor, mientras que la turba no lo fue. La duración del ensayo fue de 6 meses. El diseño de las macetas fue (fig.8):

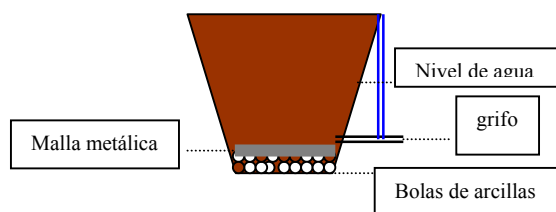


Fig. 8. Esquema del diseño empleado para el tratamiento de encharcamiento intermitente y control del nivel de agua, sobre plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en macetas de 50 l de capacidad.

Variables estudiadas

Las variables estudiadas fueron las mismas que en los anteriores ensayos. Además, se midió diariamente el oxígeno disuelto en agua, la conductividad y el pH.

El abonado fue el mismo que se había utilizado en los anteriores ensayos. El riego consistía en mantener diariamente los niveles de agua establecidos como tratamientos. El control se regaba con la media de la cantidad de agua añadida en el resto de tratamientos, que correspondía al agua consumida por la planta más la pérdida por evapotranspiración. Al final del ensayo se midió el área de la superficie foliar y mediante la escala INIBAP, se valoraron los síntomas aéreos y en el interior del rizoma del mismo modo que se hace en el Mal de Panamá.

Los análisis foliares se realizaron diferenciando en análisis de limbos, análisis de nervios y análisis de peciolos. Los sustratos se analizaron como el resto de suelos, para los nutrientes más importantes en la platanera.

4.5. Ensayo de simulación de encharcamiento y compactación del suelo

El objetivo del ensayo fue estudiar el efecto de la interacción encharcamiento y compactación.

El diseño del ensayo fue de tipo factorial. Se realizó en un invernadero climatizado (28 °C / 80% HR). Las plantas fueron abonadas con 1g/l de abono complejo soluble 15:5:30 N:P:K aplicado en el riego con una dosis de 600 cc/día. Los tratamientos fueron (Fig. 8): suelo esterilizado/no esterilizado; suelo compactado/ no compactado; 4 días encharcado/ 3 días no encharcado siempre intermitente. Para ello se diseñaron cubetas que contenían 2 repeticiones de cada compactación distribuidas en suelos esterilizados y no esterilizados. El encharcamiento intermitente se consiguió usando cubetas provistas de grifo que podía abrirse o cerrarse (fig.9).

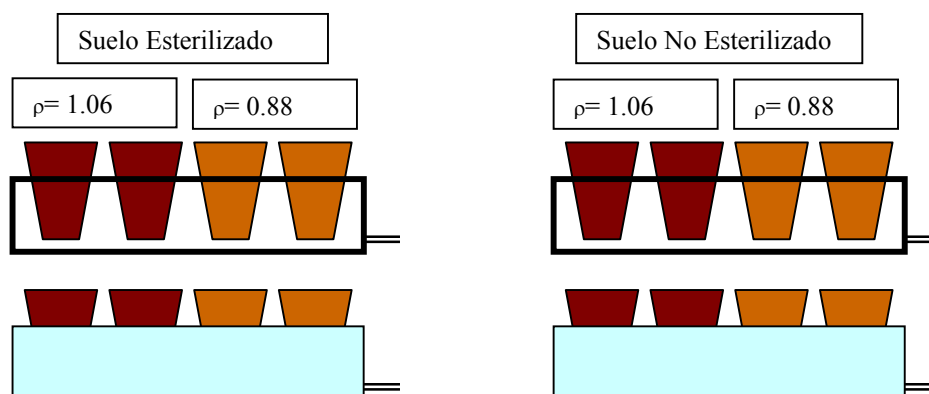


Fig. 9. Esquema del diseño empleado para los diferentes tratamientos de encharcamiento, esterilización y compactación del suelo sobre las plataneras cultivar ‘Gran Enana’.

Se utilizaron macetas de 1.7 l de capacidad, en las que siguiendo la metodología habitual se consiguieron 2 valores de densidad aparente para simular la compactación:

*1500 g de suelo/ 1700 ml: $r = 0.88$ g/ml

*1800 g de suelo/ 1700 ml: $r = 1.06$ g/ml

Estos valores son similares o ligeramente superiores a los normales de campo.

Para evaluar el efecto de la microflora presente en el suelo sobre la expresión de síntomas del FMP, la mitad del suelo fue esterilizado al vapor y la otra mitad no.

VARIABLES ESTUDIADAS

Antes del ensayo se realizó un recuento de flora total del suelo por el método de siembra a partir de un banco de diluciones en PDA, medio Komada (Komada, 1975), selectivo para *Fusarium* que permite la identificación de colonias de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC) (Sun *et al*, 1978) y medio King B específico para bacterias.

Se realizó un seguimiento semanal del comportamiento de las variables fenológicas de crecimiento: altura, número de hojas emitidas y diámetro de la base del pseudotallo, también se estudió la evolución del pH y de la conductividad del agua drenada. En la lectura final se estudiaron las variables: Número total de raíces, severidad de síntomas aéreos y en el interior del rizoma. Al finalizar el ensayo se realizaron aislamientos de plantas con síntomas claros, dudosos y de plantas sanas.

Como en los anteriores ensayos, los suelos se analizaron los principales nutrientes, antes y después del ensayo. Se realizaron análisis foliares como se describe en el primer ensayo, mediante muestras combinadas de las repeticiones de cada tratamiento.

4.6. Ensayo de compactación y dosis de riego en condiciones de campo.

El objetivo del ensayo fue estudiar el efecto de la compactación y de la dosis de riego en condiciones de campo sobre la inducción de síntomas de FMP. Se realizó en una parcela experimental de tamaño 1566 m², perteneciente al ICIA situada en la localidad de Güimar en la vertiente sureste de la isla de Tenerife.

La planificación de este ensayo fue compleja, pues se diseñó con restricciones a los gradientes principales de la parcela experimental, principalmente en base a la insolación y a los tratamientos de acondicionamiento que se realizaron en el suelo. La finca fue subdividida en tres parcelas, dos de las cuales fueron lavadas para eliminar el depósito de sales añadiéndose estiércol a razón de 5 Kg/m². La parcela no lavada y otra que si lo fue, fueron compactadas mediante una apisonadora. Dos semanas después se plantaron las plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’, la mitad procedentes de CULTESA (*in vitro*) y la otra mitad de “cabezas” de plantas madre denominadas “aceleradas”. El riego se aplicó mediante un sistema de riego por goteo consistente en aros provistos de 4 goteros (2,5 l/h cada uno) por planta. El tratamiento de riego, fue aplicado con tres dosis diferentes, calculadas a partir de las predicciones de riego semanales realizadas por el equipo de la Dra. C.L. Suárez del Dpto. de Suelos y Riegos del ICIA: Normal (100%), intermedia (175 %), y superior (250 %). El ensayo se dispuso en bloques al azar con 3 bloques (parcelas), 3 dosis de riego por bloque y dos tipos de material vegetal de plantación dentro de cada dosis de riego y bloque. Los riegos quedaron distribuidos con un diseño en cuadrado latino con 3 filas y 3 columnas de forma que todas las parcelas tuvieran todos los tratamientos.

Durante las etapas juveniles de la platanera, se aplicaron unos coeficientes de corrección a la dosis de riego recomendada por el Dpto. de Suelos y Riegos del ICIA para aquella zona, basados en la relación del área de sombreado de las plantas respecto al marco de plantación. Este procedimiento se realizó hasta que el coeficiente fue 1,0 que es el momento en que la planta puede considerarse adulta. El abonado se aplicó mediante el riego y se ajustaba a de acuerdo con el plan de abonado que se presenta en el anexo 4, calculado semanalmente para cada tratamiento (100, 175 y 250 %) de riego ajustado al asesoramiento de riego semanal realizado por el Dpto. de Suelos y Riegos a los agricultores. Las plantas borde se regaban y abonaban de la misma forma que la dosis 100 % de riego.

Variables estudiadas

Antes del ensayo se realizaron muestreos de suelos para análisis físico-químicos y microbiológicos. Se instalaron 18 sensores TDR (*Time resonance difference*) -2 por bloque-, en los que se tomaban lecturas semanalmente a los 15 minutos aproximadamente después del riego. A mitad del ciclo, se pusieron sensores ECHO 10 y ECHO 20 - medidores de agua volumétrica en suelo- los cuales recogían medidas continuas cada 5 minutos. Semanalmente se realizaba una lectura de número de hojas emitidas, altura y diámetro basal del pseudotallo. Estas mediciones se continuaron hasta el momento de floración de la planta. Se realizaron muestreos foliares según la norma internacional basada en la tercera hoja antes de la floración, así como recogida de muestras del suelo alteradas y no alteradas para los análisis físico-químicos y microbiológicos. La producción fue evaluada mediante las variables peso de la “piña” (racimo), número de manos y número de dedos.

Cuando la “piña” ya había sido cortada, también se cortaba a la planta madre, para la evaluación de los síntomas internos. Se tomaban muestras de rizoma para el aislamiento de los microorganismos asociados mediante la desinfección superficial y siembra de los fragmentos vegetales en PDA y Komada. En estos momentos el segundo ciclo continúa a partir de los hijos emitidos por las plantas madre ya cortadas.

5. ESTUDIOS HISTOQUÍMICOS

Los estudios histoquímicos que se presentan han sido realizados en el CIFA de Churriana (Málaga) bajo la supervisión de la Dra. Araceli Barceló Muñoz.

5.1. Material vegetal

Los cortes en fresco se realizaron a partir de muestras procedentes de dos plantas sanas, dos con síntomas de encharcamiento pero sin los síntomas clásicos de FMP y dos con síntomas de FMP. De cada planta se eligieron muestras de rizoma, pseudotallo y raíces. Las características de cada planta se detallan en el punto 3.1 del anexo.

El material vegetal utilizado para el estudio de las muestras incluidas en parafina consistió en tres plantas procedentes de una plantación comercial afectada por Falso Mal de Panamá, una planta con sintomatología característica de Mal de Panamá, una planta afectada por picudo y dos plantas sanas. En el momento del muestreo se dispuso de un banco de tubos con fijador F:A:A, para inmediatamente después del corte, introducir la muestra en la solución fijadora y así evitar en lo posible reacciones de oxidación que se dan en contacto con el aire y que pudieran alterar las posteriores observaciones microscópicas.

De cada una de plantas se tomaron tres muestras de rizoma, tres de pseudotallo y tres de raíces (Anexo 3.2). Se eligieron algunas de las técnicas histoquímicas más comunes que se describen a continuación.

5.2. Cortes en fresco

Los cortes en fresco se realizaron a mano, en muestras sin fijación previa, con una cuchilla de afeitar y tras depositarlos en un portaobjetos, se tiñeron para su observación inmediata (Barceló Muñoz, 1995; Clark, 1993). La observación de los cortes se realizó con un microscopio óptico de fluorescencia Laborlux 12 de Leitz. Las fotografías fueron tomadas con un sistema microfotográfico WILD MPS 45 Photoatomat.

5.2.1. Tinción de cutina (Heslop-Harrison, 1977)

La cutina se tiñó aplicando una gota de Auramina O (0,01% en tampón fosfato 0,05 M) (Sheldon y Dickinson, 1983) sobre los cortes realizados en fresco y se colocó el cubre. La cutina y otros lípidos que contienen ceras ácidas insaturadas, muestran fluorescencia de

color amarillo verdoso cuando incide sobre ella un haz de luz ultravioleta. Esta reacción es inmediata y pierde intensidad rápidamente.

La observación de los cortes se realizó con un microscopio óptico de fluorescencia Laborlux 12 de Leitz. Las fotografías fueron tomadas con un sistema microfotográfico WILD MPS 45 Photoatomat (Barceló Muñoz, 1995).

5.2.2. Tinción de celulosa (Heslop-Harrison y Heslop-Harrison, 1981)

La tinción de celulosa se realizó aplicando una gota de calcofluor (0,07 % en agua destilada) sobre los cortes en fresco. El calcofluor tiñe selectivamente la celulosa que al incidir sobre ella un haz de luz ultravioleta, muestra fluorescencia de color azul.

Las observaciones microscópicas se realizaron en las mismas condiciones que en la tinción con Auramina O.

5.2.3. Tinción de lignina (Marín, 1986)

Se realizó con Floroglucina clorhídrica, preparada de la siguiente forma :

Floroglucina	0,1 g
HCl	8 ml
Alcohol absoluto	8 ml

La lignina se tiñe de forma temporal color rojo cereza. Las preparaciones se observaron al microscopio óptico.

5.2.4. Tinción con azul de Tripán (Phillips y Hayman, 1970)

Esta tinción se utiliza como técnica habitual para la cuantificación de número de propágulos formadores de endomicorrizas arbusculares que han conseguido infectar una raíz, ya que permite detectar la presencia de micelio en el interior de las raíces.

Antes de la tinción, las raíces se colocaron en KOH al 10% y se dejaron a temperatura ambiente toda la noche. Se eliminó el KOH; se lavaron las raíces con agua corriente; se añadió HCl 0,1 N durante 2 ó 3 minutos; se eliminó el HCl; se añadió azul Tripán (0.05% en ácido láctico) durante 10 minutos a 90°C y se eliminó el colorante. Las raíces se conservaron en glicerol ácido (500 ml de glicerina; 450 ml de ácido láctico; 50 ml de HCl 1%) hasta su observación en el microscopio.

5.3. Cortes de material vegetal incluido en parafina.

5.3.1. Fijación, deshidratación e inclusión en parafina

Se tomaron las muestras de rizoma, pseudotallo y raíces, e inmediatamente se cortaron, sumergidas en fijador, en porciones de 2 cm x 1 cm aproximadamente. Las muestras se fijaban un mínimo de 24 h en una solución de F:A:A (Formalina: ácido acético glacial:alcohol etílico 70%) en proporción 5:5:90 (v/v/v).

Una vez fijadas todas las muestras, se procedió a su deshidratación mediante baños de alcohol butílico terciario (TBA) de gradiente creciente, según el protocolo que se describe en el anexo 3.3. Las mezclas de TDA se muestran en la tabla 3.4 del anexo.

Tras la deshidratación, la inclusión en parafina se realizó mediante baños sucesivos en gradiente creciente de parafina, según el protocolo que se describe en el anexo 3.5.

5.3.2. Obtención de cortes en parafina y desparafinado

Antes de realizar los cortes en el microtomo de deslizamiento Leitz, los bloques de parafina se tallaron a mano, de forma que en el extremo por donde se comienza a cortar quede una pirámide con el vértice completamente plano tal como se muestra en la figura 10 siguiente:

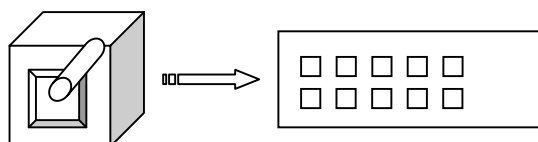


Fig. 10. Esquema de la talla del bloque de parafina en función de la orientación de la muestra insertada para su posterior corte en el microtomo. Disposición de los cortes sobre el portaobjetos.

Tras el tallado, los bloques se cortaron en secciones de 10 μm , en sentido longitudinal y transversal al eje de las muestras. Los cortes se depositaron sobre unas gotas de agua formalada al 3% [Formalina 3% (Formol 40%) en agua] en portaobjetos (fig. 9) a los que previamente se les había extendido una capa de adhesivo *Haup* [gelatina 1% (p/v), fenol 2% y glicerina 15% (v/v)] y secaron sobre una placa calefactora a 36°C durante unas horas. La eliminación de la parafina se realizó mediante tres baños sucesivos de 2 minutos en xileno, un baño de 2 minutos en la mezcla xileno:alcohol (1:1) y una serie decreciente de alcoholes al 100, 70 y 40 %, cada uno de 2 minutos, para su hidratación, terminando en un baño de agua destilada para si a continuación se realiza una tinción con un colorante disuelto en agua o terminando en alcohol al 40% si la tinción se va a realizar con un

colorante disuelto en alcohol. Después de cada tinción se montan las preparaciones de una forma permanente con una resina sintética DPX (Marín, 1986).

5.3.3. Tinción de actividad celular (Gerlach, 1969)

La tinción de *Gerlach* es una técnica en la que se utilizan tres colorantes, la safranina, el cristal violeta y el verde luz simultáneamente, lo que permite teñir de forma diferencial distintas estructuras en los tejidos observados. Los nucleolos y la pared celular lignificada se tiñen de rojo, los citoplasmas y la celulosa de las paredes celulares aparecen en verde. Los gránulos de almidón se observan de color violeta. El proceso de tinción fue el siguiente:

Después del baño de desparafinado en alcohol al 40 %, los cortes se sumergieron durante 1 hora en safranina al 3 % disuelta en etanol al 50 %; a continuación tras lavar abundantemente con agua destilada se sumergieron durante 90 segundos en una solución de cristal violeta al 1 % en agua; después de lavar los cortes nuevamente con agua destilada, se sumergieron varias veces en etanol al 90% seguido de una inmersión de 1-3 segundos en Verde luz al 0,25 % en etanol al 90 %. Se completó la deshidratación con isopropanol anhidro 98-99 % durante 2 minutos 2 veces, se aclararon durante 2 minutos 2 veces con xilol al 100% y se montaron con DPX.

5.3.4. Tinción con Azul de Toluidina (Gahan, 1984)

El azul de toluidina permite diferenciar distintos componentes de los tejidos, debido a que presenta metacromasia, tiñe con distintos colores dependiendo de los grupos ácidos que contenga una sustancia, variando el color de azul-verde para sustancias como la lignina, suberina y algunos taninos, a tonalidades rojo-púrpura para sustancias como la celulosa. El almidón no se tiñe. El citoplasma y el ARN de color púrpura y el ADN en azul o azul-verde.

La tinción se realizó individualmente en cada portaobjetos, siguiendo el protocolo siguiente después del último baño en agua destilada del protocolo de desparafinado:

Se aplicó una gota de azul de toluidina al 0,5 % en agua destilada, sobre la muestra dejando el porta sobre la placa calefactora a 60°C durante 30 segundos y se realizó un lavado con agua destilada dejándolo secar en la placa calefactora y se montó en DPX.

5.3.5. Tinción de hidratos de carbono insolubles

El almidón y otros hidratos de carbono insolubles se tiñeron mediante la técnica del PAS. Los polisacáridos y paredes celulares se tiñen de color rojo muy intenso (Jensen, 1962).

El protocolo para la tinción de PAS se inició en el último paso del desparafinado con un baño de agua destilada durante 2 minutos y se continuó con el siguiente protocolo:

Las muestras se sumergieron en ácido periódico al 0,5 % en agua destilada durante 2 horas. Se realizaron tres baños consecutivos en agua destilada durante 10 minutos en total y se sumergieron en el reactivo de *Schiffs* en oscuridad durante 45 minutos. De nuevo, se volvieron a lavar las muestras mediante tres baños consecutivos en agua destilada durante 10 minutos en total y se sumergieron durante 2 minutos cada uno en una serie creciente de alcohol al 40, 70 y 90 %. Finalmente se realizaron tres inmersiones de las muestras de 2 minutos cada una, en las mezclas Xileno:Etanol (1:1), Xileno I (100%) y Xileno II (100%). Finalizado el protocolo los portas se montaron en DPX.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. INCIDENCIA, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y DESCRIPCIÓN DEL “FALSO MAL DE PANAMÁ” EN CANARIAS.

1.1. Incidencia y datos climáticos precedentes

La mayoría de las plantaciones que se muestrearon durante los años 1999-2002, presentaron problemas de FMP, a partir de marzo, después de 6-8 meses de haber sido transplantadas a campo, aunque llegaron muestras al laboratorio durante el resto del año. En el momento de inicio del trabajo, cabe destacar los datos de temperatura de los meses enero, febrero y marzo del 99 con respecto a los años anteriores (Fig.11, 12, 13): en los tres son menores las medias de las máximas y de las mínimas, tanto al aire libre como en invernadero en la localidad de Las Galletas, en el sur y en Buenavista del norte de la isla de Tenerife.



Fig.11. Mapa de Tenerife, representando las diferentes zonas climáticas y los municipios más importantes.

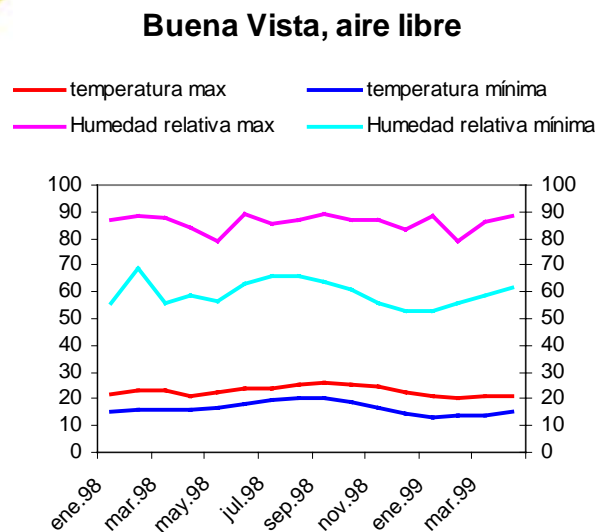


Fig.10. Datos meteorológicos de la zona productora de Buenavista al aire libre, situada en la vertiente noreste de la isla de Tenerife (enero 98-abril 99).

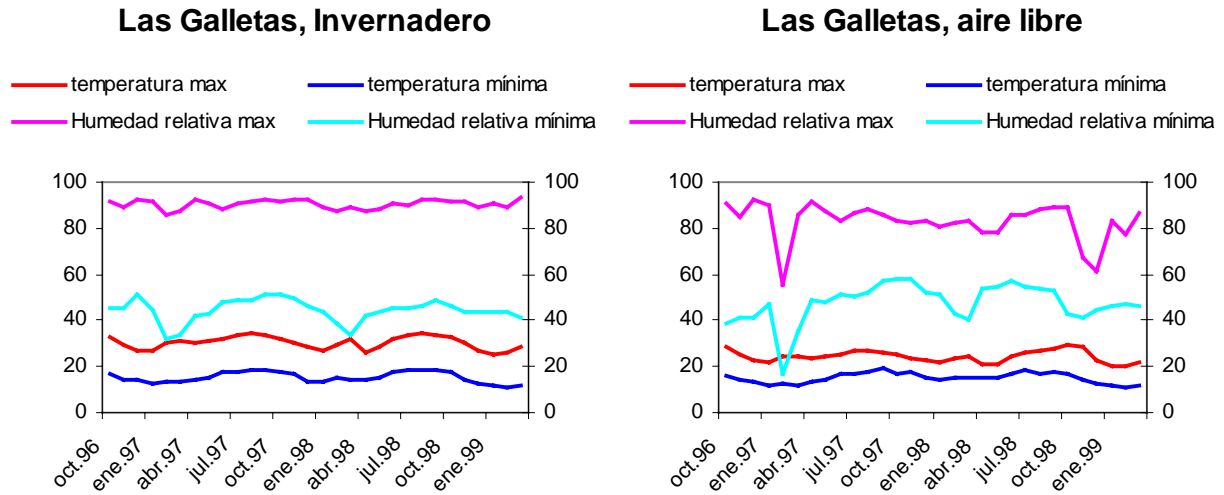


Fig.13. Datos meteorológicos de la zona productora de Las Galletas, bajo invernadero, situado en la vertiente suroeste de la isla de Tenerife (octubre 96-marzo 99).

Fig.12. Datos meteorológicos de la zona productora de Las Galletas, al aire libre (octubre 96-marzo 99).

Datos meteorológicos facilitados por el servicio de meteorología del Cabildo de Tenerife. Los datos representados están basados en las medias mínimas extremas mensuales de temperatura °C y Humedad relativa (HR %).

La isla de Tenerife tiene una superficie total de 2034,21 km². Puede dividirse en seis zonas por su paisaje, su clima y la situación geográfica (colores en la Fig 10). El Norte de la isla se ve muy influenciado por los vientos alisios, los cuales aportan humedad que permite un paisaje verde y el mantenimiento del bosque de la Laurisilva en el macizo de Anaga. El Sur es más seco y cálido, con vegetación adaptada al clima semi-árido (Fig. 10). Las plantaciones muestreadas las hemos agrupado en tres grandes zonas de la isla de Tenerife: Zona (NO-N) desde los municipios de Buenavista del Norte a La Orotava, estación meteorológica situada en el Botánico del Puerto de la Cruz, donde la temperatura mínima registrada fue de 9° C en enero del 1999, Zona (SO-S) desde Santiago del Teide a Arona, estación meteorológica situada en Cueva del Polvo (Guía de Isora), donde la mínima registrada fue de 9,9° C en enero del 1999 y Zona (SE-S) desde Güímar a San Miguel, estación meteorológica situada en

Güímar donde se registró la temperatura mínima de 10° C en enero del 1999 y de 9,5° C en los meses de febrero y marzo.

Puede observarse que en los inviernos de 1999 a 2002 se registraron temperaturas medias mínimas extremas más bajas de lo normal respecto a los años anteriores en las tres zonas representadas. En Las Galletas, bajo invernadero (fig. 11) se registraron 11,2° C y al aire libre (fig.12) 11,1° C en el mes de febrero de 1999; en Buenavista del Norte en cultivo al aire libre (fig.13) se registraron 13,3° C en enero de 1999, que se corresponden a los meses donde se recibieron y muestrearon el 80 % de las plantaciones que presentaban los síntomas clásicos de FMP y asociados a bajas temperaturas (Cabrera Cabrera *et al.*, 1997; Champion, 1968; Galan Saucó, 1992; Ganry, 1973; Green, 1969; Soto, 1985), como acortamiento de entrenudos, amarilleos foliares y parada del desarrollo de la planta con obstrucción foliar en muchos casos descritos en los primeros trabajos de Hernández y Sabadell (2000) y Sabadell González y Hernández (1999). Las condiciones subtropicales que se dan en Canarias son similares a las de Sudáfrica donde Deacon *et al.* (1985) realizaron los estudios sobre el FMP.

Deacon *et al.* (1985), propusieron la hipótesis de que el FMP es un problema relacionado con factores de estrés en primer lugar y que secundariamente *Fusarium* o otros microorganismos relacionados, tengan un papel secundario en la expresión de los síntomas de FMP. Observó que el FMP se producía en el primer o segundo año de haber plantado en lugares que antes estaban dedicados a otros cultivos tales como aguacate, mango o patatas, antes de plantar con plataneras, en suelos arcillosos. Lahav *et al.* (2000) citando a Reinking (1926), también asoció el problema con suelos arcillosos y con problemas de drenaje, extremas fluctuaciones de la zona saturada de agua, aunque el encharcamiento no era la causa. Dada la similitud de síntomas con la deficiencias en potasio, propuso la idea de que este elemento estuviera implicado, ya que bajo situaciones de hipoxia y elevado CO₂, se impide la absorción de potasio.

Nuestras observaciones de campo sugieren que en las condiciones de Canarias el FMP podría estar asociado, entre otros factores abióticos, a las bajas temperaturas. La expresión de los síntomas asociados al FMP se produjo mayoritariamente en las épocas en las que se detectaron medias mínimas más bajas de los últimos años.

1.2. Distribución geográfica de las plantaciones muestreadas

En la tabla 5 se presentan las zonas de producción, plantaciones estudiadas y las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio, con la incidencia de FMP asociada, durante el periodo comprendido entre el 1999 hasta el 2002.

Tabla.5. Incidencia del “Falso Mal de Panamá” (FMP) en diferentes áreas de producción en Las Islas Canarias.

Zonas de producción	Nº de plantaciones	Nº de muestras	Incidencia (%)
Norte Tenerife	27	90	41,78
Sur Tenerife	23	60	42,22
La Palma	10	17	30,00
Otros	3	5	30,00
Incidencia media	63	172	36,00

La incidencia expresada en % se refiere al número de plantas afectadas respecto al número de plantas total en cada plantación. Los valores de la tabla se refieren a la media del número de plantaciones afectadas en cada zona productora de la isla de Tenerife y de otras islas en menor número.

El FMP se ha detectado en todas las zonas productoras de plátanos, independientemente de la localización o de si el cultivo era bajo invernadero o al aire libre, aunque la mayoría de las plantaciones donde se detectó eran nuevas y el material de plantación procedía de cultivo *in vitro* del cultivar ‘Gran Enana’ o de selecciones locales de ‘Pequeña Enana’, por lo que se desconoce la influencia del tipo de material de plantación o del cultivar en la expresión del desorden.

La mayor incidencia se ha dado en cultivos al aire libre del norte de la isla de Tenerife, generalmente en plantaciones que se encontraban a unos 150 m de altitud sobre el nivel del mar, posiblemente debido a que en estas zonas las diferencias térmicas entre el día y la noche eran más grandes, datos que de nuevo sugieren la relación de la expresión de los síntomas de FMP con las bajas temperaturas ambientales.

La mayoría de las plantaciones muestreadas en el norte de Tenerife al inicio del trabajo, 12 eran nuevas. Se trataba de antiguas plantaciones dedicadas a la patata y reconvertidas al plátano en algunas ocasiones, y en otras se trataba de suelos que habían estado dedicados al plátano pero que habían sido abandonadas durante los últimos 10 años y que en este momento

se querían volver a plantar posiblemente debido a las nuevas subvenciones estatales a los productores de plátanos.

En el Sur de Tenerife las plantaciones muestreadas 6 al inicio del trabajo, no eran recientes, ya estaban dedicadas al cultivo de la platanera pero habían sido resembradas ese año, y aunque la mayoría eran bajo invernadero, estas presentaron el problema en el año más frío, el 1999, año en el que se hicieron los muestreos en base al material vegetal vendido, mientras que en el Norte fueron apareciendo plantaciones afectadas durante todo el tiempo de realización de este trabajo.

Basándonos en las observaciones de campo, la mayoría de las plantaciones, independientemente de la zona geográfica donde se encontraban, tenían en común evidencias de suelos con elevado contenido arcilloso y mal drenaje. Estas observaciones se confirmaron con los análisis de la estructura que se realizó para suelos procedentes de plantaciones con problemas, utilizados para la realización de los ensayos que se presentan.

1.3. Descripción de la sintomatología de las plantas muestreadas asociada al Falso Mal de Panamá.

En la mayoría de los casos, los síntomas aéreos se caracterizan porque las hojas totalmente desarrolladas más nuevas presentaban amarillos marginales (semejantes a la salinidad) y zonas del interior de los limbos necrosadas. El “puro” o hoja aun no desenrollada, en muchos casos presentaba zonas necrosadas y en ocasiones se podía encontrar colapsada. A veces, cuando la planta estaba próxima a la parición de la “piña”, la inflorescencia quedaba colapsada en el interior del pseudotallo, muchas veces resquebrajandolo para salir al exterior, y sin frutos con calidad comercial. La altura de las plantas así como el desarrollo fenológico se encontraban disminuidos respecto a las plantas sanas y el plano de emisión de las hojas se encontraba alterado. Datos similares fueron descritos por Holder y Gumbs (1983) asociados a daños por encharcamiento. Las plantas experimentaban un acortamiento de los entrenudos presentando lo que localmente se conoce como “abrochamiento”. No se observaron síntomas acusados de marchitamiento ni de amarilleo generalizado, síntomas característicos tanto por deficiencia como por exceso de agua en el suelo, así como por exposición a bajas temperaturas (Green, 1969; Soto, 1985).

Las raíces se encontraban muy deterioradas y muchas estaban muertas, presentando síntomas característicos de haber estado bajo condiciones de encharcamiento y compactación de los suelos tales como la separación de la corteza del anillo central, las puntas de los ápices necrosadas, ausencia de pelos absorbentes y elevada ramificación de las raíces adventicias. El suelo en la mayoría de los casos quedaba adherido a las raíces, mostrando clara evidencia de estar en saturación hídrica y presentar elevado contenido en arcillas.

Los síntomas observados son muy similares a los descritos por Deacon (1985) y a los asociados al *Yellow Mat* (Dunlap, 1923; Prescott, 1917) citados por Lahav *et al.*(1999). A su vez estos síntomas también son característicos de factores climáticos- edáficos como las bajas temperaturas y la estructura, compactación y condiciones hídricas del suelo, descritas por Soto (1985).

Los síntomas en rizoma eran muy característicos. Cuando se hacía un corte paralelo al suelo, se observaba un punteado disperso en el centro del rizoma que se era más intenso en el anillo vascular. Los puntos de inserción de las raíces muertas en el rizoma parecían en algunos casos ser el origen de estos oscurecimientos, pudiéndose seguir el avance de los oscurecimientos vasculares hasta alguno de los puntos interiores. En las vainas, esta decoloración vascular en la mayoría de los casos ascendía por el pseudotallo, llegando hasta 1 m del suelo en los casos más avanzados. El oscurecimiento vascular avanzaba de forma discontinua presentando el aspecto de un texto en “morse”, tal y como describieron Deacon *et al.* (1985), Sabadell González y Hernández (1999) y recientemente en Brasil Cordeiro *et al...* (2001). En algunos casos el tejido parenquimático que rodea el anillo vascular en rizoma adquiría inmediatamente al corte una coloración grisacea muy intensa que recordaba la saturación hídrica, además del normal oscurecimiento generalizado que se produce en plantas sanas debido a la oxidación de los fenoles en contacto con el aire.

El conjunto de síntomas internos y externos característicos del desorden no ha podido ser asociado a ningún agente causal aunque Deacon *et al.* (1985) y Lahav *et al.*(1999) han sugerido varias hipótesis descritas en la revisión bibliográfica, entre ellas las de interacción de factores abióticos con algún tipo de agente biótico.

1.4. Diferencias y similitudes entre el Mal de Panamá (MP) y el Falso Mal de Panamá (FMP).

Las observaciones de campo y las muestras de laboratorio de plantas afectadas de “Mal de Panamá” y de “Falso Mal de Panamá” nos han permitido establecer las siguientes diferencias, recogidas en Zaag de Beer (2001).

El FMP, no suele producir muerte de plantas a corto plazo, aunque sí reduce notablemente la cosecha. El MP, si produce la muerte de la planta y también reduce la cosecha. En conjunto, tanto los síntomas del interior del rizoma, como los externos (fig 14, fig.15) son similares a los observados en el MP: amarilleos, necrosis marginal, y en ocasiones, colapso de la hoja cigarro y decoloraciones de los haces vasculares en el interior del rizoma y a lo largo del pseudotallo, aunque el patrón de distribución en la zona medular del rizoma es diferente pues las decoloraciones se presentan como un punteado disperso, en lugar de estar asociadas únicamente al anillo vascular como se observa en el MP (fig.16, fig. 17).

La continuidad de las decoloraciones en los haces del rizoma y a través del pseudotallo, también es un elemento de diagnóstico diferencial, pues cuando se trata de MP existe una continuidad de la decoloración del vaso dañado en función del avance del hongo. En el caso del FMP, el oscurecimiento de los vasos es discontinuo.



Fig. 14. Síntomas externos de MP en platanera



Fig. 15. Síntomas externos de FMP en platanera



Fig. 16. Síntomas internos de MP en platanera



Fig. 17. Rizoma con síntomas de FMP en platanera

1.5. Resultados de los análisis foliares

En general no se pudo asociar la deficiencia de uno o varios elementos con los síntomas de FMP. En algunos casos los niveles de calcio foliar eran bajos pero en general no suficientes para la expresión en la planta de los síntomas clásicos de deficiencia, y este valor no se repetía constantemente en las plantaciones muestreadas (fig.18). Por otro lado, debido a que el agua de riego es alcalina, estos valores se dan normalmente en muchas plantaciones que no presentan problemas. Los valores de referencia para las plataneras adultas de una correcta nutrición se muestran en la tabla 1 de la revisión bibliográfica. A continuación se presentan los valores foliares para plantaciones del norte de Tenerife (Figura 18)

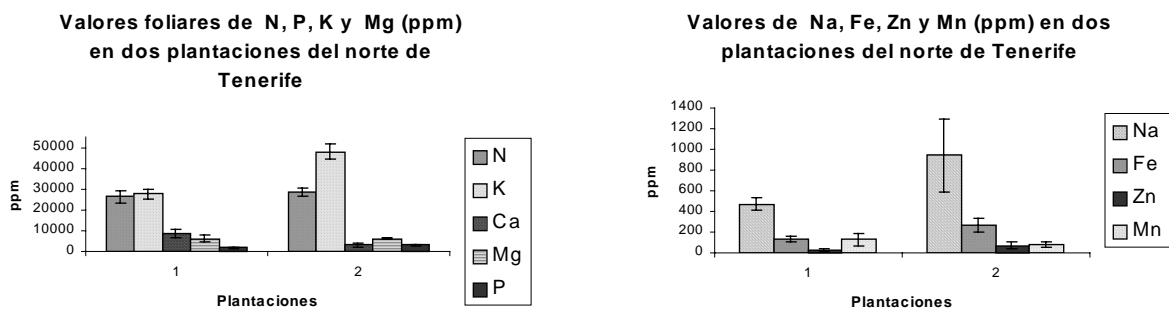


Fig.18. Valores foliares de nutrientes en plantaciones del norte de Tenerife

Posiblemente los bajos valores de algunos elementos como el calcio registrados en los análisis foliares, sean consecuencia de las bajas temperaturas registradas ya que estas pueden conducir a una reducción de la absorción y disponibilidad de los nutrientes tal como describe Green (1969), unido al efecto negativo de la estructura y características físico-químicas de los suelos con elevado contenido en arcillas y elevado contenido de Na en el agua de riego en plantaciones de platanera de Canarias (Suarez y Santana, 2002), así como las condiciones de encharcamiento y compactación que pueden conducir a bloqueos en la disponibilidad de nutrientes Chellemi (2001), Forsythe (1975) y Jackson (1982) en descripciones de los procesos físico-químicos que tienen lugar en los suelos bajo estas situaciones.

1.6. Resultados de los análisis de suelos físico-químicos

Los análisis de suelos en algunas plantaciones afectadas, revelaron que en ciertos casos la materia orgánica en suelo era baja (Tabla 6) aunque no existe un patrón constante en los casos estudiados que pueda relacionarse directamente con el FMP.

Los valores del Punto de marchitamiento permanente (Pmp) relativamente altos, casi del 50% en una de las plantaciones, son característicos de suelos con elevado contenido en materiales orgánicos y materiales arcillosos, los cuales poseen gran cantidad de reservas hídricas en forma higroscópica, es decir no utilizables por las plantas (Forsythe, 1975). En la tabla 6 se muestran los resultados de análisis físico-químico.

Tabla.6. Parámetros físico-químicos del suelo de muestras procedentes de tres plantaciones del sur de Tenerife.

Var	Plantación 1	SD	Plantación 2	SD	Plantación 3	SD
MO	0.60	0.00	0.80	0.57	0.90	0.72
P	36.00	11.31	32.00	28.28	84.00	42.14
pH	6.70	0.14	7.10	0.00	6.70	0.35
CE	1.38	0.35	1.79	0.06	7.07	7.46
Pmp	48.50	2.12	43.00	1.41	43.67	11.93

Donde se muestrearon 9 puntos de cada plantación. **MO** : Materia Orgánica (%); **P**: Fósforo Olsen (ppm); **pH**: en pasta saturada; **CE**: mS/cm a 25°C; **Pmp**: Punto de marchitamiento permanente (%); **SD**: Desviación estándar.

Los niveles de fósforo se encuentran dentro de un rango adecuado según diferentes autores que han estudiado los suelos agrícolas dedicados a la platanera en Canarias y otros lugares del mundo, como Lahav (1995) y Simmonds (1973). El pH no parece haber experimentado una reducción drástica por el efecto del encharcamiento presente en la plantación 1, no obstante la conductividad eléctrica (CE) fue elevada en las tres plantaciones, aunque es un dato que se encuentra dentro del rango normal descrito para los suelos agrícolas canarios por Pérez Mateos (1972), Rodríguez Pascual (1971), Dominguez (2000; 2001) y Álvarez (1999).

A continuación se presentan los valores de referencia (tabla 7) para diferentes texturas de suelos (Forsythe, 1975) y los resultados de los análisis de texturas USDA (tabla 8) realizados sobre 2 plantaciones del norte de Tenerife en el laboratorio de Suelos y Riegos del ICIA.

Tabla.7. Valores de referencia para diferentes texturas de suelos de la Capacidad de campo (CC) y Punto de marchitamiento permanente (Pmp) (Forsythe, 1975)

	CC	PMP
Arena gruesa	9 a 10%	2-5%
Arena fina	15 a 20%	6%
Limo arenoso	20-25%	8-10%
Limo arcilloso	25-30%	13-15%
Arcilla	30-40%	20%
Humus	más del 100%	50%

Capacidad de Campo (CC) corresponde al % agua a 1/3 bar y el Punto de marchitamiento permanente (Pmp) al % agua a 1/15 bar

Tabla.8. Análisis de la textura (USDA) de dos parcelas de la plantación comercial “El Cardón” del norte de Tenerife.

	Arcilla	Limo	Arena	Textura USDA
P1	37,0	25,6	37,4	FRANCO-ARCILLOSA
P2	28,8	27,3	44,0	FRANCO-ARCILLOSA

Parcela 1 (P1) y Parcela 2 (P2), donde el número de repeticiones por muestra fue de 8 por parcela de superficie media de 1000 m².

En la tabla 9 se presentan los resultados de las curvas de Richards realizadas para los suelos de las plantaciones P1 y P2 incluidas que en la tabla 8.

Tabla.9. Análisis físicos de los suelos presentes en la parcela 1 (P1) y parcela 2 (P2) de la finca comercial “El Cardón”.

	densidad aparente	%agua a 1/3 bar	%agua a 15 bar	%agua disponible para la planta
P1enfermas	1,83	25,05	16,97	8,08
P1sanas	1,93	22,80	15,47	7,33
P2enfermas	1,71	23,69	16,00	7,68
P2sanas	1,86	23,37	15,59	7,79

Capacidad de Campo (CC) corresponde al % agua a 1/3 bar y el Punto de marchitamiento permanente (Pmp) al % agua a 1/15 bar. El agua útil para la planta o (porcentaje) % agua disponible para la planta es el resultado de la diferencia de la CC menos la Pmp y se expresa como ml de agua / 100 g de suelo. Los datos están basados en 8 repeticiones por plantación

La plantación 1 tenía las plantas ya paridas con los frutos ya emitidos y estaban más afectadas con síntomas muy claros en rizoma y la parte aérea. En la plantación 2, las plantas aun no habían parido y presentaban síntomas iniciales en el rizoma pero no aéreos. La textura USDA (tabla 8), franco-arcillosa (tabla 7) de estos suelos se corresponde a lo descrito para los suelos Canarios por Pérez Mateos (1972) y por Rodríguez Pascual (1971). En la tabla 9 se observa que los valores de densidad aparente de los suelos son elevados, y podrían indicar un grado de compactación medio de los suelos de estas plantaciones. Esta compactación del suelo puede impedir un buen drenaje y provocar situaciones de encharcamiento que favorezcan la

aparición de zonas con bajo contenido de O_2 en la rizosfera, cambios estructurales y la presencia de heridas y necrosis en las raíces de las plantas como describen diferentes autores como Trought y Drew (1980) en trigo, Dorel (1990, 1993) y Dorel y Ozier Lafontaine (1998) en platanera.

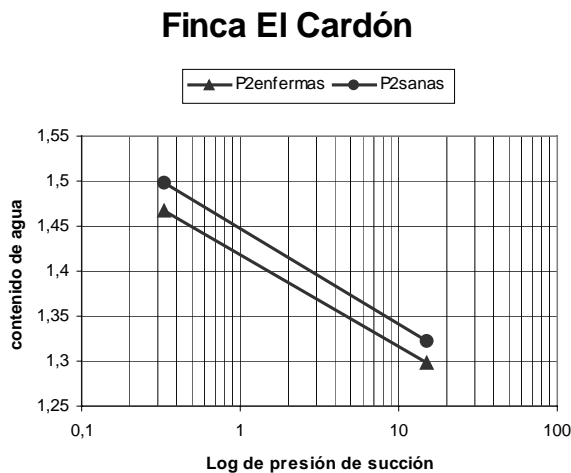


Fig.19. Curva de Richard, para los suelos de plantas enfermas y plantas sanas de la plantación 1 (P1) de la plantación “El Cardón”.

(P1) de la finca comercial “El Cardón”, valores basados en 4 repeticiones de cada muestra. El log de la presión de succión, se refiere a la diferencia de contenido de agua antes y después de aplicar una succión. Capacidad de Campo (CC) corresponde al porcentaje (%) agua a 1/3 bar y el Punto de marchitamiento permanente (Pmp) al porcentaje (%) agua a 1/15 bar. El agua útil para la planta o porcentaje (%) agua disponible para la planta es el resultado de la diferencia de la CC menos la Pmp y se expresa como ml de agua / 100 g de suelo. Los datos están basados en 8 repeticiones por plantación

Aunque el análisis USDA (tabla 8) caracteriza los suelos de estas dos plantaciones con textura franco-arcillosa, según la capacidad de retención de agua útil para las plantas, se podrían clasificar como suelos limo-arcillosos (tabla 7). Este tipo de suelo, se caracteriza por retener el agua higroscópicamente (no útil para la planta) en un porcentaje elevado. En el caso de la parcela (1) la capacidad de campo (CC: 1/3 bar succión) se encontraba a un 25 % y el punto de marchitamiento (Pmp: 1/15 bar succión) a un 15 % de contenido de agua en el suelo (fig.19, tabla 9) Estos valores de contenido de agua pueden conducir a situaciones de hipoxia, con el tiempo (Forsythe, 1975). Estos suelos poseen elevada capacidad de campo pero con un volumen de agua higroscópica muy elevada, que da como resultado un nivel medio de reserva útil (8 %) para las plantas (tabla 9). Aunque los valores para las plantas sanas y las enfermas

sean similares, es posible que estas características del Suelo y las derivadas de ellas, jugaran un papel en la inducción de los síntomas.

1.7. Resultados de los análisis microbiológicos de suelos

A continuación se presentan los resultados de los análisis microbiológicos realizados en suelos de plantaciones comerciales situadas en el norte y sur de Tenerife. Los suelos de estas plantaciones han sido utilizados para la realización de los ensayos que se han realizado a lo largo de este trabajo, y por tanto se consideran los análisis microbiológicos antes del ensayo.

La plantación Carmelo Villa (C) esta en el municipio de Buenavista del Norte de la isla de Tenerife, y su suelo ha sido objeto de estudio en diferentes ensayos (suelos del norte, mejora de la estructura del suelo, compactación y encharcamiento) debido a que presentaba signos de diversos factores de estrés. La incidencia de FMP fue de un 40 % (tabla 5). En la tabla 10 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos.

Tabla.10. Valores medios de UFC/100 g de especies fúngicas, bacterianas en los medios PDA, Komada y King B, de suelos asociados a FMP, realizados sobre tres repeticiones de cada subparcela (C1, C2, C3) del suelo de la plantación comercial “Carmelo Villa” situada en el norte de Tenerife, municipio de Los Realejos.

muestra	PDA		KOMADA		KB	
	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias
c1	1,22E+04	1,88E+02	1,19E+04	7,00E+01	7,33E+03	5,94E+05
c2	3,17E+04	2,39E+03	2,96E+04	0,00E+00	1,22E+08	1,28E+10
c3	2,19E+04	1,29E+03	2,08E+04	3,50E+01	6,11E+07	6,42E+09
cfu/g	6,68E+04	8,59E+02	7,06E+04	2,33E+01	4,08E+07	4,28E+09

Se sembraron mezclas de 4 muestras de suelo por punto de muestreo (C1, C2 y C3) y de cada una se realizaron 3 repeticiones en cada medio de cultivo, K, PDA y KB. Los datos se refieren a la dilución 10E-2 para hongos, que es donde aparecían un número superior a 30 colonias e inferior a 300. Para las bacterias se elegía la dilución 10E-3, donde se podían contar más de 3 colonias y menos de 300.

La Finca “El Cardón” (tabla 11) se encuentra en el término municipal de Buenavista en la vertiente norte de Tenerife. Esta plantación fue elegida por presentar una parcela con elevado grado de incidencia y otra sin problemas, situadas en las mismas condiciones y son las mismas para las que se hicieron las curvas de Richards anteriormente mencionadas y los resultados que se presentan son los análisis correspondientes al momento antes del ensayo. Se decidió realizar análisis microbiológicos de los suelos con el objetivo de ver si existían diferencias en

la microflora que pudieran explicar la diferencia de expresión e incidencia. Los suelos no se encontraban encharcados aunque presentaban elevado contenido en arcillas y con tendencia a la compactación.

En la parcela 1, todas las plantas muestreadas tenían síntomas aéreos y en rizoma.

Tabla.11. Valores medios de UFC/100 g de especies fúngicas, bacterianas y *Fusarium spp* en los medios PDA y Komada de suelos asociados a FMP, realizados sobre tres repeticiones de la parcela 1 (P1) del suelo de la plantación comercial “El Cardón” situada en el norte de Tenerife, municipio de Buenavista.

muestra	PDA				Komada			
	Hongos	Bacterias	<i>Fusarium spp.</i>	cfu/100 g	Hongos	Bacterias	<i>Fusarium spp.</i>	cfu/100 g
A	1,00E+03	1,80E+04	1,00E+03	1,90E+04	6,00E+02	0,00E+00	0,00E+00	6,00E+02
B	1,00E+03	1,80E+04	0,00E+00	1,90E+04	3,00E+02	7,00E+02	0,00E+00	1,00E+03
C	9,00E+03	0,00E+00	3,00E+03	9,00E+03	5,70E+03	1,90E+03	5,70E+03	7,60E+03
D	3,00E+03	0,00E+00	1,00E+03	3,00E+03	2,60E+03	0,00E+00	9,00E+02	2,60E+03
E	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	1,80E+03	0,00E+00	0,00E+00	1,80E+03
F	3,00E+03	0,00E+00	2,00E+03	3,00E+03	5,00E+02	0,00E+00	4,00E+02	5,00E+02
G	1,00E+04	0,00E+00	1,00E+04	1,00E+04	2,00E+02	4,20E+03	2,00E+02	4,40E+03
H	6,00E+03	3,00E+03	0,00E+00	9,00E+03	6,70E+03	0,00E+00	0,00E+00	6,70E+03

Se sembraron muestras de cada punto de muestreo y de cada una se realizaron 3 repeticiones en cada medio de cultivo, K, PDA y KB. Los datos se refieren a la dilución 10E-2 para hongos, que es donde aparecían un número superior a 30 colonias e inferior a 300. Para las bacterias se elegía la dilución 10E-3, donde se podían contar más de 3 colonias y menos de 300. Las plantas sembradas en los puntos de muestreos de los suelos A, B, C y F no presentaban síntomas de FMP, las sembradas en los puntos de muestreos de los suelos G, H, D y E no presentaban síntomas aéreos pero si los presentaban en rizoma

La finca Economista también se encuentra situada en el término municipal de Buenavista del norte de Tenerife. Fue una de las plantaciones más afectadas de todas las estudiadas. Los resultados microbiológicos se presentan en la siguiente tabla 12.

Tabla.12. Valores medios de UFC/100 g en suelo de especies fúngicas, bacterianas en los medios PDA y Komada de suelos asociados a FMP de la plantación comercial “Economista” situada en el norte de Tenerife, municipio de Buenavista del Norte

muestra	PDA		Komada		KB		<i>Fusarium spp.</i> total	
	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias	PDA	Komada
E1	9,99E+04	5,17E+03	2,98E+04	0,00E+00	1,92E+04	1,50E+07	6,33E+03	7,83E+03
E2	1,73E+05	2,67E+03	6,50E+03	2,50E+05	5,33E+05	1,06E+07	1,20E+04	4,42E+03
EFMP	1,32E+05	3,13E+04	5,03E+04	0,00E+00	1,10E+04	5,95E+06	1,00E+05	2,50E+04
Esana	6,00E+04	1,07E+05	6,43E+03	0,00E+00	5,00E+04	8,63E+06	2,33E+04	3,27E+03

Realizados sobre tres repeticiones de cada muestra (**E1** “planta con síntomas aéreos e inicio en rizoma”, **E2** “planta con síntomas aéreos e inicio en rizoma”, **EFMP** “planta con síntomas típicos de FMP aéreos y en rizoma”, **Esana** “planta sana”). Se sembraron 4 mezclas de suelos y de cada una se realizaron 3 repeticiones en cada medio de cultivo, K, PDA y KB. A partir de las placas de PDA se hizo un recuento del número de colonias pertenecientes al género *Fusarium*. Los datos se refieren a la dilución 10E-2 para hongos, que es donde aparecían un número superior a 30 colonias e inferior a 300. Para las bacterias se elegía la dilución 10E-3, donde se podían contar más de 3 colonias y menos de 300.

En dos de las plantaciones estudiadas, existen poblaciones microbianas en las que destacan los altos valores de ufc para *Fusarium*, respecto al resto de microorganismos (otros hongos y bacterias). En los puntos de muestreos correspondientes a las plantas enfermas existe un ligero aumento de la flora fúngica total respecto a la bacteriana total. La presencia de altos valores de ufc de *Fusarium spp.* en suelos de platanera ha sido citado por Blesa et al. (1979) y por Hernández (1997). Estos resultados difieren de lo descrito por Stover (1953), donde lo esperado en situaciones de encharcamiento es lo contrario, se favorece la flora bacteriana en relación con la fúngica. Quizás, sea debido a que la situación de encharcamiento en las plantaciones comerciales estudiadas no sea de forma permanente y por tanto no vemos su efecto extremo sobre la flora microbiana del suelo, al menos en el momento del análisis ya que la poblaciones en el suelo son dinámicas y sensibles a los cambios ambientales y edáficos, y probablemente en otro momento de análisis los resultados serian distintos.

2. AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS BACTERIANOS Y FÚNGICOS

Se han procesado 567 submuestras (rizoma, pseudotallo y raíz) procedentes de 172 plantas y 59 plantaciones en total (18 plantaciones y 90 plantas muestreadas por nosotros y el resto de muestras enviadas al laboratorio). Para mayoría de los fragmentos sembrados, existió una gran variabilidad en los aislamientos obtenidos, aunque generalmente se produjo crecimiento, ya fuera fúngico o bacteriano, de manera similar a lo obtenido por Reinking (1926) citado por Lahav *et al.* (1999) y por Deacon *et al.* (1985) aunque estos autores pusieron de manifiesto que en algunos casos no se producía crecimiento de ningún tipo, lo que también hemos observado en varias ocasiones.

Los hongos aislados con mayor frecuencia pertenecen al genero *Fusarium*, siendo *F. oxysporum* el que aparece en el 100 % de las plantas, le sigue *F. subglutinans* y *F. proliferatum* que se encuentran presentes en un 80 % de las muestras procesadas (Fig.20). (Pocasangre, 2000) estudiando la población de endófitos, obtuvo resultados similares en plataneras de América Central.

En segundo lugar de abundancia se encuentra el número total de géneros de bacterias que aparecen como flora asociada a este tipo de sintomatología. Pertenecen en su mayoría a los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Serratia* y *Enterobacter*. Los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* han sido descritos como patógenos en la platanera o asociados a síntomas de podredumbres blandas en pseudotallo y rizoma.

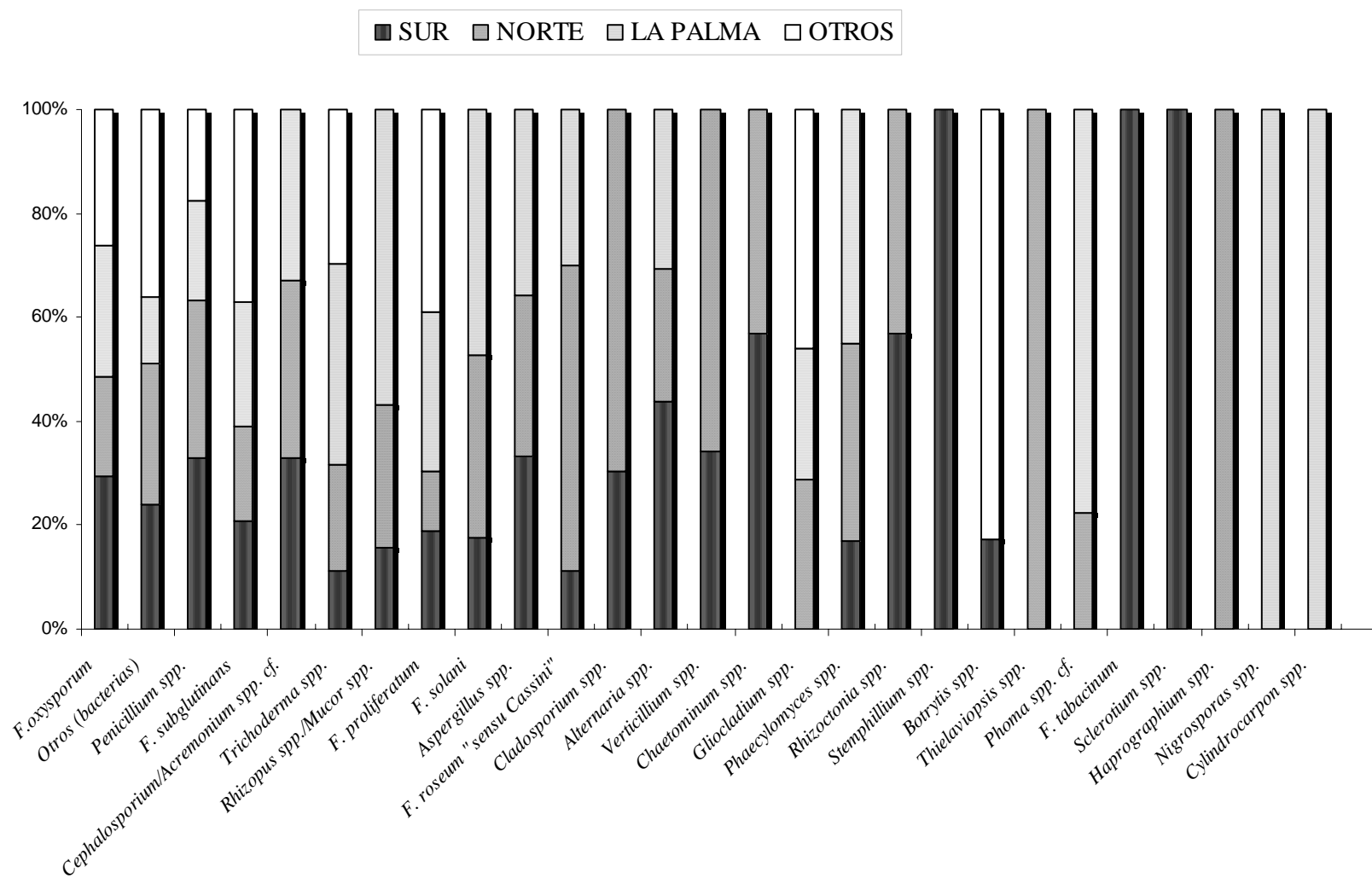


Fig.20. Frecuencia de los géneros fúngicos y total de bacterias /número de puntos de siembra y procedencia de las muestras.

A continuación se presenta el número total de plantas muestreadas (tabla 13)

Tabla.13. Número total de muestras procesadas para el aislamiento de los microorganismos asociados al FMP, según el órgano vegetal de procedencia y su sintomatología (FMP y MP).

tipo muestra	síntomas		
	FMP	MP	Total general
hoja	2		2
pseudotallo	72	31	103
raíz	73	12	85
rizoma	337	40	377
Total general	484	83	567

Las muestras dudosas se encuentran incluídas en las plantas con síntomas de FMP, consideradas así en el diagnóstico de *visu* y posteriormente confirmadas o descartadas según los resultados de los posteriores análisis.

2.1. Caracterización cultural de los aislados bacterianos

La selección de aislados bacterianos se hizo a partir de características culturales, mediante las cuales se agruparon en 5 tipos de coloración de la colonia. El número de seleccionados para realizar las posteriores caracterizaciones y pruebas de inoculación se describe en la tabla 14.

Tabla.14. Número total de aislados bacterianos y número de cepas seleccionadas para su identificación y caracterización

aislados	n°	aislados	n°
total A	66	selecciónA	22
total B	87	selecciónB	29
total C	60	selecciónC	20
total N	27	selecciónN	9
total R	30	selecciónR	10
total aislados	267	total selección	90

Clasificados en 5 tipos diferentes basados en la coloración de las colonias bacterianas en LPGA (**A**: amarillo; **B**: blanco; **C**: crema; **N**: naranja; **R**: rojo).

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 15.

Tabla.15. Número y caracterización fenotípica en medio LPGA (48 h y 25°C) de las cepas seleccionadas para su posterior identificación y caracterización metabólica.

Grupos color	Forma*	% en placa	Tamaño (mm)	Bordes	Pig. Dif.	Nº aislados
A	E	>75	1-3	Irregular	no	3
A	E	>75	3-7	Irregular	no	3
A	I	>75	3-5	Irregular	no	2
A	I	50	3-4	Liso	no	1
A	I	>75	1-10	Liso	no	10
A	P	>50	0.5-1	Puntos	no	8
A	P	>75	0.5	Regular	no	7
A	R	75	1-3	Irregular	no	3
A	R	75	0.5-1	Regular	no	4
A	R	75	2-3	Regular	no	5
A	R	>75	1-2	Regular	no	5
A	R	75	2-3	Regular	no	2
A	R	75	2-4	Liso	no	4
A	R	>75	0.5-5	Liso	no	9
B	E	>75	1-3	Irregular	no	9
B	I	>75	2-4	Irregular	si	11
B	I	>75	Variable	Irregular	no	16
B	M	>75	Variable	Irregular	no	5
B	P	>75	0.5	Regular	no	10
B	R	>75	2-4	Irregular	no	2
B	R	>50	0.5-1	Puntos	no	17
B	R	>75	1-5	Regular	no	12
B	R,L	>75	3-10	Liso	no	5
C	E	50-75	1-5	Irregular	no	7
C	I	75	1-5	Liso	no	10
C	R	>75	1-4	Irregular	si	6
C	R	75	2-4	Liso	no	3
C	R	75	3-4	Liso	no	6
C	R	75	4-5	Liso	no	12
C	R	>50	0.5-1	Puntos	no	1
C	R	75	2-4	Regular	no	4
C	R	75	2-4	Regular	no	1
C	R	>75	1-4	Regular	no	3
C	R	>75	1-3	Regular	no	2
C	R, pR	>75	0.5-4	Lisos	no	5
N	P	>75	0.5	Regular	no	13
N	R	>50	1	Regular	no	9
N	R,E	25-50	1-3	Lisa/irregular	no	5
R	R	>75	1-3	Regular	no	19
R	R	<25	2-3	Regular	si	11

Grupos color, hace referencia a los grupos realizados a partir del color de la colonia (A: amarillo; B: blanco; C: crema; N: naranja; R: rojo). Forma* de la colonia (E: estrellada o con lascinias; I: irregular; P: puntos <1 mm; R: redondas o esféricas; M: miceliar; L: levaduriforme). El tamaño: diámetro de la colonia en mm. Bordes: contorno de la colonia. Pig. Dif. (presencia o ausencia de pigmentos difusibles en el medio). Nº de aislados se refiere al número de cepas seleccionadas de cada grupo para las posteriores pruebas; %: se refiere a frecuencia de aislamiento/ 172 muestras.

2.1.1. Identificación fenotípica y metabólica de las cepas bacterianas seleccionadas. Pruebas de hipersensibilidad en hojas de tabaco (Lelliot y Stead, 1987)

A las cepas seleccionadas anteriormente se les realizaron pruebas metabólicas para su identificación. Las cepas agrupadas metabólicamente, a 48 h de crecimiento, pueden ser clasificadas en los grupos que se muestran en la tabla 16.

Con el objetivo de reducir el número de cepas, los resultados de taxonomía se unieron en una base de datos con los resultados de la prueba de hipersensibilidad en hoja de tabaco (HR) descartando las que no pertenecían a un género descrito para la platanera y que eran HR negativo. En una primera relación, se pensó que las cepas HR positivas tenían más probabilidad de afectar a la platanera. No obstante, muchas *Xanthomonas* sp., muchas del género *Erwinia* pectinólíticas y *Agrobacterium tumefaciens* son HR negativas y son bacterias fitopatógenas bien conocidas en otros patosistemas.

Esto indica que las cepas que producen reacción positiva (fig.21), podrían tener un carácter patógeno en determinadas condiciones ambientales o de estrés para la planta. En la mayoría de grupos ha habido algún aislado que ha producido una reacción de hipersensibilidad en el tabaco: 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, y 15 (tabla 16). En la mayoría de los géneros presentes se incluyen especies que pueden ser potencialmente patógenas de la platanera, pero tampoco pueden descartarse los grupos que han dado reacción negativa: 4,5 y 14, porque podrían producir enzimas o toxinas u otros mecanismos que no desencadenan respuesta hipersensible.

Fig.21. Reacción positiva de hipersensibilidad en hoja de tabaco por la inoculación de una cepa perteneciente al género *Xanthomonas*.



Tabla.16. Grupos metabólicos correspondientes a especies y géneros bacterianos (manual de Bergey's) en combinación con las pruebas de HR.

Grupos	Género	cepas ¹	Gram ²	OXID ³	FLU ⁴	HL ⁵	Vel. ⁶	APN ⁷	U ⁸	I ⁹	E ¹⁰	ALM ¹¹	GEL ¹²	ARG ¹³	HR ¹⁴	Color ¹⁵
1	<i>Serratia marcescens</i>	13	-	-	-	3	R	+	-/+	-	+	-	+	-	9+/3-	B,C,R
2	<i>Serratia ficaria</i>	4	-	-	-	3	R	-	-	+	-	-	+	-	1+/1-	A,N
3	<i>Pantoea</i> spp.2	4	-	-	-	3	R	+	-	-	+	-	+	-	3+	A,N
3	<i>Pantoea</i> spp.3	4	-	-	-	3	R	+	-	-	+	-	+	-	3+	N
4	<i>Pantoea</i> spp.2, 4	4	-	-	-	3	R	-	-	+	-	-	+	-	nr	A
5	<i>Enterobacter gergoriae</i>	2	-	-	-	3	R	+	-	-	+	+	+	-	1-	B
5	<i>Enterobacter clocae</i>	1	-	-	-	3	R	+	-	-	+	+	+	-	-	C
5	<i>Enterobacter</i> sp.	1	-	-	-	3	R	+	+	-	-	-	+	-	-	C
5	<i>Enterobacter</i> sp.	1	-	-	-	3	R	+	+	-	-	+	+	-	-	C
5	<i>Enterobacter</i> sp.	1	-	-	-	3	R	+	+	-	+	-	+	-	-	B
5	<i>Enterobacter</i> sp.	1	-	-	-	3	R	+	+	-	+	+	+	-	-	B
6	<i>Erwinia herbicola</i> group	4	-	-	-	3	R	-	-	-	+	-	+	-	2+/2-	A
7	<i>Klebsiella</i> sp.	3	-	-	-	3	R	+	+	-	+	+	-	-	+	C
7	<i>Klebsiella</i> sp.	3	-	-	-	3	R	+	-	-	+	+	-	-	+	B
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	4	-	+	-	1	R	+	-	-	+	-	+	-	1+/1-	A
8	<i>Xanthomonas</i> sp.	10	-	+/-	-	4	L	+	-	-	+	+/-	-	-	4+/3-	B
9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	-	+	+	1	R	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	-	+	B
9	<i>Pseudomonas</i> sp.	6	-	+	-	1/4	R/L	-	-	-	-	+/-	-	-	2+/2-	B
9	<i>Comomona/Pseudomonas</i>	6	-	+/-	-	1/4	R/L	+	+	-	+	+/-	-	+/-	2+/2-	C,B
10	<i>Flavobacterium breve</i>	1	-	+	-	3	L	-	-	+	+	+/-	+	+/-	+	A
10	<i>Flavobacterium breve</i>	1	-	+	-	4	L	+	-	-	+	+/-	+	+/-	+	N
11	<i>Chryseomonas luteola</i>	4	-	+/-	-	1/4	L	+/-	-	+/-	+	+	+	-	+	B,A
12	<i>Chryseomonas</i> sp.	6	+	+	-	3/4	L	+/-	+/-	-	+/-	+	+/-	+/-	2+/3-	B,C
13	<i>Bacillus</i> sp.	6	+	-	-	1/4	L	+/-	+	-	+	+/-	+/-	+/-	3+	B,C
14	cocos agrupados cadenas	2	+	-	-	4	L/R	nr	+	-	+	nr	nr	nr	-	B
15	cocos agrupados cubos	1	+	+	-	3	R	-	+	-	-	+	+	-	+	A

Grupos: obtenidos a partir de la similitud en los perfiles metabólicos y fenotípicos estudiados. **HL:** se refiere a la utilización como fuente de carbono de la glucosa en condiciones aerobias y anaerobias (Anexo). 1: (-,-); 2 (+,-); 3 (-,+); 4 (+,+). **Velocidad** de crecimiento en LPGA a 25°C: **R** (rápida < 24 h) **L** (lenta >24h). **Color** de la colonia en LPGA a 25°C: **A:** amarillo; **B:** blanco; **C:** crema; **N:** naranja; **R:** rojo. **Fluo:** producción de pigmentos fluorescentes bajo luz UV en medio King B. **APN:** Reducción de nitratos; **U:** ureasa; **I:** Indol; **E:** esculina; **Gel:** gelatina; **Alm:** almidón; **Arg:** arginina. (Todas estas pruebas se describen en el Anexo).

Algunas especies citadas de los géneros encontrados han sido descritas como patógenos o endófitos de la platanera. Thwaites *et al.* (1999) realizaron una excelente revisión de las principales bacteriosis en la platanera y géneros afines.

2.1.2. Ensayo comparativo del crecimiento de una cepa bacteriana durante 24 h y 48 h mediante HPGC.

En general no existen diferencias entre los diferentes cuadrantes al cabo de 24 h de crecimiento a 28°C cualitativamente y se mantienen las proporciones de los picos unos respecto a otros, pero existen diferencias respecto a la cantidad de biomasa disponible para la realización del ensayo. Los cuadrantes que dan una buena señal en el cromatógrafo son los cuadrantes nº1 (fig.22), nº 2 y nº 3. El cuadrante 4º no contiene suficiente biomasa para la detección de unos buenos picos. El cuadrante 5º, contiene excesiva biomasa y aparecen muchas impurezas en la línea de base, posiblemente debidas a la gran concentración de pigmentos bacterianos.

En el ensayo a las 48 h, ocurre lo mismo que a las 24 h (fig 23). Los picos resultantes se mantienen proporcionales entre ellos, independientemente de qué cuadrante se trate. Pero existen problemas de sensibilidad en el cuadrante 4º como ocurría a las 24 h de crecimiento.

Existen diferencias en todos los casos respecto a la proporción del pico correspondiente a ácidos grasos de 18 carbonos. En todos los cuadrantes, a las 24 h, este pico es siempre mayor que el pico correspondiente a 17 átomos de carbono, y por el contrario a las 48 h lo encontramos siempre inferior. Esta diferencia podría dar lugar a errores en la identificación de las bacterias de acuerdo con sus perfiles de ácidos grasos.

Por lo tanto, en aquellos cultivos de los que no se disponga de suficiente biomasa a las 24 h. en el tercer cuadrante para realizar el protocolo (fig. 24), se tendrá que adoptar la estrategia de sembrar varias placas para solucionar el problema de la biomasa a las 24 h. Otra opción sería hacer las siembras de cada cepa en placa con medio TSBA, pero en estría de forma confluyente, con lo que se garantiza suficiente biomasa en una sola placa. La alternativa de dejar crecer más tiempo las colonias sería la menos aconsejable, pues ya se ha visto que existen diferencias en el perfil de ácidos grasos resultante.

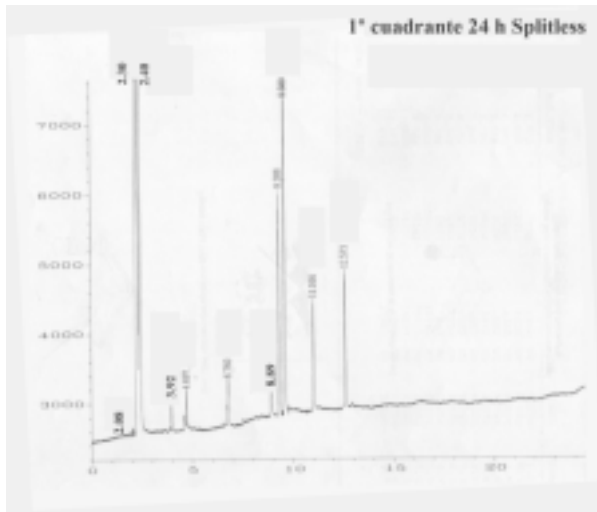


Fig. 22. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del primer cuadrante a las 24 h de crecimiento

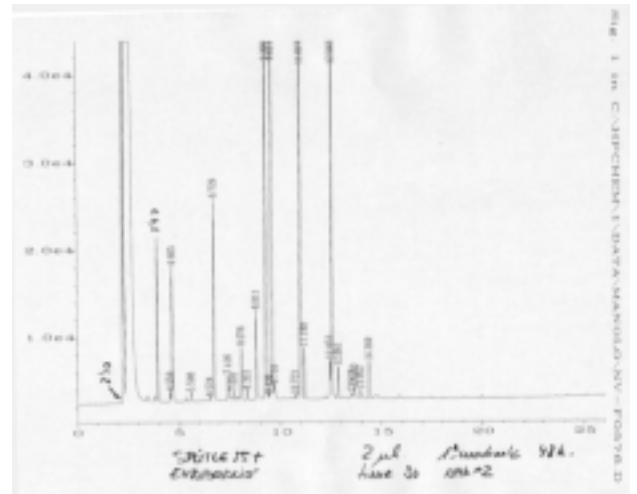


Fig. 23. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del primer cuadrante a las 48 h de crecimiento

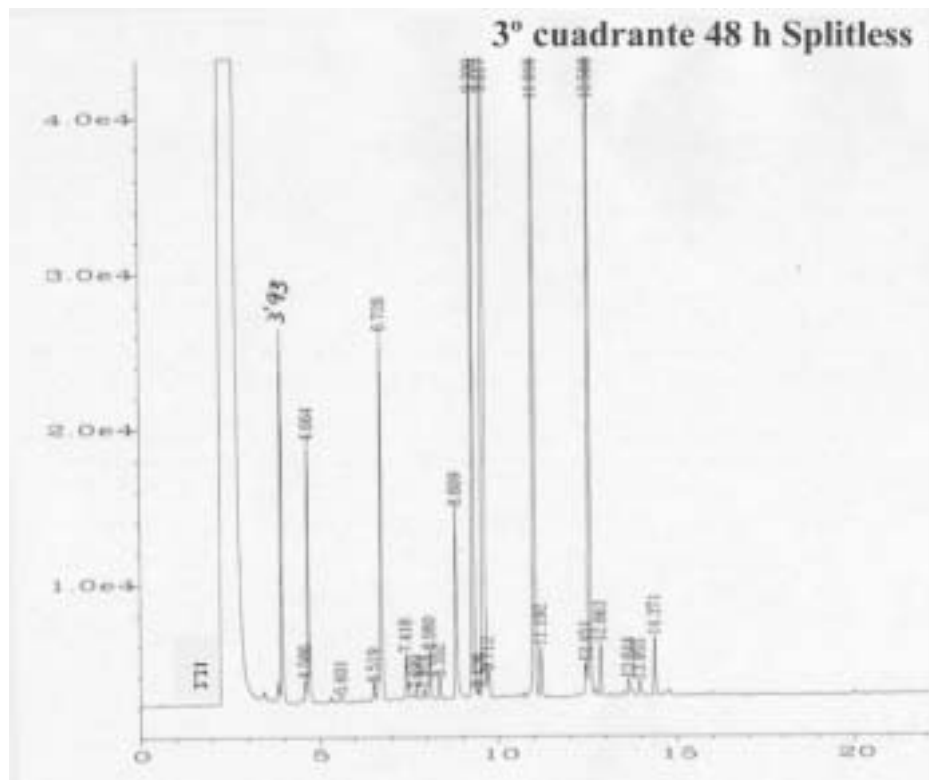


Fig. 24. Cromatograma de las áreas de los picos correspondientes a los diferentes ácidos grasos. Cepas del tercer cuadrante a las 48 h de crecimiento

2.1.3. Caracterización por ácidos grasos de membrana y API 20E, API 20NE

De los grupos anteriormente descritos se eligieron representantes para su clasificación específica, antes de la selección final para las inoculaciones en plataneras sanas. Los métodos empleados se eligieron por su gran fiabilidad dado que son protocolos estandarizados y existen bases de datos donde poder introducir los resultados y obtener una clasificación más precisa.

Los resultados de los API 20 E, utilizados para las bacterias Gram negativo oxidasa negativo (enterobacterias) y los API 20 NE para las Gram negativo, oxidasa positiva (no enterobacterias), se muestran en la siguiente tabla 17, junto con los resultados de los perfiles de ácidos grasos. Las clasificaciones propuestas por el sistema MIS a partir de los perfiles de ácidos grasos cuyo $ns < 0.5$ no son fiables. En algunos casos se realizó un API 20 E/NE, para descartar o confirmar la clasificación propuesta por el sistema MIS (tabla 18). Las cepas en las que no se había realizado el perfil de ácidos grasos y que quedaban incluidas en los grupos construidos a partir de los perfiles metabólicos, se confirmaron con la realización de API 20 E/NE, dependiendo de si eran enterobacterias o no respectivamente.

Tabla.17. Caracterización por ácidos grasos de membrana, API 20E y API 20NE de las cepas seleccionadas, representantes de los grupos obtenidos a partir de las cacterizaciones fenotipicas y de las pruebas metabólicas.

Aislados bacterianos procedentes de muestras de campo					
GRUPOS	sp.Ac.grasos	ns	API	ORIGEN	HR
1	<i>Serratia marcescens</i>	0,69	<i>Serratia marcescens</i>	Sur Tnfe	
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,24		Sur Tnfe	+
1	<i>Enterobacter cancerogenus (Erwinia cancerogena)</i>	0,74		Sur Tnfe	+
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,15	<i>Serratia marcescens</i>	Sur Tnfe	+
1	<i>Serratia marcescens</i>	0,87	<i>Serratia spp</i>	Sur Tnfe	+
1	<i>Serratia marcescens</i>	0,23		Norte Tnfe	+
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,18		Sur Tnfe	+
1	<i>Enterobacter taylorae</i>	0,79		La Palma	+
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,24		Norte Tnfe	+
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,50		Norte Tnfe	-
1	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,16		Norte Tnfe	+
1	<i>Serratia marcescens</i>	0,87		Sur Tnfe	-
2			<i>Serratia ficaria</i>	Sur Tnfe	-
2			<i>Serratia ficaria</i>	Norte Tnfe	+
2			<i>Serratia ficaria</i>	Sur Tnfe	
2	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,24	<i>Serratia ficaria</i>	Norte Tnfe	
3	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,49	<i>Pantoea spp.3 / Stenotrophomonas maltophilia</i>	Norte Tnfe	+
3			<i>Pantoea spp.2</i>	La Palma	
3	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,49	<i>Pantoea spp.3</i>	Norte Tnfe	+
3	<i>Serratia marcescens</i>	0,48		Sur Tnfe	+
4			<i>Pantoea spp2 , 4</i>	Gran Canaria	
5			<i>Enterobacter gergoriae</i>	Norte Tnfe	-
5	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	0,61	<i>Enterobacter clocae</i>	Norte Tnfe	-
5			<i>Enterobacter spp</i>	Sur Tnfe	-
5			<i>Enterobacter clocae</i>	La Palma	-
5	<i>Escherichia coli</i>	0,45		Sur Tnfe	-
5			<i>Enterobacter clocae</i>	La Palma	-
6	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,74	<i>Erwinia herbicola group</i>	La Palma	+
6	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,49		Sur Tnfe	
7	<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	0,22		La Palma	+
7	<i>Bacillus coagulans</i>	0,72		Norte Tnfe	+
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,42	<i>Klebsiella spp</i>	La Palma	+
8			<i>X.maltophilia</i>	Norte Tnfe	
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,20		Norte Tnfe	-
8	<i>Pseudomonas putida</i>	0,41		Sur Tnfe	+
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,74		El Hierro	
8	<i>Serratia marcescens</i>	0,87	<i>X.maltophilia/Pseudomonas sp.</i>	Sur Tnfe	
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,36	<i>X.maltophilia</i>	Gran Canaria	+
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,57	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	Norte Tnfe	
8	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,38		Gran Canaria	+
9	<i>Actinobacillus lignieresii</i>	0,79		Sur Tnfe	-
9	<i>Pseudomonas putida</i>	0,41	<i>Comomona testosteroni/Ps.alcaligenes</i>	Sur Tnfe	+
9	<i>Pseudomonas putida</i>	0,41		Sur Tnfe	
9	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,05		Sur Tnfe	-
9			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Norte Tnfe	+
9	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,05		Sur Tnfe	+
9	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0,62	<i>Ps.vesicularis/Ps paucimovilis</i>	Sur Tnfe	
10	<i>Serratia marcescens</i>	0,35	<i>Flavobacterium breve</i>	Sur Tnfe	+
11	<i>Enterobacter taylorae</i>	0,79	?	La Palma	+
11	<i>Enterobacter taylorae</i>	0,79		La Palma	
11			<i>Chryseomonas luteola</i>	La Palma	+
12	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,74		El Hierro	+
12	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0,31		Norte Tnfe	-
13	<i>Bacillus maceranas</i>	0,18		La Palma	+
13	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	0,68		Norte Tnfe	+
14				Sur Tnfe	-
15	<i>Enterobacter taylorae</i>	0,46		La Palma	+

ns: nivel de similitud de los perfiles de los ácidos grasos de nuestras cepas con las cepas de referencia introducidas en la base de datos del programa MIS.

Los métodos empleados coincidían en la mayoría de casos en el género al cual se llegaba, pero a nivel de especie diferían en muchos casos. Los API no están diseñados para la identificación de bacterias fitopatógenas, y la base de datos no las incluye. De todos modos, es una prueba muy útil pues se obtienen los resultados en muchos medios de cultivo a la vez en 24 h, y pueden ser utilizados para diferenciar cepas de una misma especie cuando se conocen sus perfiles metabólicos. En nuestro caso se observó una gran variabilidad dentro de los grupos que contenían varias cepas morfológicamente iguales.

La combinación de los perfiles de ácidos grasos y los resultados en los API 20 E y los API 20 NE, hizo posible llegar a la clasificación de nuestra colección (tabla. 17).

2.2. Identificación y caracterización cultural de los aislados fúngicos

Se han identificado 30 géneros diferentes en el total de 567 submuestras procesadas (rizoma, pseudotallo y raíz) procedentes de 172 plantas y 59 plantaciones. El género *Fusarium* estuvo presente en 427 muestras, el 75.31 % del total (tabla 18). Las especies más abundantes (fig. 25) fueron *Fusarium oxysporum* (42%), *F. proliferatum* (9.17%) y *F. subglutinans*. (16.23%). Reinking (1926) citado por Lahav *et al.*(1999), encontró *Fusarium spp.* y *F. oxysporum* en sus trabajos sobre el *Yellow Mat*. En estudios de poblaciones de endófitos, Pocasangre *et al.* (2000) obtuvieron aislamientos similares de platanera sana.

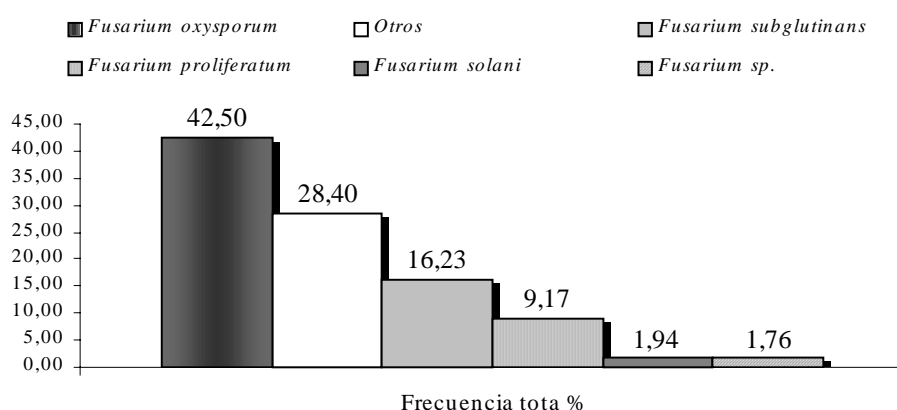


Fig.25. Frecuencia de aislamiento (aislados al menos una vez por submuestra) de las especies fúngicas asociadas a muestras de material vegetal con síntomas de FMP, calculada a partir de (número de aislamientos de la especie / número total de submuestras procesadas) x 100.

El número y la abundancia relativa de cada especie varían en función del tipo de muestra: raíz, pseudotallo y rizoma, tal y como se muestra en la tabla 18, 19 y fig 26. *F. oxysporum* es la especie más abundante en la zona del pseudotallo aunque le sigue muy de cerca las especies *F. proliferatum* y *F. subglutinans*.

Tabla.18. Número y frecuencia relativa de aislamiento de las diferentes especies fungicas asociadas, en función del órgano estudiado.

Hongo	muestra			Total	frec.pseudo	frec.raíz	frec. Rizoma
	pseudotallo	raíz	rizoma				
indeterminado	1	7	5	13	0,99	7,45	1,34
<i>Acremonium sp./Cephalosporium sp.</i>	7	2	16	25	6,93	2,13	4,30
<i>Alternaria sp.</i>		1	2	3	0,00	1,06	0,54
<i>Aspergillus sp.</i>	1		6	7	0,99	0,00	1,61
<i>Botrytis sp.</i>		1	2	3	0,00	1,06	0,54
<i>Cladosporium sp.</i>	1		6	7	0,99	0,00	1,61
<i>Colletotrichum sp.</i>		2		2	0,00	2,13	0,00
<i>Cylindrocarpon sp.</i>			1	2	0,00	0,00	0,27
<i>Chaetomium sp.</i>		1	4	5	0,00	1,06	1,08
<i>Fusarium oxysporum</i>	24	31	136	191	23,76	32,98	36,56
<i>Fusarium oxysporum fsp cubense</i>	22	9	34	65	21,78	9,57	9,14
<i>Fusarium proliferatum</i>	21	1	30	52	20,79	1,06	8,06
<i>Fusarium solani</i>	1	2	8	11	0,99	2,13	2,15
<i>Fusarium sp.</i>	1	4	8	13	0,99	4,26	2,15
<i>Fusarium subglutinans</i>	14	16	65	95	13,86	17,02	17,47
<i>Gliocladium sp.</i>	1		2	3	0,99	0,00	0,54
<i>Haploglyphium sp.</i>			1	1	0,00	0,00	0,27
<i>Illosporium sp.</i>	1		2	3	0,99	0,00	0,54
<i>Macrophomina sp.</i>		2		2	0,00	2,13	0,00
<i>Mucor sp.</i>			1	1	0,00	0,00	0,27
<i>Nigrospora sp.</i>			1	1	0,00	0,00	0,27
<i>Penicillium sp.</i>	3	1	25	29	2,97	1,06	6,72
<i>Phoma sp. cf.</i>		2		2	0,00	2,13	0,00
<i>Rhizoctonia sp.</i>		2	3	5	0,00	2,13	0,81
<i>Sclerotium sp.</i>		1	1	2	0,00	1,06	0,27
<i>Stemphylium sp.</i>			2	2	0,00	0,00	0,54
<i>Thielaviopsis paradoxa</i>		5		5	0,00	5,32	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	2	3	10	15	1,98	3,19	2,69
<i>Verticillium theobromae</i>		1	1	2	0,00	1,06	0,27
Total general	101	94	372	567	100,00	100,00	100,00

Las 567 submuestras pertenecen a 172 plantas

Resulta especialmente interesante la elevada frecuencia en pseudotallo correspondiente a la especie *F. proliferatum*, dado que no es un hongo habitual en este órgano. En platanera sólo se ha descrito para enfermedades del fruto (tablas 18, 19 y fig 26).

F. proliferatum ha sido descrito como patógeno de diferentes especies vegetales: por Wu y Huang (1997) en *Lillium*, por Elena y Kranias (1996) en espárrago, por Abdalla *et al.* (2000)

en raíces de palmera datilera, por Chao *et al.* (1998) en álamo y por Conner *et al.* (1996) en trigo. En platanera sólo ha sido citado por Jimenez *et al.* (1993), Lopez Cabrera (1998), y Ranasinghe (2002) asociado a antracnosis y al “crown rot” de frutos. Jimenez *et al.* (1997) aislaron *F. proliferatum* de frutos plataneras y comprobaron la capacidad de algunos de los aislados de producir de micotoxinas, pero hasta el momento no se ha descrito asociado a ninguna sintomatología similar al FMP en platanera.

En Sudáfrica, Blodgett *et al.* (1998) encontraron, las especies *Fusarium sambucinum*, *F. oxysporum*, y *F. subglutinans* asociadas a la marchitez de híbridos de *Amaranthus*. *F. subglutinans* ha sido citado como productor de micotoxinas tales como beauvericin (BEA) y moniliformina, que en ocasiones son fitotóxicas como han citado Logrieco *et al.* (1993) en maíz peruano o se acumulan en los granos de maíz híbridos (Kostecki, 1994). También ha sido citado como patógeno vascular en piña (Martelleto *et al.*, 1998) o produciendo canchales en pino (Viljoen *et al.*, 1995). En platanera no se ha descrito como causante de ninguna patología.

A continuación se presentan los resultados de las especies pertenecientes al género *Fusarium* en función del órgano de donde han sido aisladas (tabla 19).

Tabla.19. Número y frecuencia relativa de los aislados pertenecientes al género *Fusarium* asociadas a plantas con síntomas de FMP, en función del órgano estudiado.

Hongo	muestra			Total	frecTotal	frec.pseud
	pseudotallo	raíz	rizoma			
<i>Fusarium oxysporum</i>	24	31	136	191	44,73	28,92
<i>Fusarium oxysporum f sp cubense</i>	22	9	34	65	15,22	26,51
<i>Fusarium proliferatum</i>	21	1	30	52	12,18	25,30
<i>Fusarium moniliforme</i>	2		1	3	0,70	2,41
<i>Fusarium solani</i>	1	2	8	11	2,58	1,20
<i>Fusarium sp.</i>		4	6	10	2,34	0,00
<i>Fusarium subglutinans</i>	14	16	65	95	22,25	16,87
<i>Fusarium tabacinum</i>	1		2	3	0,70	1,20
<i>Fusarium total</i>	85	63	281	427	100,00	102,41

427 submuestras basadas en 129 plantas.

Las 22 submuestras de pseudotallo correspondientes a 12 plantas, de donde se aisló FOC que aparecen en la tabla 19, fueron muestras dudosas en su sintomatología, aunque luego fueron confirmadas como mal de panamá mediante la siembra de los aislados en medio Komada. Con cuatro de ellos se realizaron posteriormente pruebas de inoculación en plantas sanas, produciendo los síntomas clásicos. También fue determinado el VCG, confirmando su

pertenencia al grupo VCG 0120. *F. moniliforme* ha sido descrito como endófito capaz de disminuir la capacidad fotosintética de la planta por Pinto *et al.* (2000) en la platanera.

A continuación se representan las especies más abundantes del género *Fusarium* en función del órgano del que fueron aisladas (fig. 26).

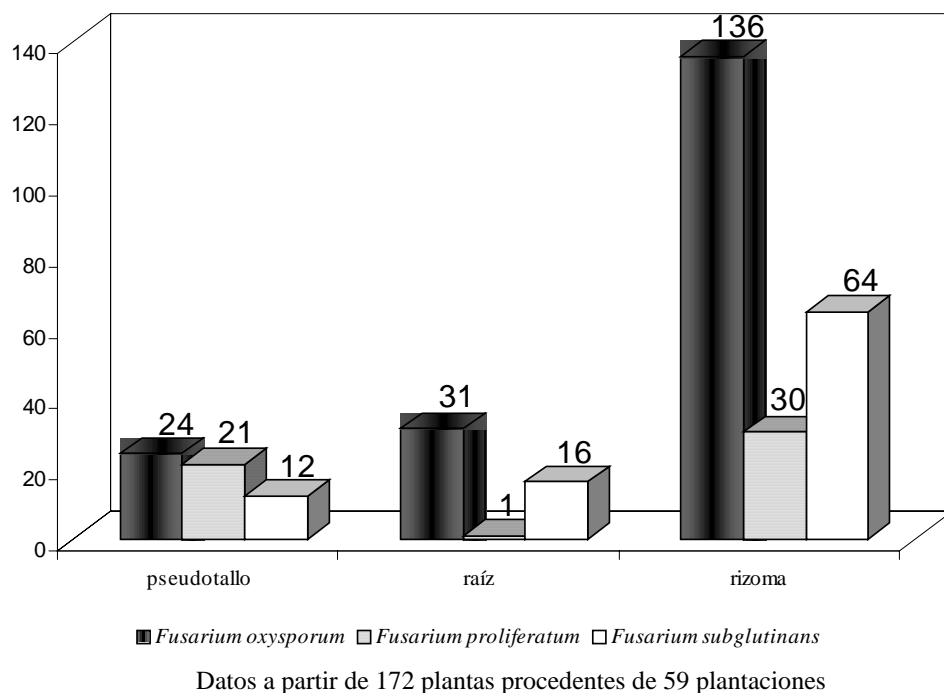


Fig.26. Frecuencia de aislamiento respecto al órgano del que proceden, de las especies más abundantes pertenecientes al género *Fusarium*.

La caracterización cultural de las diferentes especies aisladas pertenecientes al género *Fusarium* en su gran mayoría, se realizó a partir de cultivos monospóricos en MM, PDA y K, se puso de manifiesto la gran variabilidad cultural existente incluso en una misma línea monospórica (Nelson, 1983). Fue necesario trabajar en condiciones estandarizadas para obtener una clasificación fiable.

2.2.1. Caracterización por grupos de Compatibilidad Vegetativa (VCGs) de los aislados pertenecientes al género *Fusarium*

De 172 plantas, 29 con síntomas de MP, se sembraron 83 submuestras y se aisló FOC de todas ellas. Las procesadas como FMP o dudosas *a priori*, fueron 143 plantas de las que se sembraron 429 submuestras. Se obtuvieron 256 aislamientos que fueron clasificados como *Fusarium oxysporum*, de las cuales 65 dieron reacción positiva en medio Komada (K), por lo tanto el error de diagnóstico fue del 25,39 %, cifra que pone de manifiesto la dificultad de diagnóstico diferencial entre el MP y el FMP. Los aislados de *F. oxysporum* con reacción negativa en medio Komada. En la tabla 20 se presentan los resultados de las caracterizaciones por VCGs de los aislados *F. oxysporum*.

Tabla.20. Compatibilidad con el VCG 0120 de la selección de aislados pertenecientes a la especie *F.oxysporum* y frecuencia de obtención de los mutantes *nit 1*; *nit 3*; *nit M* y *crn*.

código	frec nit1	frec nit3	frec nit M	frec crn	VCG0120
32	4/10	1/10	0	5/10	+
33j	8/10	0	0	2/10	+
32j	4/10	0	1/10	5/10	+
37	2/10	0	1/10	7/10	+
14,3,2,1					
R2B	8/12	0	1/12	3/12	-
R1GB	8/12	1/12	0	3/12	-
34J	5/10	1/10	1/10	3/10	-
T P-2 ve	6/10	0	0	4/10	-
11,3,2,1	5/10	0	1/10	4/10	-
11,1,1,5	7/10	0	0	3/10	-
29	5/10	3/10	0	3/10	+
27	5/10	2/10	0	3/10	+
Duran	3/10	0	1/10	6/10	+
14	6/10	1/10	0	3/10	+
R1PMA	8/10	1/10	0	1/10	-
12	7/10	0	0	3/10	-
16	6/10	0	0	4/10	+
i	3/10	1/10	0	6/10	-
10	7/10	2/10	0	1/10	+
e					
E2B					

Los aislados de *F. oxysporum* asociados a plantas con síntomas de FMP, son Komada negativo, no pertenecientes al grupo de compatibilidad vegetativa 0120. Como hemos visto anteriormente, los aislamientos Komada positivo provienen en su mayoría de plantas con

síntomas clásicos de MP y de un 25,39 % de plantas dudosas. La frecuencia de los diferentes tipos de mutantes obtenidos se corresponde con lo descrito en la literatura. Los *nit* 1 han sido los más abundantes, seguidos de los *nit*3 y *nit* M (tabla 20). La compatibilidad vegetativa entre los aislados K positivo y el VCG de referencia 0120, ha sido en todos los casos positiva. Algunos de los *F. oxysporum* que habían sido K negativo, también mostraron compatibilidad vegetativa con el VCG de referencia 0120, lo que quiere decir que estos aislados también son *F. oxysporum f. sp. cubense* y que el medio Komada es una herramienta preliminar de caracterización pero no es definitiva (fig.29). Todos los aislados que son K positivo son *F. oxysporum f. sp. cubense* (Ploetz y Correll, 1988; Regalado-Guijarro y Hernandez 1998), pero no puede descartarse que lo sean también los que son K negativo. La respuesta K positivo puede verse modificada por muchos factores externos, debido a que el crecimiento diferencial es una característica fenotípica, que esta influenciada por el ambiente. En cambio los VCG como herramienta de caracterización de los patógenos, es la más eficaz (Puhalla, 1985), existen diferencias de intensidad de respuesta, pero no de error (fig.27, 28).



Fig. 27. Compatibilidad vegetativa entre un aislado *F. oxysporum f. sp. cubense nit 1* y *nit M* VCG 0120 de referencia



Fig. 28. Comapatibilidad vegetativa débil entre un aislado *F. oxysporum f. sp. cubense nit 1* y *nit M*

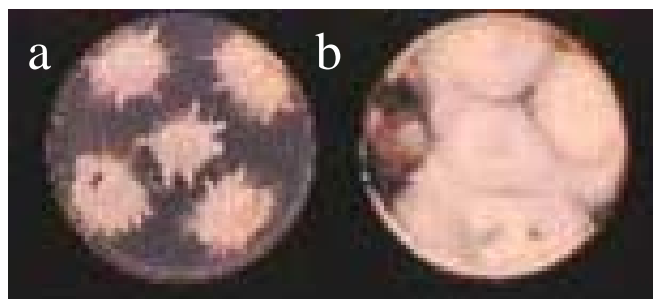


Fig. 29 a)FOC reacción Komada positiva colonias laciniadas. b) FO reacción Komada negativo

2.2.2. Caracterización por velocidad de crecimiento en placa en los medios de cultivo PDA y Komada, a 15°C y 25°C de los aislados pertenecientes al género *Fusarium*.

Los resultados se presentan en la tabla 21.

Tabla.21. Velocidad de crecimiento (mm/h) de las especies más frecuentes asociadas a plantas con síntomas de FMP pertenecientes al género *Fusarium*, realizada con 5 repeticiones en los medio de cultivos PDA y Komada.

especie	PDA25°	K25°	PDA15°C	K15°C
<i>F. oxysporum</i>	0,20	0,11	0,14	0,05
<i>F. oxysporum</i>	0,23	0,08	0,05	0,04
<i>F. oxysporum</i>	0,26	0,20	0,11	0,06
<i>F. oxysporum</i>	0,28	0,09	0,14	0,08
<i>F. oxysporum</i>	0,29	0,09	0,08	0,04
<i>F. oxysporum</i>	0,30	0,13	0,13	0,06
<i>F. oxysporum</i>	0,30	0,10	0,05	0,04
<i>F. oxysporum</i>	0,30	0,14	0,15	0,05
<i>F. oxysporum</i>	0,31	0,07	0,14	0,03
<i>F. oxysporum</i>	0,31	0,08	0,09	0,03
<i>F. oxysporum</i>	0,32	0,13	0,18	0,06
<i>F. oxysporum</i>	0,32	0,13	0,19	0,05
<i>F. oxysporum</i>	0,32	0,13	0,18	0,06
<i>F. oxysporum</i>	0,33	0,05	0,23	0,11
<i>F. oxysporum</i>	0,33	0,09	0,12	0,03
<i>F. oxysporum</i>	0,35	0,08	0,06	0,03
<i>F. oxysporum</i>	0,36	0,09	0,14	0,04
<i>F. oxysporum</i>	0,49	0,16	0,17	0,09
<i>FOC</i>	0,39	0,11	0,16	0,02
<i>F. proliferatum</i>	0,20	0,08	0,12	0,06
<i>F. proliferatum</i>	0,26	0,09	0,09	0,02
<i>F. proliferatum</i>	0,30	0,11	0,22	0,06
<i>F. proliferatum</i>	0,33	0,14	0,13	0,07
<i>F. proliferatum</i>	0,37	0,22	0,11	0,04
<i>F. subglutinans</i>	0,17	0,11	0,21	0,07
<i>F. subglutinans</i>	0,22	0,12	0,06	0,03
<i>F. subglutinans</i>	0,25	0,10	0,22	0,10
<i>F. subglutinans</i>	0,27	0,13	0,06	0,02
<i>F. subglutinans</i>	0,30	0,09	0,06	0,03
<i>F. subglutinans</i>	0,32	0,15	0,18	0,05
<i>F. subglutinans</i>	0,32	0,21	0,28	0,11
<i>F. subglutinans</i>	0,36	0,09	0,27	0,06
<i>F. moniliforme</i>	0,52	0,15	0,08	0,04

Los valores de la velocidad de crecimiento (mm/h) corresponden a la pendiente de la recta de regresión. El coeficiente r en todos los caso es de un valor >0,95.

El crecimiento en placa en los dos medios ensayados, PDA y Komada, de todos los hongos se ha ajustado a la ecuación lineal $y=ax+b$, con una r de regresión lineal comprendida entre 0,95 y 0,99, en las dos temperaturas probadas. Los resultados para *F.subglutinans*, *F. proliferatum*; *F. oxysporum* se corresponden con lo descrito en la bibliografía (Nelson, 1983). El crecimiento en PDA y a 25°C ha sido el más rápido para todas las especies. Se observa que la especie *F. moniliforme* es la que presenta una velocidad de crecimiento en placa con medio PDA a 25° mayor (tabla 21). En PDA a 15°C, la velocidad mayor la presentan aislados de *F.proliferatum* (0,22 mm/h) y *F. subglutinans* (0,28 mm/h).

3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

3.1. Pruebas de patogenicidad de bacterias

Se han realizado pruebas de patogenicidad, inoculando plantas de platanera con representantes de cada grupo, pero no se ha podido reproducir ningún síntoma similar a los del FMP, ni ninguno de las bacteriosis descritas para platanera. En la tabla 22, se muestran los resultados obtenidos en las inoculaciones de las plataneras sanas con cepas seleccionadas.

Tabla.22. Severidad de síntomas en rizoma y avance de las necrosis en pseudotallo de plataneras del cultivar. ‘Gran Enana’ inoculadas con aislados bacterianos asociados al FMP.

N° de plantas con síntomas sobre 3 repeticiones		Rizoma		vasos						
		Valores de severidad								
Especies bacterianas inoculadas	Severidad=0	1	2	3	4	1	2	3	4	5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Bacillus coagulans</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Control	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseomonas luteola</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>E. agglomerans (Erwinia herbicola group)</i>	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Sigue en página siguiente</i>										

N° de plantas con síntomas sobre 3 repeticiones	Severidad=0	Rizoma				vasos				
		1	2	3	4	1	2	3	4	5
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter gergoriae</i>	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter taylora</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter taylora</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Erwinia spp</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Erwinia spp</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Klebsiella spp</i>	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea spp.2</i>	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia ficaria</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcencens</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Serratia marcencens</i>	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcencens</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Serratia marcencens</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>X.malthophilia</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>X.malthophilia</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Xanthomonas malthophilia</i>	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Xanthomonas spp.</i>	11	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Xanthomonas spp.</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0

Se representa el número de plantas con índices de severidad de síntomas en rizoma (0-4) y cm de avance en vasos. N° de plantas que a los 90 días de la inoculación manifestaban síntomas en rizoma de intensidad

medida de 0-4 donde 1 es $\frac{1}{4}$ del rizoma, y 4 es el rizoma total necrosado en una circunferencia imaginaria total dividida en cuatro trozos. En los vasos la escala 1-4 son cm de avance de la bacteria a través del pseudotallo

En las inoculaciones se observaron síntomas ligeros en el rizoma con cepas de distintos grupos y sólo con los grupos 1, 3, 8, y 9 en los vasos. En la tabla 23, se muestra el número de plantas que a los 30, 60, 70 y 90 días de la inoculación manifestaron diferente grado de severidad de los síntomas evaluados.

Tabla.23. N° de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ que a los 30, 60, 70 y 90 días de la inoculación con aislados bacterianos asociados al FMP, manifestaban síntomas en rizoma y/o en los vasos.

N°plantas final(días)	rizoma				vasos					
	0	1	2	3	4	1	2	2	4	5
30	6	15	2	6	1	3	6	5	2	4
60	14	5	0	0	0	0	0	0	2	1
70	19	3	0	0	0	0	0	0	0	0
90	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0
total	39	51	2	6	1	3	6	5	4	5

Evaluación de síntomas en rizoma de severidad medida de 0-4 donde 1 es $\frac{1}{4}$ del rizoma, y 4 es el rizoma total necrosado en una circunferencia imaginaria total dividida en cuatro trozos. En los vasos la escala 1-4 son cm de avance de la bacteria a través del pseudotallo.

De especial interés resultan las cepas que han conseguido avanzar a través del pseudotallo o que han conseguido necrosar tejido en el rizoma (tabla 22 y fig. 30). Estas cepas pertenecen en su mayoría a los géneros *Serratia*, *Xanthomonas*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, algunos de ellos con especies patógenas de la platanera o que están descritos en la literatura en asociación con platanera, aunque ninguno de ellos ha conseguido reproducir los síntomas típicos de esas bacteriosis en los asociados al FMP, en las condiciones experimentales ensayadas en las que las plantas no fueron sometidas a ningún tipo de estrés abiótico. Los géneros *Pseudomonas* y *Erwinia* han sido descritos por Vovlas *et al.* (1994) asociados a las heridas causadas por nemátodos en raíces de platanera.

En especial el género *Erwinia* alberga especies patógenas para la platanera tales como *Erwinia carotovora* que produce una podredumbre blanda y maloliente, descrita por diversos autores como Pereira y Nunes (1988), Cedeno-M *et al.* (1990), Lakshmanan y Mohan (1992), y Guzmán (1996), *E. chrysanthemi* fue citada por Robinson y Manicom (1991) como patógeno

del cultivar 'Cavendish' en Sudáfrica, sobre todo en los primeros estadios después del trasplante. Ninguno de los aislados pertenecientes a esos dos géneros ha producido la sintomatología típica en las condiciones ensayadas. El género *Xanthomonas* alberga especies patógenas para la platanera como *X. campestris* pv. *manihotis* (Hahn *et al.*, 1989) y el género *Ralstonia* alberga la especie más devastadora conocida en la platanera *Ralstonia solanacearum* (*P. solanacearum*) productoras de enfermedad bien conocidas como Moko, Bood disease, etc. (Akiew, 1992; Eden Green *et al.*, 1994) que también han sido descritos asociados a podredumbres blandas en la platanera. Otros géneros como *Serratia*, han sido aislados como microflora asociada a la platanera por González (1996). En los trabajos sobre 'Yellow Mat' realizados por Reinking (1926) y citado por Lahav *et al.* (1999) también fueron aislados algunos géneros bacterianos, cuyas pruebas de patogenicidad resultaron ser negativas llegando a la conclusión de que dichos géneros no parecen estar implicados en la producción de los síntomas asociados.



Fig.30. Detalle del avance a través de los vasos del pseudotallo de una cepa de *Xanthomonas campestris* inoculada.

3.2. Pruebas de patogenicidad *in vitro* de hongos

En ningún caso se produjeron los síntomas típicos de FMP ni de MP. Los síntomas evaluados fueron amarilleo, marchitez, colapso y muerte de las plántulas. En la tabla 24 se presentan los resultados obtenidos.

Tabla.24. Severidad expresada en porcentaje de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y de muertes de plántulas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas *in vitro* bajo condiciones de hipoxia radical y T^a 17°C/26°C

Especie	T (°C)	hipoxia	amarilleo	marchitez	necrosis	colapso	muerte
<i>F. oxysporum</i>	17	1	50,00	96,67	73,33	65,00	33,33
<i>F. oxysporum</i>	17	2	90,00	66,67	40,00	33,33	30,00
<i>F. oxysporum</i>	26	1	82,50	88,33	72,50	57,50	6,67
<i>F. oxysporum</i>	26	2	100,00	100,00	50,00	43,33	23,33
<i>F. proliferatum</i>	17	1	33,33	100,00	60,00	26,67	26,67
<i>F. proliferatum</i>	17	2	66,67	66,67	13,33	13,33	0,00
<i>F. proliferatum</i>	26	1	46,67	93,33	66,67	46,67	26,67
<i>F. proliferatum</i>	26	2	100,00	100,00	53,33	13,33	13,33
<i>F. solani</i>	17	1	0,00	100,00	100,00	80,00	0,00
<i>F. solani</i>	17	2	100,00	0,00	0,00	40,00	0,00
<i>F. solani</i>	26	1	20,00	60,00	40,00	0,00	0,00
<i>F. solani</i>	26	2	100,00	100,00	60,00	80,00	40,00
<i>F. subglutinans</i>	17	1	13,33	100,00	66,67	40,00	26,67
<i>F. subglutinans</i>	17	2	100,00	73,33	65,00	33,33	26,67
<i>F. subglutinans</i>	26	1	40,00	66,67	60,00	26,67	26,67
<i>F. subglutinans</i>	26	2	100,00	86,67	93,33	20,00	13,33
FOC	17	1	0,00	100,00	50,00	75,00	0,00
FOC	17	2	100,00	100,00	100,00	0,00	0,00
FOC	26	1	100,00	100,00	100,00	100,00	20,00
FOC	26	2	100,00	100,00	60,00	40,00	40,00
indeterminado	17	1	0,00	20,00	20,00	0,00	0,00
indeterminado	17	2	100,00	20,00	0,00	0,00	0,00
indeterminado	26	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
indeterminado	26	2	0,00	0,00	40,00	0,00	0,00
mezcla de spp.	17	1	0,00	20,00	20,00	80,00	0,00
mezcla de spp.	17	2	100,00	100,00	20,00	40,00	20,00
mezcla de spp.	26	1	100,00	100,00	60,00	20,00	0,00
mezcla de spp.	26	2	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	17	1	0,00	80,00	0,00	0,00	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	17	2	100,00	80,00	0,00	20,00	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	26	1	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Trichoderma sp.</i>	26	2	100,00	40,00	100,00	100,00	20,00
Control	17	1	20,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control	17	2	20,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control	26	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control	26	2	60,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Los valores están expresados en frecuencias de número de plantas con síntomas/5 repeticiones
Hipoxia (1= condiciones normales, 2=condiciones de hipoxia)

A continuación se presentan los resultados del ANOVA para los valores del peso fresco y seco de las plántulas.

Tabla.25. Resultados del ANOVA para las variables peso fresco y seco de plántulas de platanera cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas *in vitro* bajo condiciones de 26°C y con/sin hipoxia radical y 17°C y con/sin hipoxia radical.

	Peso fresco	Peso seco
especie	0,001**	0,001**
Temperatura	***	***
hipoxia radical	0,642ns	0,020**
especie*T ^a	0,004**	0,001**
especie*hipoxia	0,289ns	0,509ns
especie*T ^a *hipoxia	0,623ns	0,942ns

***: p 0.000; **: 0.000<p<0.050; ns: no significativo p>0.050

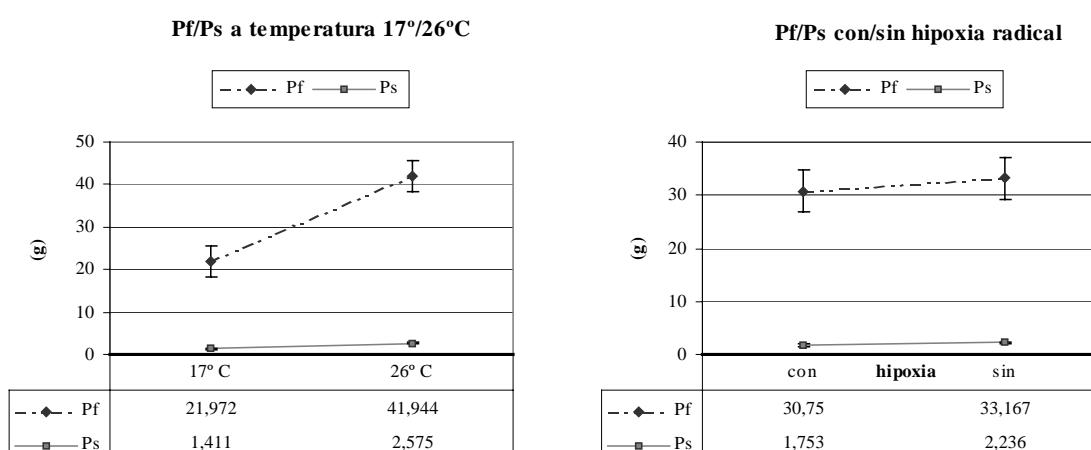
Los resultados del ANOVA presentados en la tabla 25 proceden del análisis de las frecuencias calculadas a partir de 20 repeticiones por inóculo, y 5 para cada factor. Existe interacción entre la temperatura y la inoculación de los hongos sobre el peso fresco y el peso seco de las plantas. A continuación se presentan los valores de los pesos frescos y secos de las plantas *in vitro* inoculadas con las diferentes especies fúngicas.

Tabla.26. Medias de los valores de los pesos frescos y pesos secos de las plantas de platanera *in vitro* cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con diferentes especies fúngicas.

	Peso fresco	Peso seco
Control	79,50 b	3,40 b
indeterminado	49,75 ab	3,27 ab
<i>F. subglutinans</i>	35,00 a	2,24 a
mezcla de spp.	32,75 a	2,17 a
<i>F. proliferatum</i>	30,75 a	1,64 a
FOC	30,00 a	1,95 a
<i>Trichoderma sp.</i>	29,75 a	2,50 a
<i>F. solani</i>	23,75 a	1,75 a
<i>F. oxysporum</i>	22,08 a	1,53 a

Los resultados muestran que existen diferencias significativas entre el control y las diferentes especies fúngicas inoculadas en plantas *in vitro* de platanera del cultivar ‘Gran Enana’.

En la siguiente fig 31, se representan los pesos frescos y secos de las plantas de platanera cultivar ‘Gran Enana’ *in vitro* bajo los efectos de temperatura a 17°/26° C y bajo con/sin hipoxia radical



Pf= peso fresco/ Ps= Peso seco de las plantas *in vitro*.

Fig.31. Peso fresco y peso seco de las plantas de platanera cultivar ‘Gran Enana’ *in vitro* bajo temperatura 17°/26° C y con/sin hipoxia radical.

Existen diferencias significativas entre los pesos frescos de las plantas cuando crecen a 17°C y a 26° C, pero no las hay para los pesos secos. No existen diferencias significativas entre los pesos frescos ni secos cuando las plantas se encuentran bajo el factor con/sin hipoxia radical (fig. 31).

A continuación se presentan los resultados de la severidad de síntomas externos (tabla 27), necrosis en rizoma, colapso y muerte de plántulas de platanera *in vitro* bajo condiciones de hipoxia radical y temperaturas de 17°C y 26°C.

Tabla.27. Severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y porcentaje de muerte de plataneras cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP en pruebas *in vitro* bajo condiciones de temperatura de 17/26°C y con/sin hipoxia radical

	amarillo	narchitamiento	necrosis	colapso	muerte
17°C	158,778	172,361	162,713	174,676	179,591
26°C	195,119	181,613	191,206	179,311	174,424
Mann-Whitney U	12369,000	14759,500	13061,500	15167,000	16032,000
p	0,000	0,257	0,002	0,609	0,462
sin hipoxia	135,134	181,157	186,340	186,126	176,749
con hipoxia	218,160	172,913	167,817	168,028	177,247
Mann-Whitney U	8248,500	16302,500	17209,500	17172,000	15531,000
p	0,000	0,313	0,049	0,046	0,943

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales). 90 repeticiones por tratamiento.

La expresión de los síntomas se ve favorecida a temperatura de 26°C (tabla 27), aunque se han producido más muertes a 17°C, posiblemente debido a que la temperatura de 26 °C favorece el desarrollo del inoculo y también el de la planta mientras que a 17°C se hace más lento el crecimiento de ambos. Estas observaciones se reflejan en la disminución de los pesos frescos y secos de las plantas a 17°C y como hemos visto anteriormente en el apartado de características culturales, la velocidad de crecimiento de estas especies a temperatura de 17°C disminuye respecto a la velocidad de crecimiento a 26°C.

La temperatura a 17°C y la hipoxia radical por separado, influyen significativamente sobre el amarilleo foliar y las necrosis en rizoma observadas en las plantas *in vitro*. La hipoxia radical también influye sobre el colapso foliar. Estos resultados concuerdan con lo citado para condiciones de campo donde la hipoxia puede producir amarilleo y colapso foliar [citas](#).

En la tabla 28 se presentan los resultados de las inoculaciones con cada una de las especies fúngicas seleccionadas.

Tabla.28. Efecto del factor especie fúngica sobre la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma y porcentaje de muerte de plántulas de platanera cv ‘Gran Enana’ en pruebas de inoculación *in vitro*.

	amarillo	marchitamiento	necrosis	colapso	muerte
Control	104,63	45,00	87,50	112,50	147,50
FOC	197,78	221,50	205,17	210,56	176,92
<i>F. oxysporum</i>	202,30	200,38	190,08	200,00	189,74
<i>F. proliferatum</i>	169,34	203,85	172,81	156,63	176,92
<i>F. solani</i>	157,58	159,73	175,75	200,75	165,15
<i>F. subglutinans</i>	171,19	188,59	213,14	166,35	189,38
<i>Mucor sp.</i>	106,95	63,58	115,37	112,50	147,50
<i>Trichoderma sp.</i>	192,88	133,25	131,63	165,45	156,33
Total	192,88	186,20	175,75	218,40	156,33
Kruskal-Wallis	43,34	134,05	49,44	44,75	18,83
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,016

KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruskal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: p 0.000 (diferencias altamente significativas); **: 0.000 < p < 0.050 (diferencias significativas); ns: no significativo p >0.050 (las dos muestras comparadas son iguales). 20 repeticiones por inóculo.

Existen diferencias en la expresión de los síntomas dependiendo de la especie inoculada (tabla 27). En la siguiente tabla 29 se desarrolla la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, comparando cada una de las especies inoculas con el control, para determinar a qué inóculo son debidas las diferencias encontradas.

Tabla.29. Resultados de la prueba Man-Whitney U de la comparación del tratamiento control con cada una de las especies fúngicas para la severidad de los síntomas externos, necrosis de rizoma, colapso y porcentaje de muertes de plántulas de platanera cv ‘Gran Enana’ en pruebas *in vitro*.

	amarillo	marchitamiento	necrosis	colapso	muerte
Control	36,625	17,500	35,000	40,000	55,000
<i>F. oxysporum</i>	74,534	77,803	74,812	73,957	71,393
Mann-Whitney U	522,500	140,000	490,000	590,000	890,000
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,015
Control	14,750	10,500	13,500	14,500	18,000
FOC	24,778	29,500	26,167	25,056	21,167
Mann-Whitney U	85,000	0,000	60,000	80,000	150,000
p	0,001	0,000	0,000	0,000	0,060
Control	28,875	16,000	19,000	31,000	33,000
<i>F. subglutinans</i>	43,771	48,136	47,119	43,051	42,373
Mann-Whitney U	367,500	110,000	170,000	410,000	450,000
p	0,004	0,000	0,000	0,005	0,017
Control	29,500	13,500	26,000	33,000	35,500
<i>F. proliferatum</i>	44,167	49,500	45,333	43,000	42,167
Mann-Whitney U	380,000	60,000	310,000	450,000	500,000
p	0,005	0,000	0,000	0,014	0,052
Control	17,500	14,000	15,500	15,500	19,500
<i>F. solani</i>	23,500	27,000	25,500	25,500	21,500
Mann-Whitney U	140,000	70,000	100,000	100,000	180,000
p	0,056	0,000	0,000	0,000	0,152
Control	15,500	15,500	18,000	17,500	20,500
<i>Tricoderma sp.</i>	25,500	25,500	23,000	23,500	20,500
Mann-Whitney U	100,000	100,000	150,000	140,000	200,000
p	0,002	0,002	0,018	0,009	1,000
Control	19,875	19,000	18,500	20,000	20,000
<i>Mucoral</i>	20,132	21,053	21,579	20,000	20,000
Mann-Whitney U	187,500	170,000	160,000	190,000	190,000
p	0,926	0,141	0,068	1,000	1,000

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales). 20 repeticiones por inóculo.

Todas las especies inoculadas producen algún tipo de síntoma de forma significativamente diferente al control, independientemente de los factores hipoxia y frío, excepto el aislado indeterminado, que fue inocuo para las plantas, bajo todas las condiciones ensayadas (tabla 29). En la tabla 30 se presentan los resultados de la inoculación con FOC, incluido como patógeno de referencia.

Tabla.30. Resultados de la prueba de Mann-Whitney U no paramétrica para la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y muerte de plántulas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con FOC en pruebas *in vitro*, T° 17/26°C y con/sin hipoxia radical

FOC	amarillo	marchitamiento	necrosis	colapso	muerte
17°C	7,000	9,500	8,000	7,875	8,000
26°C	11,500	9,500	10,700	10,800	10,700
Mann-Whitney U	20,000	40,000	28,000	27,000	28,000
p	0,014	1,000	0,192	0,180	0,099
sin hipoxia	7,500	9,500	10,500	12,500	9,000
con hipoxia	11,500	9,500	8,500	6,500	10,000
Mann-Whitney U	22,500	40,500	49,500	67,500	36,000
p	0,028	1,000	0,331	0,006	0,539

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales). 10 repeticiones por tratamiento.

El amarilleo foliar producido por FOC es mayor cuando las plantas se encuentran bajo el factor hipoxia y a temperatura de 26°C (tabla 30). El colapso de la última hoja se produce con más frecuencia cuando las plantas se encuentran bajo condiciones de hipoxia. Los síntomas en rizoma y la muerte de plántulas sólo son explicables por la inoculación con FOC y no dependen ni de la temperatura ni de la hipoxia. Según estos resultados parece que la severidad de los síntomas externos se ve influenciada por la temperatura y las condiciones de hipoxia radical, en cambio los síntomas en rizoma y la muerte de plántulas no dependen ni de la temperatura ni de la hipotexia radical. A continuación se presentan los resultados para *F. Proliferatum*, una de las especies de *Fusarium* más frecuentemente aisladas de plantas con FMP.

Tabla.31. Resultados de la prueba de Mann-Whitney U no paramétrica para la severidad de síntomas externos, necrosis en rizoma, colapso y muerte de plántulas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ inoculadas con *Fusarium proliferatum* en pruebas *in vitro*, T° 17/26°C y con/sin hipoxia radical

<i>F. proliferatum</i>	amarillo	marchitamiento	necrosis	colapso	muerte
17°C	27	28,5	27	29	29,5
26°C	34	32,5	34	32	31,5
Mann-Whytney U	345	390	345	405	420
p	0,065	0,088	0,073	0,375	0,492
sin hipoxia	24	32,5	35	34	33,5
con hipoxia	37	28,5	26	27	27,5
Mann-Whytney U	255	510	585	555	540
p	0,001	0,088	0,021	0,038	0,039

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales). 10 repeticiones por tratamiento.

Existen diferencias significativas entre la inoculación de *F. proliferatum* en las plántulas con y sin hipoxia radical, para las variables amarillo, necrosis de rizoma, colapso y muerte (tabla 31). En condiciones de hipoxia radical, se produce un aumento del número de casos con amarillo, pero una reducción en la variable necrosis, colapso y muerte. Estos resultados, son difíciles de explicar, pero una posibilidad podría ser que *F. proliferatum* que es aeróbio estricto, se ha desarrollado más en condiciones normales, llegando a producir un efecto fitotóxico debido a su propio carácter saprofítico o a la producción de algún tipo de toxina, que explicaría el aumento del número de casos en las condiciones normales. Esta explicación podría explicar el aumento de amarillo también bajo condiciones normales, que se ve aumentado por el efecto hipoxia como se muestra en la tabla 27.

Las pruebas de patogenicidad *in vitro* muestran que algunas especies del género *Fusarium*, pueden provocar síntomas externos tales como amarillo y colapso de la emisión de hojas nuevas, necrosis en el interior del rizoma y en ocasiones, muerte de las plántulas bajo condiciones de hipoxia radical y temperaturas de 26°C y 17°C. Estos resultados ponen de manifiesto la capacidad saprofítica sobre plántulas de platanera de algunas especies fúngicas bajo condiciones de estrés. Aguilar *et al.* (2000) demostraron que la hipoxia radical podía

inducir la pérdida de resistencia del cultivar ‘Willians’ a la infección por poblaciones de FOC molecularmente próximas a la raza 1.

Por otro lado, la anóxia radical no produce la muerte de la planta de platanera a corto plazo (6 meses) en pruebas “*in vitro*” realizadas en laboratorio, aunque sí induce al amarilleo foliar. No obstante, como ya se ha indicado, en ninguno de los casos hemos obtenido los síntomas clásicos de FMP ni de MP, por lo que los resultados de este ensayo no son concluyentes y se invalidan como prueba de patogenicidad, al menos para FOC en platanera bajo estas condiciones. Las pruebas de patogenicidad *in vitro*, sí han sido útiles en otros patosistemas. como demostró Durán González (2001) llegando a reproducir los síntomas clásicos de la fusariosis del esparrago mediante la inoculación de *F. oxysporum f. sp. asparragui* en pruebas *in vitro*.



Fig. 32: Inoculaciones *in vitro* de *Fusarium subglutinans* y control



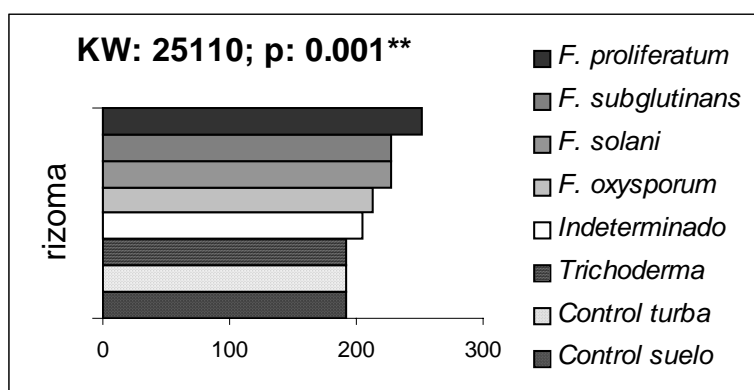
Fig. 33: Inoculación de *Fusarium subglutinans* con y sin aceite mineral



Fig. 34: Perspectiva general del ensayo de inoculaciones de aislados fúngicos sobre cv 'Gran Enana'

3.3. Ensayo de patogenicidad de especies fúngicas en invernadero, a temperatura de 25-30°C bajo condiciones de encharcamiento.

No se obtuvieron los síntomas clásicos, sino pequeños puntos necróticos, generalmente en la zona de inserción de raíces y leves oscurecimientos vasculares en las zonas contiguas a la inserción (fig. 34). En la siguiente figura 35 se presentan los resultados de la evaluación de los síntomas en rizoma observados en el ensayo de patogenicidad desarrollada en invernadero bajo temperaturas 26°-30°C.

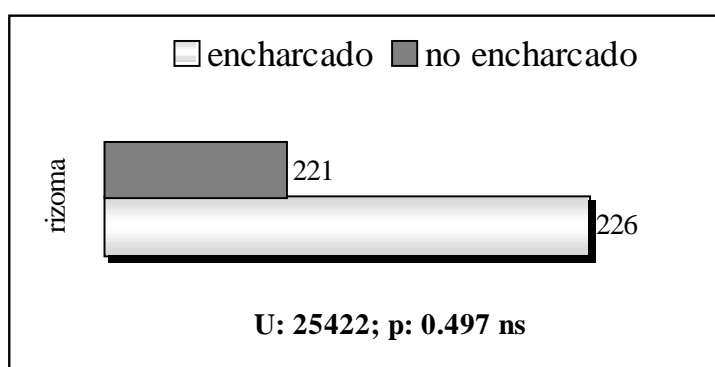


KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruskal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Fig.35. Análisis no paramétrico Kruskal Wallis de los valores (escal INIBAP) de severidad de los síntomas en rizoma observados en plataneras del cultivar 'Gruesa' inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP, bajo condiciones controladas de invernadero a 26°-30°C.

Existen diferencias significativas entre inóculos. Los valores más altos corresponden *F. proliferatum*, seguido por *F. subglutinans*, *F. solani* y *F. oxysporum* (fig 37, 38).

En la siguiente figura 36 se presenta el análisis no paramétrico de la severidad de síntomas en rizoma de plantas del cultivar 'Gruesa' inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP, bajo condiciones de encharcamiento y no encharcamiento en invernadero climatizado con temperaturas entre 26°-30°C.



U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Fig.36. Análisis no paramétrico Mann-Whitney U de la severidad de síntomas evaluados mediante la escala INIBAP, de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP, bajo condiciones de encharcamiento y no encharcamiento en invernadero climatizado con temperaturas entre 26°-30°C.

No existen diferencias significativas entre los tratamientos encharcado y no encharcado para la variable síntomas en rizoma (fig.36), aunque las plantas cultivadas en suelos encharcados presentaban valores más altos que las que se encontraban en suelos no encharcados. Resultados similares se obtuvieron en el ensayo *in vitro* en plántulas sometidas a situaciones de hipoxia. Como ya hemos comentado, Lahav *et al.*(1999) concluyó que el encharcamiento por sí mismo, no producía síntomas de “Yellow Mat”.

En la tabla 32 se presentan los resultados del ANOVA y valores medios de variables fenológicas de platanera cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con diferentes especies fúngicas bajo condiciones de encharcamiento / no encharcamiento del suelo.

Tabla.32. Resultados del ANOVA y valores medios de variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gruesa’, inoculadas con diferentes especies fúngicas bajo condiciones de encharcamiento / no encharcamiento del suelo

Tratamiento	Raíces	Pf raíces	Ps raíces
control suelo	52.286 b	162.643 b	13.143 b
control turba	53.938 b	177.688 b	11.875 b
<i>F. oxysporum</i>	41.472 a	99.938 a	7.132 a
<i>F. Proliferatum</i>	45.063 b	101.594 a	6.580 a
<i>F. solani</i>	43.812 ab	94.812 a	5.250 a
<i>F. subglutinans</i>	40.295 a	92.089 a	5.786 a
<i>Trichoderma</i>	41.812 a	108.563 ab	6.563 a
indeterminado	40.812 a	91.625 a	6.911 a
ANOVA			
Aislados	***	***	***
encharcamiento	***	***	***
Interacción	0.388 ns	0.024 **	***

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple Tukey. ANOVA donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

El número de raíces se ve reducido por el efecto encharcamiento del suelo, y por todos los inóculos probados, excepto por *F. solani* de forma significativamente diferente de los controles, los cuales, alcanzan los valores más elevados de esta variable, aunque no existe interacción entre el tratamiento encharcamiento y los inóculos. Cuando se estudian solo los controles, ocurre lo mismo con las variables de peso fresco y peso seco de las raíces. Aunque en este caso si existe interacción entre los tratamientos control y el de encharcamiento (tabla 33).

Tabla.33. Efecto del encharcamiento sobre el peso fresco (pf), peso seco (ps) y altura de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ plantadas en suelo natural y en sustrato de turba:picón (70:30), utilizados como control bajo condiciones controladas de invernadero a 25°C.

Tratamiento	Pf aereo	Ps aereo	altura
control suelo	331,571	30,557	64,107
control turba	352,187	29,994	53,893
ANOVA			
tipo de sustrato	0.385 ns	0.862 ns	0.155 ns
encharcamiento	***	***	***
Interacción	0.091 ns	0.106 ns	***

ANOVA donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Las variables de la parte aérea sólo fueron evaluadas para ver el efecto encharcamiento sobre los controles, pero no el de los inóculos, ya que aparentemente no existían diferencias entre las alturas de las plantas independientemente del inóculo (tabla 33).

No existen diferencias significativas entre tipos de sustrato para ninguna de las variables estudiadas, aunque los valores para el peso fresco y el seco de la parte aérea fueron mayores en sustrato con turba que en suelo. La variable altura se comporta de forma diferente, encontrando los valores más elevados en las plantas cultivadas en suelo que en las cultivadas en turba, existiendo interacción del tratamiento encharcamiento con estos sustratos. Puede que estos resultados sean debidos a la acidificación del sustrato en encharcamiento, siendo más pronunciado en la turba que en la tierra.

En la tabla 34 se presentan los resultados de los análisis de macro y micronutrientes en las hojas de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con diferentes especies fúngicas asociadas al FMP y sometidas a encharcamiento del suelo, bajo condiciones controladas de invernadero a 26°-30° C.

Tabla.34. Valores medios de macro y micronutrientes en hojas de plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con diferentes especies fúngicas asociadas al FMP y sometidas a encharcamiento del suelo, bajo condiciones controladas de invernadero a 25°C

	N %	P%	K%	Ca %	Mg ppm	Na ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	Cu ppm
1: Enchar	3,617	0,36	6,193	0,649	0,589	709,029	287,166	903,4	36,286	14,259
2: No Enchar	3,571	0,354	5,634	0,815	0,68	526,889	269,011	710,258	33,75	12,766
ANOVA	0,431ns	0,595ns	0,023**	0,012**	0,045**	0,271ns	0,457ns	0,081ns	0,416ns	0,047**

ANOVA, ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Sólo aparecen diferencias significativas en los elementos K, Ca, Mg y Cu. No existen diferencias significativas entre los dos tratamientos para los elementos, N, P, Na, Fe, Mn, y Zn (tabla 34). Aunque la diferencia no es significativa, el aumento de Na en los suelos encharcados respecto los no encharcados, es una consecuencia descrita por diferentes autores. El K y el Cu alcanzan valores mayores en suelos encharcados que en los que no lo están. Por

el contrario el Ca y el Mg son menores en los encharcados que en los no encharcados, la disminución de valores de Ca y Mg ha sido citada por Dorel y Ozier Lafontaine (1998).

Todos estos valores, se encuentran dentro del rango normal para la platanera y ninguna de las plantas ensayadas manifestaron síntomas de deficiencias.

La primera conclusión que se desprende de estos resultados, es que ninguno de los aislados inoculados en estas condiciones ha logrado reproducir los síntomas de FMP, aunque no puede descartarse el papel de alguno de ellos, en especial *F proliferatum*, en otras condiciones más favorecedoras de la expresión sintomática del FMP o otras condiciones de ensayo, como posiblemente sea la utilización de plantas adultas y en tiempos de ensayo mayores. Por otra parte, es necesario llegar a conseguir situaciones de encharcamiento que conduzcan a respuestas más extremas sobre las propiedades físico químicas del suelo y la nutrición de las plantas, tal y como se halla descrito en la literatura. En nuestro caso hemos podido medir únicamente el oxígeno disuelto en el agua de riego pero no hemos podido establecer si se ha producido una situación de hipoxia o anoxia radical, aunque en este sentido las observaciones sobre el número de raíces emitidas, aumentos en el diámetro, aumento del volumen y del aerenquima total, así como el aumento de las ramificaciones y los ápices necrosados son indicadores de que ha habido al menos una baja concentración de oxígeno en suelo.

Los análisis foliares indican que no existe ninguna deficiencia de nutrientes, aunque si se ven asociados valores bajos de calcio y valores elevados de sodio a situaciones de encharcamiento como las citadas para Canarias por Suárez y Santana (2002) en platanera.



Fig. 37. Vista general del ensayo de patogenicidad en condiciones de invernadero de diferentes especies fúngicas en combinación con encharcamiento, sobre cv 'Gran Enana'



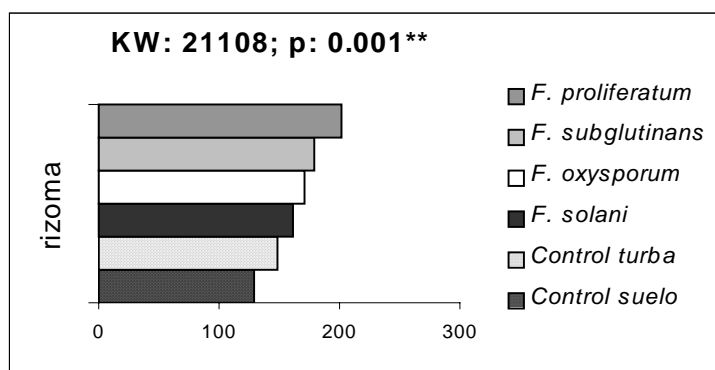
Fig.38: Detalle de síntomas en rizoma, avance por el cilindro central de raíz

Fig.39. Detalle de rizoma con síntomas de punteado típico de FMP



3.4. Ensayo de patogenicidad de especies fúngicas a temperaturas de 17°-28°C bajo condiciones de encharcamiento y con simulación de daños mecánicos.

Como en el ensayo anteriormente descrito, no se han obtenido los síntomas clásicos, sino pequeños puntos necróticos, generalmente en la zona de inserción de raíces y leves oscurecimientos vasculares en las zonas adyacentes a la inserción. En la siguiente figura 40 se presentan los resultados de la evaluación de la severidad de los síntomas:

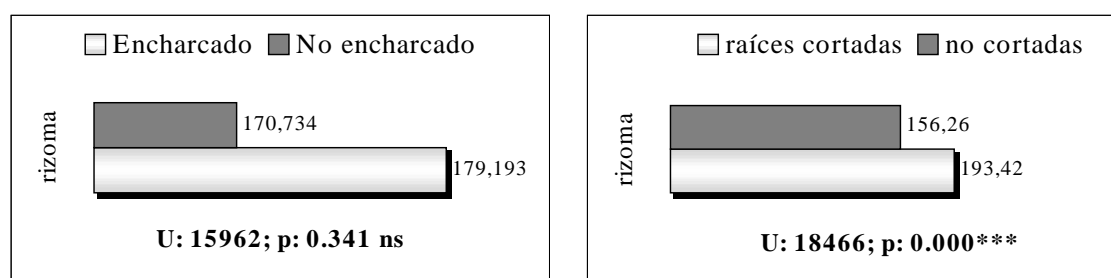


KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruskal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales)

Fig.40. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma obtenidos en plataneras cultivar 'Gruesa' inoculadas con una selección de especies fúngicas bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C y encharcamiento del suelo.

Existen diferencias significativas entre los inóculos probados para la variable síntomas en rizoma ($p = 0,001$), siendo la inoculación de *F. proliferatum* el que presentó valores mayores de severidad de síntomas.

En las siguientes gráficas (fig. 41) se muestran los efectos de los factores encharcamiento (izquierda) y raíces cortadas (derecha) sobre la severidad de síntomas en rizoma en plantas inoculadas con especies fúngicas asociadas al FMP.



U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Fig.41. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma obtenidos en plataneras del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con una selección de especies fúngicas bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C. A la izquierda: Efecto del encharcamiento del suelo sobre la expresión de los síntomas en rizoma. A la derecha: Efecto del corte de las raíces sobre la expresión de los síntomas en rizoma.

Los resultados obtenidos muestran que ninguno de los inóculos probados reproduce los síntomas típicos asociados al FMP bajo las condiciones ensayadas (fig.41), aunque existen diferencias significativas entre aislados para síntomas en rizoma. No existen diferencias entre encharcados y no encharcados para síntomas en rizoma y entre raíces cortadas y raíces no cortadas.

En la siguiente tabla 35, se presentan los resultados obtenidos de la severidad de los síntomas en rizoma producidos por la inoculación con FOC (referente de patogenicidad) bajo encharcamiento/no encharcamiento y raíces cortadas/no cortadas

Tabla.35. Prueba Mann-Whitney de los síntomas en rizoma producidos por la inoculación con FOC

FOC rizoma			
Tratamientos	Nº muestras	Suma Rangos	Media Suma Rangos
raíz cortada	32	1090,5	34,08
raíz no cortada	31	925,5	29,85
Mann-Whitney	U=562,5	p=0,309 ns	
Encharcado	32	890	27,81
No encharcado	31	1126	36,32
Mann-Whitney	U= 362	p= 0.040**	

bajo encharcamiento/no encharcamiento y raíces cortadas/no cortadas

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales)

Los inóculos FOC, produjeron síntomas en rizoma de MP con mayor frecuencia e intensidad cuando las plantas no se encontraban encharcadas que cuando sí lo estaban (tabla 35). Por el contrario, en el resto de los inóculos ocurre al revés, aparecen más puntos necróticos en los rizomas de las plantas que se encontraban encharcadas. Este comportamiento es significativamente diferente para la interacción del tratamiento encharcamiento con la presencia por especies fúngicas, aunque no lo es para los inóculos ni para el encharcamiento por separado (fig. 41). Para FOC, no existen diferencias significativas entre raíces cortadas y no cortadas mientras que para los otros inóculos si las hay.

A continuación (tabla 36) se presentan los resultados de los análisis de macro y micronutrientes.

Tabla.36. Resultados del ANOVA y valores medios de macro y micronutrientes de hojas de platanera del cultivar ‘Gruesa’ inoculadas con los hongos seleccionados y sometidas a encharcamiento del suelo bajo condiciones controladas de invernadero a 17°-28°C.

	N %	P%	K%	Ca %	Mg ppm	Na ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	Cu ppm
1: Enchar	3,062	0,307	4,832	1,083	0,779	1000,673	345,817	335,306	20,834	7,917
2: No Enchar	3,038	0,324	4,874	1,12	0,73	600,674	190,982	272,57	18,888	7,35
ANOVA	0,912ns	0,681ns	0,946ns	0,762ns	0,470ns	0,135ns	0,331ns	0,499ns	0,202ns	0,454ns

ANOVA, ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

No existen diferencias significativas para ninguno de los elementos foliares analizados (tabla 36). A continuación se presentan los resultados de la tendencia del pH y de la conductividad eléctrica (fig.42).

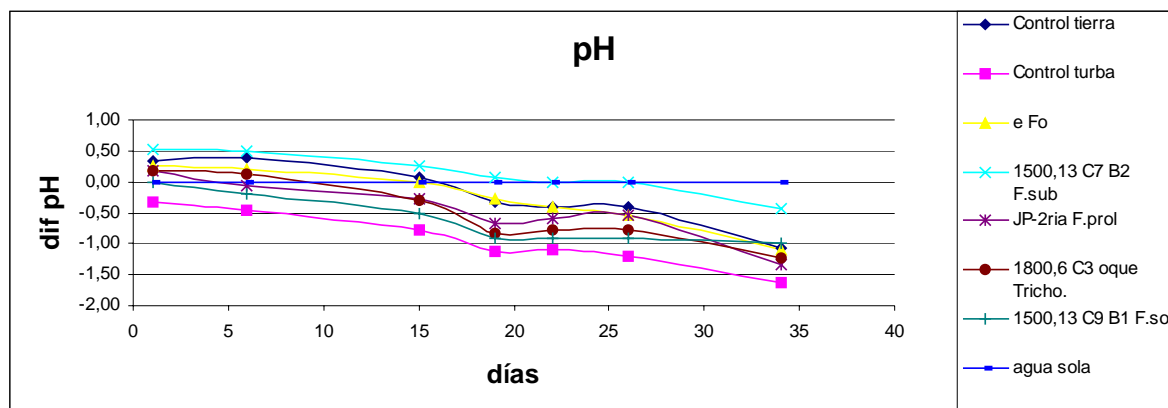


Fig.42. Tendencia de la diferencia de pH del agua de riego con el pH del agua de drenaje en plantas de platanera del cultivar 'Gran Enana' sometidas a encharcamiento e inoculadas con diferentes especies fungicas.

La tendencia del pH a lo largo del tiempo es a disminuir, aunque la reducción no es estadísticamente significativa debido a la incorporación semanal de agua para el mantenimiento del nivel de encharcamiento (fig. 42).

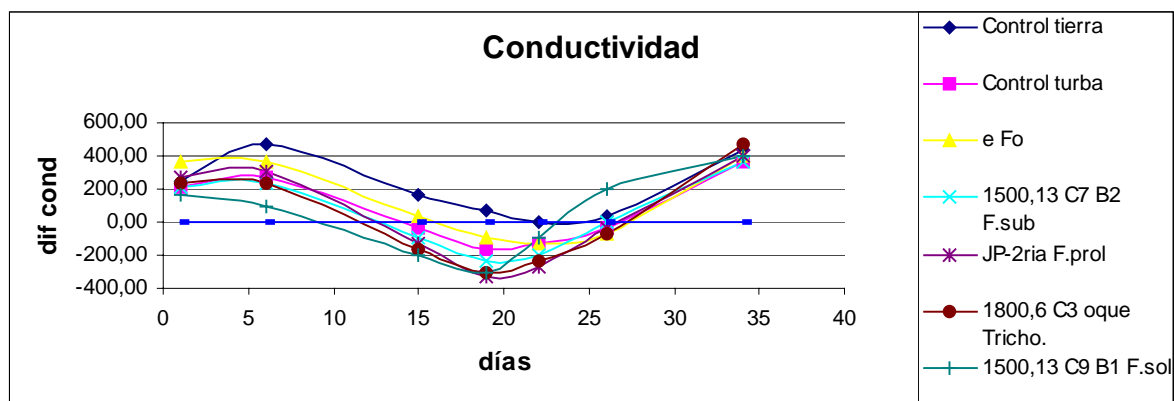


Fig.43. Tendencia de la conductividad (mS) en plantas de platanera del cultivar 'Gran Enana' sometidas a encharcamiento e inoculadas con diferentes especies fungicas.

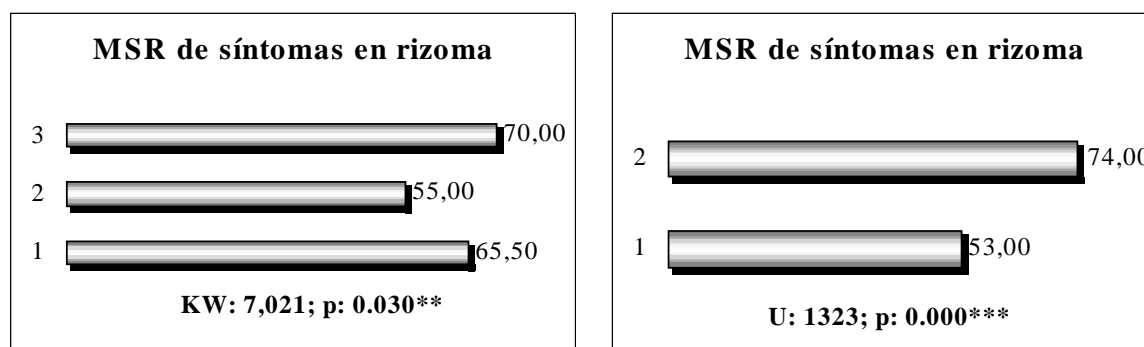
Como se observa en la fig. 43, la conductividad tiende a aumentar a lo largo del tiempo posiblemente debido a la acumulación de sales en el agua de drenaje de las plantas encharcadas.

4. INTERACCIÓN DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS

4.1. Ensayo preliminar con suelos esterilizados y no esterilizados de plantaciones comerciales

4.1.1. Suelos del Norte de Tenerife

En ningún caso se han obtenido los síntomas clásicos, sino pequeños puntos necróticos, generalmente en el lugar de inserción de las raíces y leves oscurecimientos vasculares en zonas contiguas, que en ocasiones se podían seguir desde el cilindro central de las raíces hasta la zona vascular del rizoma. Los resultados se exponen en la fig. 44



MSR=Media de la suma de rangos .KW=Prueba: de Kruskal Wallis, (no paramétrica múltiple) .Variable de valores discretos (1,2) U= Prueba no paramétrico simple de Mann-Whitney U

Fig.44. Síntomas en el interior del rizoma en plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ en diferentes suelos esterilizados/no esterilizados del norte de Tenerife. A la izquierda valores para los suelos 1 (C), 2 (E), 3 (Z.). A la derecha, Valores para suelo esterilizado (1) y no esterilizado (2).

En fig. 44 izquierda, según la prueba de Kruskal-Wallis para el análisis no paramétrico de la variable “síntomas en rizoma”, los tres suelos se comportan significativamente diferentes ($p \leq 0.030$) con el valor más bajo para el suelo 2.

En fig. 44 derecha, se muestra que, existen diferencias altamente significativas entre los síntomas producidos en suelos esterilizados (1) y los producidos en suelos no esterilizados (2) con $p = 0,000$, correspondiente al valor de U.

En la figura 45, se presentan las frecuencias de plantas sintomáticas, muertas y sanas.

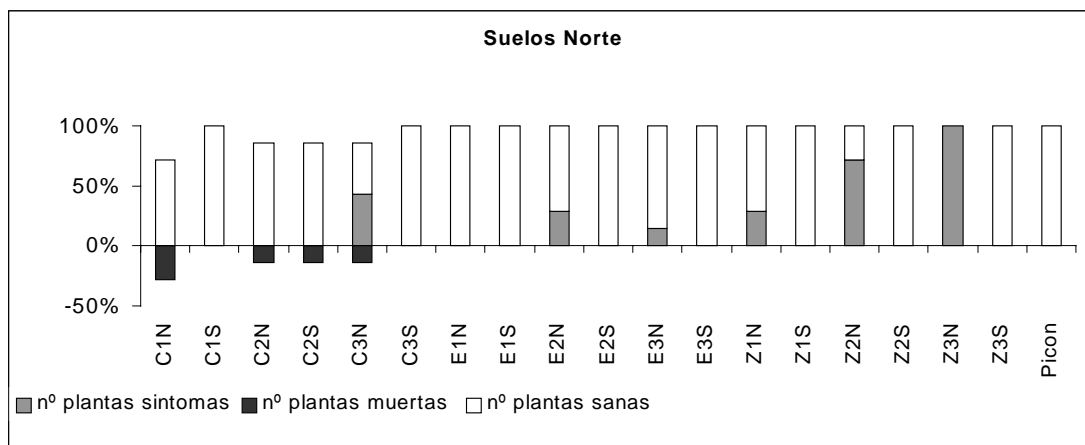


Fig.45. Frecuencia de plantas con síntomas en rizoma, muertas y sanas en los diferentes suelos del norte de Tenerife para el tratamiento esterilización/no esterilización. Códigos de suelos C=1; E=2; Z=3.

Como se observa en la figura 45, sólo hubo muertes en el suelo C, cuando se encontraba no esterilizado, y en un caso cuando se encontraba en suelo esterilizado, que corresponde al suelo 1. En los otros suelos no ha habido muerte de plantas, aunque sí se han encontrado síntomas consistentes en pequeñas zonas necróticas en los suelos no esterilizados.

En la tabla 37 se muestran los resultados del ANOVA para diferentes variables fenológicas

Tabla.37. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ en muestras de suelos en esterilizados y no esterilizados, procedentes de 3 plantaciones comerciales de la vertiente norte de la isla de Tenerife con FMP.

suelos norte	dif altura	dif nh	pf arereo	ps aereo	pf raíz	ps raíz	pf R/A
control	6,300 b	2,467 b	80,400 b	30,073 c	30,067 c	4,667 bc	38,076 c
1.1	4,024 a	1,714 ab	37,050 a	13,120 ab	12,400 a	2,545 a	33,377 a
1.2	2,500 a	1,429 a	34,667 a	10,545 a	17,533 ab	3,225 ab	52,905 d
2.1	3,786 a	2,048 b	63,048 b	22,183 c	23,476 bc	5,448 c	37,581 b
2.2	4,071 a	1,810 ab	54,762 b	19,814 bc	29,190 c	5,679 cd	55,192 d
3.1	7,024 b	2,143 b	103,238 c	39,546 d	37,333 c	7,376 d	36,636 a
3.2	6,119 b	2,143 b	67,952 b	25,740 c	33,048 c	5,247 c	49,070 d
ANOVA							
suelo	***	***	***	***	***	***	0,082ns
tratamiento	0,050ns	0,103ns	***	***	0,124ns	0,253ns	***
suelo*tratamiento	0,118ns	0,503ns	***	0,001**	0,005**	0,003**	0,123ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Códigos de los **Suelos**: 1, 2, 3 seguidos de **Tratamiento** del suelo se refieren a 1: esterilización; 2: no esterilización.

Los resultados del ANOVA (tabla 37) indican que existen diferencias significativas para algunas de las variables estudiadas. Cuando se analiza factorialmente, existen diferencias significativas para el factor suelo en todas las variables excepto para peso fresco raíz/aéreo (Pf R/A). Existen diferencias significativas entre suelo esterilizado/ suelo no esterilizado para las variables peso fresco aéreo (Pf), peso seco aéreo (Ps) y la relación del peso fresco raíz/aéreo (Pf R/A). La interacción suelo por esterilidad/ no esterilidad es significativa para las variables peso fresco y peso seco tanto aéreo (Pf aéreo y Ps aéreo) como de raíz (Pf raíz y Ps raíz).

El número de hojas emitidas desde el inicio del ensayo hasta el final (dif. nh), es una variable indicativa del desarrollo fenológico de la planta y resulta muy sensible a situaciones de estrés (Alves, 1997). El peor comportamiento de esta variable se ha producido en las plantas cultivadas en el suelo 1 y en el suelo 2 cuando se encontraba sin esterilizar.

En la variable diferencia de altura inicial respecto la final, las plantas cultivadas en el sustrato control y en el suelo 3, adquieren los valores mayores de crecimiento siendo significativamente diferente del resto de plantas en los otros suelos y tratamientos, posiblemente debido a una buena estructura.

El suelo 1, el más tendente a la compactación y con un alto contenido en arcillas, fúe el peor para las variables de crecimiento y el que presentó un mayor número de muertes de plantas. Dorel (1993) describió alteraciones en el crecimiento y desarrollo fenológico de plantas de platanera en condiciones de campo que nosotros hemos observado en este ensayo, atribuyendo la reducción en los valores de algunas variables a la compactación del suelo.

En la tabla 38 se presentan los resultados del ANOVA para los análisis foliares.

Tabla.38. Resultados del ANOVA para macro y micronutrientes de las plataneras cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos Norte de Tenerife en condiciones de suelo esterilizado y no esterilizado.

Suelo N	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)
suelo	0,462ns	0,217ns	0,382ns	0,396ns	0,020**	0,010**	0,279ns	0,836ns	0,269ns	0,048**
trat	0,580ns	0,252ns	0,881ns	0,509ns	0,491ns	0,040**	0,932ns	0,077ns	0,134ns	0,172ns
suelo*trat	0,502ns	0,934ns	0,518ns	0,813ns	0,980ns	0,023**	0,963ns	0,986ns	0,991ns	0,547ns

ANOVA ***: $p < 0.000$; **: $0.000 < p < 0.050$; ns: no significativo $p > 0.050$

Como puede observarse (tabla 38), para el factor suelo sólo existen diferencias significativas para el Mg, Na y Boro. Estos resultados caben dentro de los esperados, ya que diferencias en Na y en Mg en suelos de platanera en Canarias, han sido encontradas por Alvarez (1999). El contenido en Na puede jugar un papel muy importante en la capacidad de expansión de las arcillas, cuando se encuentra en valores elevados y el Ca en valores críticos (Suárez y Santana, 2002). El papel del B en ciertos síndromes como el del corazón hueco de coles, etc. e incluso en la muerte de raíces y necrosis meristemática del plátano ha sido citado por Batino *et al.* (1975) y por Ko *et al.* (1997). También ha sido implicado en decoloraciones vasculares en otras especies (Ali y Jarvis, 1988).

En la tabla 39, se presentan los resultados para el magnesio y el boro. En la tabla 40 se muestran los resultados para el sodio.

Tabla.39. Valores medios de magnesio y boro de muestras foliares combinadas de platanera cultivadas en suelos del Norte de la Isla de Tenerife

SUELO	Mg (%)	B(%)
1	0.608	45.73
2	1.090	32.80
3	0.573	44.45

Tabla.40. Valores medios de Na (ppm) de muestras foliares combinadas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos del norte de Tenerife en condiciones de suelo esterilizado/no esterilizado.

	SUELOS			TRATAMIENTOS	
	1	2	3	1	2
Na (ppm)	1898.4	611.383	397.283	559.544	1378.500

Las plantas cultivadas en el suelo 2, presentan los valores menores de boro (B), pero en este suelo fue donde la expresión de síntomas en rizoma fue menor y no hubo ninguna planta muerta.

El suelo 1 es el que presenta un mayor contenido en sodio (Na) y en este suelo fue donde se observaron más muertes, aunque estos valores se encuentran dentro del rango tolerado por la platanera (tabla 40).

Tanto en suelos esterilizados y como no esterilizados, los valores de todos los elementos se encuentran dentro de los rangos establecidos como normales para la platanera en todos los tratamientos. Se puede deducir que no existe ningún factor nutricional que conduzca a la expresión de las necrosis en las inserciones de las raíces ni a los oscurecimientos vasculares en rizoma observados en este ensayo.

Estos resultados indican que la estructura del suelo juega un papel importante en la expresión de síntomas, ya que incluso esterilizado, el suelo 1 es el que presenta valores más bajos para algunas variables y no puede descartarse que algún factor abiótico esté implicado en la expresión de los síntomas evaluados en este ensayo, aunque las necrosis observadas en rizoma, no fueron las típicas del FMP.

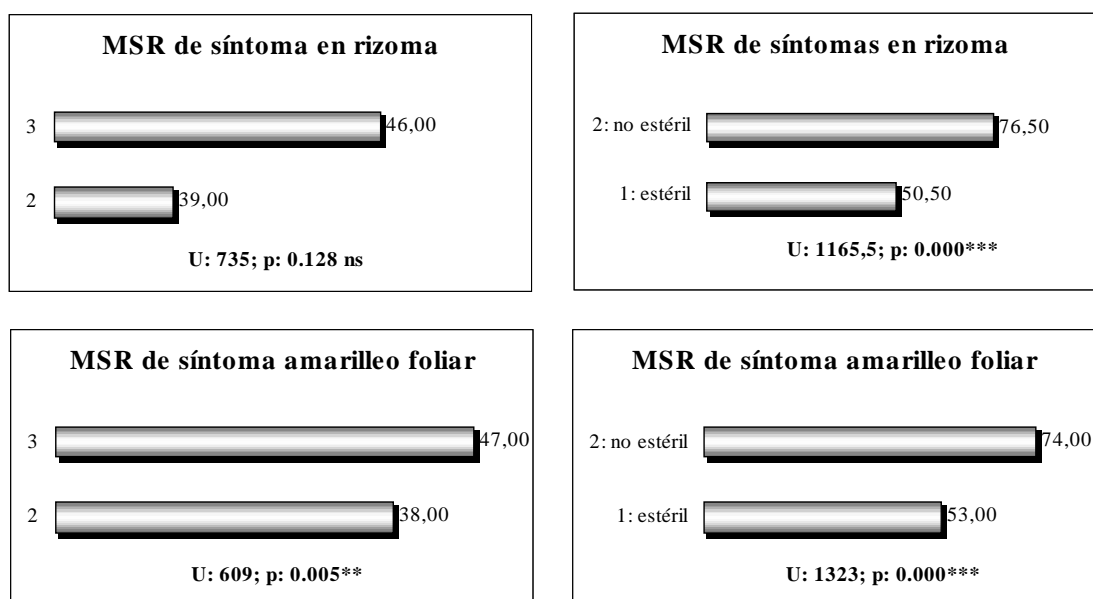
Este suelo 1 fue el que también presentó un mayor número de muerte de plántulas en condiciones de suelo natural. Por este motivo se planteó otro ensayo de mejora de la estructura

del suelo por adición de “picón” para determinar si el número de plantas muertas y de plantas con presencia de necrosis en el rizoma estaba relacionado con la estructura del suelo y si se mantenía que los síntomas aparecían únicamente en el suelo no esterilizado.

Según los resultados cabría pensar que existe algún factor biótico integrante de la microflora del suelo responsable al menos de las necrosis en las inserciones de raíces y oscurecimientos vasculares en rizoma, ya que estos no pueden explicarse únicamente por la mala estructura del suelo. Los resultados de las pruebas de patogenicidad demostraron que especies fúngicas seleccionadas pertenecientes al género *Fusarium*, producían necrosis similares a las observadas en estos ensayos. Estos resultados sugerían plantear otros ensayos similares con otros suelos y otras condiciones de estrés o considerar otros niveles de las ya probadas -quizás aumentar la duración de los ensayos para obtener la expresión total de síntomas-, dado que los síntomas obtenidos no eran exactamente los observados en plataneras adultas en condiciones de campo que sufrían FMP y podríamos estar cometiendo un error al asumir que los síntomas en rizoma evaluados son con certeza un inicio de la sintomatología del FMP.

4.1.2. Suelos del Sur de Tenerife

En ningún caso se han obtenido los síntomas típicos del FMP. Del mismo modo que en el ensayo anterior, se obtuvieron puntos necróticos, generalmente en el lugar de inserción de las raíces y leves oscurecimientos vasculares en zonas contiguas, que en ocasiones se podían seguir desde el cilindro central de las raíces hasta la zona vascular del rizoma. En el suelo de la plantación afectada de MP, las plantas presentaron los síntomas típicos. Los resultados se exponen en la fig. 46.



KW: Prueba de Kruskal Wallis, no paramétrico múltiple que compara los valores discretos que la variable puede adquirir. U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U.

Fig.46. Severidad de síntomas externos de platanera del cultivar ‘Gran enana’ en suelos del sur de Tenerife. A la izquierda aparece representadas las medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma y amarilleo encontrados en los tres suelos (1, 2, 3) ensayados. A la derecha aparecen representadas las MSR de los síntomas en rizoma y amarilleo donde 1: es suelo esterilizado y 2 es suelo no esterilizado.

El análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis realizado sobre las variables síntomas en rizoma y síntomas de amarilleo foliar, muestra que para síntomas en rizoma no existen diferencias significativas entre los dos suelos evaluados para el FMP (2 y 3), aunque si existen diferencias significativas para los síntomas de amarilleo foliar. Para el factor esterilización /no esterilización del suelo existen diferencias significativas tanto para síntomas en rizoma ($p=0,000$), como para amarilleo foliar ($p=0,000$), obteniéndose los valores más altos en el suelo no esterilizado. Estos resultados podrían deberse a la presencia de una determinada microflora en los suelos sin esterilizar o a cambios en la estructura física o en la química de los suelos por efecto de la esterilización, aunque esto último parece menos probable ya que se hizo al vapor. Como se demostró en los ensayos de patogenicidad, las plantas inoculadas con algunas especies fúngicas presentaron pequeñas necrosis similares a las obtenidas en este ensayo, por lo que podría sugerirse la implicación de algún componente biótico presente en la microflora

en la producción de las necrosis evaluadas como síntomas en rizoma y del amarilleo foliar, ya que en ningún caso se ha producido los síntomas típicos del FMP.

A continuación en la figura 47, se presentan las frecuencias de plantas con síntomas, plantas muertas y plantas sanas.

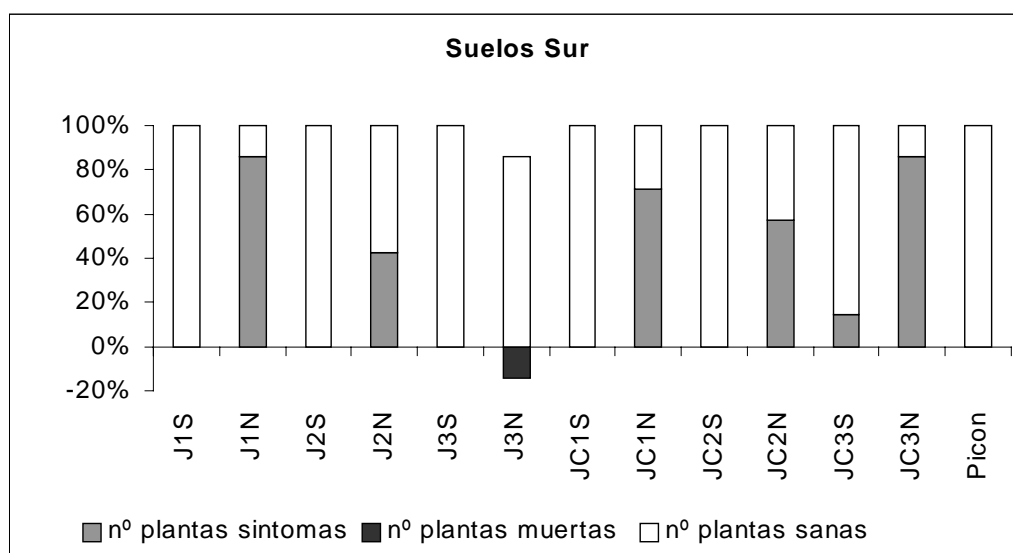


Fig.47. Frecuencia de plantas sanas, muertas y con síntomas en rizoma en los diferentes suelos del sur de Tenerife para los tratamientos esterilización/no esterilización.

Los síntomas en rizoma se han producido solamente en las plantas cultivadas en suelos no esterilizados, excepto en una planta del suelo JC3 esterilizado. La muerte de plantas se ha observado sólo en el suelo J3N (no esterilizado). A continuación presentamos en la tabla 41 los resultados del ANOVA.

Tabla.41. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en tres suelos del sur de Tenerife bajo condiciones de suelo esterilizado/no esterilizado.

Factores (3 suelos)	altura	diametro	nh	pf arereo	ps aereo	pfraiz
suelo	***	***	0,026 **	***	***	***
tratamiento	***	***	***	***	***	0,036 **
suelo*tratamiento	0,627 ns	0,071 ns	0,038 **	0,104 ns	0,145 ns	0,006 **
parcela (suelo)	0,621 ns	0,450 ns	0,037 **	0,346 ns	0,235 ns	0,818 ns
Factores (2 suelos)	altura	diametro	nh	pf arereo	ps aereo	pfraiz
suelo	0,583 ns	0,411 ns	0,018 **	0,321 ns	0,869 ns	0,118 ns
tratamiento	***	***	0,050 **	0,327 ns	***	0,957 ns
suelo*tratamiento	0,362 ns	0,054 ns	0,050 **	0,319 ns	0,288 ns	0,124 ns
parcela (suelo)	0,470 ns	0,249 ns	0,074 ns	0,413 ns	0,866 ns	0,760 ns

Tabla superior. ANOVA para tres suelos, incluido el procedente de una plantación con MP. Tabla inferior. ANOVA para dos suelos de plantaciones con FMP. Parcelas(Suelos)= Efecto de las parcelas dentro de suelos (“*nested*”)

ANOVA***: p 0.000; **: 0.000<p<0.050; ns: no significativo p>0.050. suelos: 1,2,3; tratamiento: esterilización /no esterilización; parcela (suelo): 3 repeticiones de cada suelo evaluadas. Nh: número de hojas emitidas; pf: peso fresco; ps: peso seco.

El análisis de la varianza, indica que cuando consideramos el suelo que procedía de una plantación afectada por MP (suelo 1), existen diferencias entre los 3 suelos. En general, no se han obtenido diferencias significativas para la interacción suelo por tratamiento de esterilización, ni para el factor parcelas dentro de suelos, salvo para la variable número de hojas en ambos casos y para el peso fresco de la raíz sólo en la interacción suelo por tratamiento. Las diferencias significativas observadas en las variables estudiadas para el factor suelo y para el factor esterilización / no esterilización del suelo podrían explicarse por la expresión de MP en las plantas cultivadas en este suelo. En cambio cuando sólo comparamos los suelos procedentes de plantaciones que presentaban problemas de FMP (2 y 3), no existen diferencias entre los suelos. Por lo tanto, las diferencias observadas en las variables de desarrollo de las plantas entre los tres suelos son debidas al suelo 1, ya que cuando comparamos solos los suelos 2 y 3 estas diferencias desaparecen (tabla 41).

En la siguiente tabla 42, presenta la reparación de medias de las variables fenotípicas de la interacción suelos bajo y el factor esterilización / no esterilización del suelo.

Tabla.42. Valores medios para diferentes variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en tres suelos del sur de Tenerife bajo condiciones de esterilización/no esterilización.

suelos sur	altura	diametro	nh	pf arereo	ps aereo
1.1	36,976 c	35,081 d	9,667 c	164,135 c	69,511 c
1.2	32,452 bc	32,067 cd	8,714 ab	139,026 bc	55,921 bc
2.1	33,548 c	32,424 cd	9,238 bc	141,561 bc	57,705 bc
2.2	28,143 a	26,002 a	8,333 a	90,449 a	28,924 a
3.1	33,190 bc	31,466 bc	9,333 bc	130,705 b	53,289 b
3.2	29,571 ab	28,359 ab	9,333 bc	98,690 a	32,160 a

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. Códigos de los Suelos: 1, 2, 3 seguidos de 1: esterilización; 2: no esterilización. Nh: número de hojas emitidas; pf: peso fresco; ps: peso seco.

La interacción es estadísticamente diferente para todas las variables estudiadas ya que alguno de los suelos siempre presenta diferencias significativas entre esterilizado y no esterilizado (tabla 42). Los valores más bajos de altura se registran en el suelo 2 no esterilizado.

Para el resto de variables, diámetro, número de hojas emitidas al final del ensayo y peso fresco y seco aéreo, el comportamiento de las plantas es similar, se mantiene que los valores más bajos de las variables fenológicas se dan cuando el suelo (1,2,3) no está esterilizado (trat 2). Las combinaciones suelos 2.2 y 3.2 presentan los valores más bajos en todas las variables. Los valores más elevados se dan en las plantas cultivadas en el suelo 1 esterilizado (trat 1), que es el que presentaba la mejor estructura. Este suelo provenía de una plantación con Mal de Panamá, que sólo se expresó en las plantas cultivadas cuando el suelo no estaba esterilizado (1.2).

A continuación se presentan los valores medios de las variables fenológicas para el factor suelo esterilizado/no esterilizado.

Tabla.43. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas para el factor suelo esterilizado / suelo no esterilizado de plantas ‘Gran Enana’ en suelos del sur de Tenerife.

3suelos trat	altura	diámetro	nh	pf arereo	ps aereo	pfraiz
1: estéril	34,571	32,99	9,413	145,467	60,168	29,969
2: no estéril	30,056	28,809	8,794	109,388	39,002	33,465
ANOVA	***	***	0,001 **	***	***	0,062 ns

ANOVA ***: $p < 0.000$; **: $0.000 < p < 0.050$; ns: no significativo $p > 0.050$. Nh: número de hojas emitidas; pf: peso fresco; ps: peso seco.

Existen diferencias significativas para todas las variables excepto para el peso fresco de la raíz. Los valores más altos corresponden al suelo esterilizado. Como ocurrió en el anterior ensayo, la reducción de los valores de las variables de crecimiento y la obtención de síntomas en rizoma se ha producido mayoritariamente en los suelos no esterilizados. Estas diferencias podrían explicarse de la misma manera que en los suelos del norte, podría existir un componente de la microflora del suelo que pudiera estar afectando negativamente a las plantas o que estas condiciones abióticas no son las favorables para la expresión del FMP. En la tabla 44 se expresan los resultados de los análisis foliares.

Tabla.44. Resultados del ANOVA y valores medios de micro y macronutrientes de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en suelos del sur de Tenerife esterilizados y no esterilizados.

Suelo S	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	B (ppm)
suelo	0,367ns	***	0,025**	0,022**	0,050**	***	0,563ns	0,002**	0,857ns	0,039**
trat	0,274ns	0,225ns	0,274ns	0,914ns	0,392ns	0,071ns	0,201ns	0,268ns	0,476ns	0,071ns
suelo*trat	0,337ns	0,092ns	0,050**	0,441ns	0,840ns	0,236ns	0,270ns	0,248ns	0,211ns	0,612ns

ANOVA ***: $p < 0.000$; **: $0.000 < p < 0.050$; ns: no significativo $p > 0.050$. Suelo: 1, 2, 3; Tratamiento (trat): esterilización del suelo.

Los análisis foliares muestran que existen diferencias significativas para la mayoría de los elementos respecto a los diferentes suelos ensayos. Para el tratamiento de esterilización /no esterilización del suelo no existen diferencias significativas entre los elementos estudiados. En la interacción de suelo con el tratamiento del suelo no existen diferencias significativas para los distintos nutrientes salvo para el potasio (tabla 44).

En la tabla 45 se muestran la separación de medias de los nutrientes analizados en muestras foliares de las plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en los tres suelos ensayados.

Tabla.45. Valores medios de micro y macronutrientes de muestras foliares combinadas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ del Sur de la Isla de Tenerife cultivadas

SUELO	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Mn (ppm)	B (ppm)
1	0.209	4.360	1.237	1.008	2027.941	248.577	62.758
2	0.224	4.976	1.060	0.840	1770.160	163.9	52.071
3	0.292	4.848	1.377	0.585	681.900	67.15	77.200

Resultados basados en muestras foliares combinadas de 21 repeticiones por suelo.

Considerando en conjunto los suelos del norte y del sur, podemos decir que en ningún caso se han producido los síntomas típicos del FMP, sino pequeñas necrosis y algunos amarillos foliares. En ambos casos, esos síntomas fueron más evidentes para casi todas las variables estudiados en los suelos no esterilizados. Asimismo, también en los dos grupos de suelos existen diferencias significativas para algunos macro y micronutrientes, pero esas diferencias no existen si se considera el factor esterilización/ no esterilización del suelo. Los síntomas no típicos se han dado en suelos no esterilizados y no existen diferencias significativas para todos

los elementos entre suelos esterilizados y no esterilizados, excepto en la interacción Suelo*Tratamiento para el potasio.

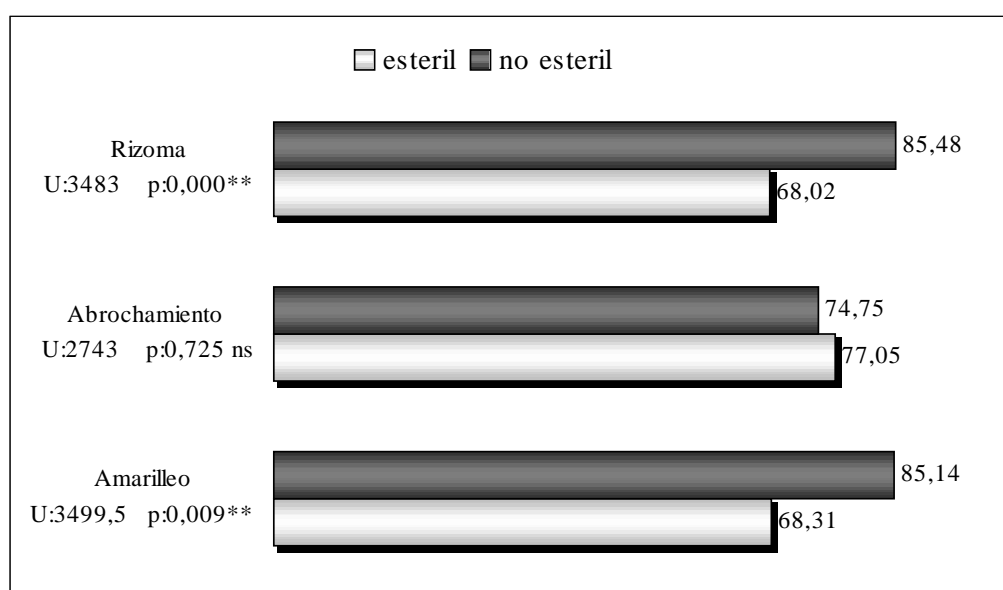
Estos resultados sugieren que en los suelos no esterilizados, pueden haber factores bióticos que podrían influir en que las plantas mostrasen una disminución del vigor de crecimiento y desarrollo -fenómeno asociado al FMP y a otras situaciones de estrés- y en que un mayor número de plantas manifestasen puntos necróticos en el rizoma que podrían corresponder a un inicio de los síntomas de FMP, así como un mayor número de muertes. El hecho de que sólo ocurra cuando el suelo no está esterilizado indica que podría estar implicado algún organismo presente en la microflora del suelo. Por otra parte, estos resultados demuestran que si se tratase de un patógeno similar a FOC, los síntomas se hubieran reproducido del mismo modo que en el suelo 1, procedente de una plantación afectada de MP. Los oscurecimientos vasculares tanto en el punto de inserción de las raíces como los que se extienden hasta el anillo vascular del rizoma observados, podrían estar causados, entre otras, por especies de *Fusarium* como las que se han descrito asociadas a daños por nemátodos (Vovlas *et al.*, 1994) o las citadas para espárrago (Elena y Kranias, 1996). Varias especies de *Fusarium* han sido citadas para los suelos de platanera por Hernández (1997) y como se ha visto en el apartado anterior se aíslan con bastante frecuencia de raíz, rizoma y pseudotallo. Algunas de esas mismas especies produjeron síntomas similares en las pruebas de patogenicidad.

No obstante, tampoco podría excluirse una causa abiótica (Bell, 1980), como lesiones de las raíces contra las paredes de la maceta, estrés por el tamaño reducido de la maceta, efecto de lenta compactación del suelo, etc., problemas habituales en el cultivo en macetas de muchas especies vegetales, o podría tratarse de una interacción entre los dos como describen Trapero Casas (1985) en chick-pea y Blanco (1996); Schippers y Gams (1979) en diferentes patosistemas.

4.2. Ensayo de mejora de la estructura de un suelo mediante la mezcla con “picón”(lapilli volcánico).

En la figura 48 se presentan los valores de severidad de síntomas internos y externos obtenidos.

Como en los ensayos anteriores, en ningún caso se obtuvieron los síntomas típicos de FMP



U:Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: p 0.000 (diferencias altamente significativas); **: 0.000<p<0.050 (diferencias significativas); ns: no significativo p>0.050 (las dos muestras comparadas son iguales).

Fig.48. Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma, acortamiento de entrenudos y amarilleo de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo procedente de la plantación ‘Carmelo Villa’ (C), bajo condiciones de suelo esterilizado y no esterilizado.

Existen diferencias altamente significativas entre los síntomas producidos en suelos esterilizados y los producidos en suelos no esterilizados con $p = 0,000$, para la variable, síntomas en rizoma (fig.48). También existen diferencias significativas entre los síntomas de amarilleo producidos en suelo esterilizado y los producidos en suelos no esterilizados, con $p < 0,009$. No existen diferencias significativas para la variable de acortamiento de entrenudos entre las plantas sembradas en suelos esterilizados y las sembradas en suelos esterilizados con $p > 0,725$ (fig. 48).

Posiblemente sea debido a que esta variable está más relacionada con las bajas temperaturas que con la condición de esterilidad / no esterilidad del suelo, y el ensayo se realizó bajo temperatura de 20-28°C en condiciones de invernadero.

A continuación presentamos los resultados de los síntomas obtenidos en función del factor mezcla de suelo (fig. 49).

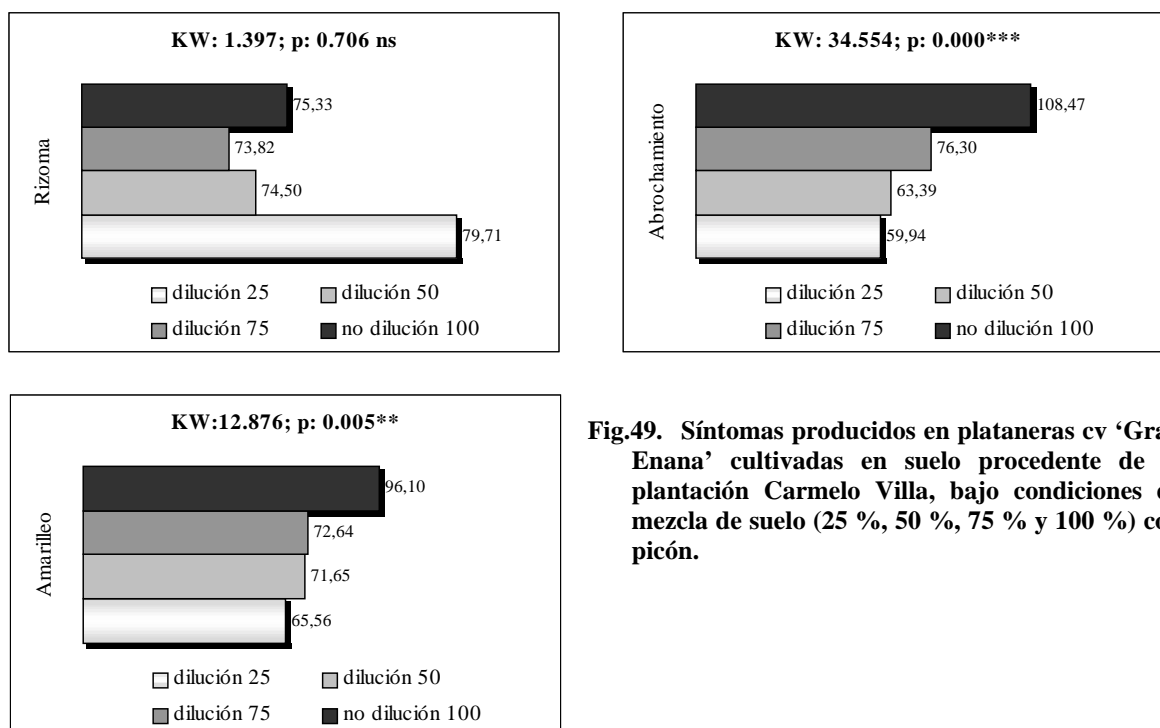


Fig.49. Síntomas producidos en plataneras cv ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo procedente de la plantación Carmelo Villa, bajo condiciones de mezcla de suelo (25 %, 50 %, 75 % y 100 %) con picón.

Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma, acortamiento de entrenudos y amarilleo (de izquierda a derecha). KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruskal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales). Dilución= Mezcla de suelo: 25, 50, 75 y 100 % del suelo.

Existen diferencias significativas en la expresión del amarilleo foliar de las plantas cultivadas en las diferentes mezclas del suelo (fig.49). El suelo sin mezclar es el que presenta valores más elevados de síntomas de amarilleo. Las mezclas de suelos 25, 50 y 75% se comportan similarmente. El valor más bajo de amarilleo se presenta en el suelo diluido al 75%. El suelo sin mezclar presenta los valores más altos de acortamiento de entrenudos, siendo significativamente diferente ($p = 0,000$) del resto de mezclas de suelo (75, 50, 25 %) que se

comportan de forma similar. No existen diferencias significativas entre las diferentes mezclas del suelo para la severidad de síntomas en rizoma (fig. 49).

El factor mezcla del suelo es significativamente diferente para la severidad de síntomas externos (fig.49), siendo más bajos los valores cuando el suelo está sin mezclar y más altos cuando está mezclado al 25%, lo que corrobora la importancia de la estructura del suelo sobre el desarrollo de las plantas citada por Dorel (1993).

Los síntomas aéreos acortamientos de entrenudos y amarilleo se ven más acentuados en las plantas sembradas en los suelos no diluidos indistintamente que estén esterilizados o no. La variable síntomas en rizoma, por el contrario, se ve relacionada con el efecto esterilización del suelo - no esterilización significativamente, siendo la peor combinación 1.4 (no esterilización, 100%), mientras que no lo esta con el efecto mezcla de suelo.

Malcolm (1991) describe como un fenómeno generalizado que en las plantas sometidas a compactación producto de situaciones intermitentes de sequía y encharcamiento de un suelo con elevado contenido en arcillas, se producen heridas y necrosis en las raíces de las plantas.

A continuación se presentan los resultados de las diferentes variables fenológicas estudiadas bajo los diferentes tratamientos y sus interacciones (tabla 46).

Tabla.46. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en mezclas de suelos con diferentes cantidades de picón, de tres muestras del suelo de la plantación comercial “Carmelo Villa” situada en el norte de la isla de Tenerife, en condiciones de mezclas de suelos esterilizadas y no esterilizadas.

ANOVA total	altura	diametro	nh	pfaereo	psaereo	pfraiz	psraiz
esteril	0,692ns	0,365ns	0,024**	0,244ns	0,014**	0,002**	***
repsuelo	***	***	0,060ns	***	0,600ns	0,418ns	0,405ns
dilución	***	***	***	***	***	***	***
repsuelo*esteril	***	***	0,414ns	***	0,057ns	0,419ns	0,439ns
esteril*dilución	***	***	0,189ns	***	***	0,002**	0,048**
repsuelo*dilución	0,066ns	0,283ns	0,193ns	0,014**	0,059ns	0,001**	0,048**
repsuelo*esteril*dilución	0,101ns	0,065ns	0,340ns	0,009**	0,322ns	0,001**	0,008**

ANOVA ***: $p < 0.000$; **: $0.000 < p < 0.050$; ns: no significativo $p > 0.050$. RepSuelo: repeticiones 1, 2, 3; Tratamiento: suelo esterilizado y suelo no esterilizado. Dilución= Mezcla de suelo: 25, 50, 75 y 100 % del suelo.

Todas las variables estudiadas muestran diferencias significativas para el factor mezcla de suelo. Existen diferencias significativas en las variables número de hojas, peso seco aéreo y de

raíz, así como en el peso fresco aéreo para el factor suelo esterilizado / no esterilizado. Se observa que en las variables fenológicas, que el suelo sea no esterilizado es peor que lo sea esterilizado, exceptuando las variables de las raíces (peso fresco y seco) que se ven afectadas negativamente cuando el suelo esta esterilizado. La interacción esterilización*mezcla de suelo es significativa para las variables altura, diámetro, peso fresco y peso seco tanto aéreo como de raíz.

A continuación se desarrolla la separación de medias para el factor mezcla de suelo (tabla 47).

Tabla.47. Valores medios de diferentes variables fenológicas de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife

dilución %	altura	diámetro	nh	pfaereo	psaereo	pfraiz	psraiz
25	32,081 c	30,783 c	10,167 b	113,166 bc	10,730 b	34,625 b	3,975 c
50	31,675 bc	31,136 c	10,050 b	119,145 c	11,103 b	34,548 b	3,587 bc
75	28,894 b	28,308 b	9,636 ab	99,692 b	10,324 b	29,472 b	3,092 ab
100	24,931 a	25,059 a	9,389 a	67,426 a	6,362 a	20,491 a	2,385 a
ANOVA	***	***	***	***	***	***	***

ANOVA ***: $p < 0.000$; **: $0.000 < p < 0.050$; ns: no significativo $p > 0.050$. Mezcla de suelo: 25, 50, 75 y 100 % del suelo. Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p = < 0,050$ según la prueba de rango múltiple Tukey

Cuando los suelos ensayados se encuentran sin mezclar, todas las variables estudiadas se ven reducidas significativamente (tabla 47). Las mezclas de suelos al 25 y 50 % del suelo, mejoran los valores alcanzados por las variables. Los suelos sin mezclar mostraban gran compactación, elevado contenido en arcillas y mal drenaje. Estos resultados indican que la estructura del suelo es un factor del suelo que afecta a las variables de crecimiento de las plantas y que mejorando la estructura de un suelo que contiene inicialmente alto contenido en arcillas, puede mejorarse el desarrollo de las plantas cultivadas en él (tabla 47), aunque se sabe que estas mejoras son casi imposibles de introducir en condiciones de campo (M^a Carmen Cid, comunicación personal). El picón, resulta un elemento inerte que confiere más porosidad y permeabilidad al suelo, evitando o retardando la compactación y por tanto sus consecuencias estresantes para la planta.

A continuación se muestra el comportamiento de las variables estudiadas bajo los diferentes tratamientos y sus interacciones, desarrollando la separación de medias para la interacción de los factores mezcla de suelo* esterilización (tabla 48).

Tabla.48. Resultados del ANOVA para variables fenológicas de plantas del cultivar ‘Gran enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife, para la infección mezcla de suelo por esterilización del suelo.

ANOVA	altura	diametro	nh	pfaereo	psaereo	pfraiz	psraiz
esteril	0,601ns	0,556ns	0,039**	0,240ns	0,016**	0,010**	0,001**
dilución	***	***	***	***	***	***	***
esteril*dilución	***	***	0,184ns	***	***	0,014**	0,072ns

En la siguiente tabla 49 se muestran los valores medios de las variables fenológicas en la interacción mezcla del suelo/ tratamiento de esterilización del suelo.

Tabla.49. Valores medios de diferentes variables fenológicas de plantas del cultivar ‘Gran enana’ en diferentes mezclas de suelos con picón, de un suelo del Norte de Tenerife, para la infección mezcla de suelo por esterilización del suelo.

dilución/esteril	altura	diametro	nh	pfaereo	psaereo	pfraiz	psraiz
1.1	31,519 bcd	30,457 bc	10,429 b	111,999 cd	11,705 c	36,170 d	4,326 c
1.2	28,382 bc	29,191 bc	9,941 ab	95,168 bc	9,509 bc	32,755 bcd	3,477 bc
1.3	29,182 bcd	27,614 b	9,818 ab	96,998 bc	11,809 c	32,895 bcd	3,705 bc
1.4	27,000 ab	27,965 b	9,650 ab	78,822 ab	7,987 b	24,884 b	2,955 b
2.1	32,643 cd	31,110 bc	9,905 ab	114,332 cd	9,756 bc	33,080 cd	3,623 bc
2.2	34,109 d	32,573 c	10,130 b	136,867 d	12,280 c	35,874 d	3,667 bc
2.3	28,750 bc	28,655 b	9,545 ab	101,039 bc	9,581 bc	27,761 bc	2,785 ab
2.4	22,344 a	21,427 a	9,063 a	53,179 a	4,331 a	15,001 a	1,673 a

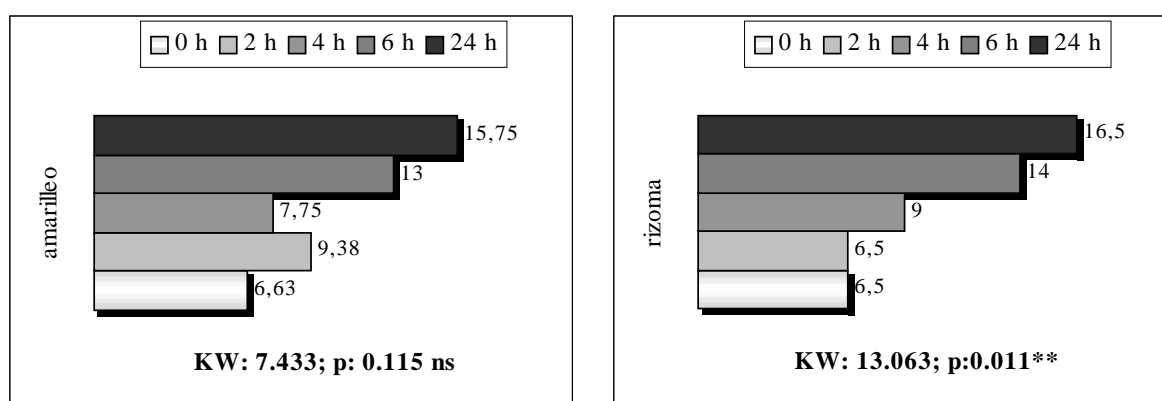
Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple Tukey. ANOVA ***: $p \leq 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Códigos de **Tratamiento** se refieren a 1: esterilización; 2: no esterilizados seguidos de las **Mezclas de suelos del suelo**: 1 (25%), 2 (50%), 3 (75%), 4 (100%).

Es significativa la interacción entre el factor mezcla de suelo y el de esterilidad con p^{***} en las variables altura, diámetro, peso fresco y seco aéreo y en peso fresco de las raíces (tabla 48). Los valores más bajos de todas las variables corresponden a las plantas cultivadas en el suelo no esterilizado que se encuentran sin mezclar, 2.4, siendo significativamente diferente del resto de tratamientos, excepto en la altura que se comporta como el 1.4, suelo sin mezclar esterilizado. Este fenómeno puede ser debido a que al factor mezcla del suelo, o sea su textura

y estructura sea una característica que influya sobre el desarrollo de la planta, más que la microflora que pueda haber en dicho suelo (tabla 49).

4.3. Ensayo de encharcamiento del sustrato durante diferentes tiempos (2, 4, 6 y 24h) en macetas de 5 litros de capacidad.

Como en todos los ensayos anteriores, no se han producido los síntomas típicos de FMP



Medias de la suma de rangos (MSR) de amarilleo foliar y síntomas en rizoma (de izquierda a derecha). KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruskal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: $p < 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Fig.50. Severidad de síntomas de amarilleo y necrosis en rizoma producidos en platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en sustrato tierra/picón bajo condiciones de diferentes tiempos de encharcamiento (2, 4, 6 y 24 h),

Aunque el tratamiento que ha presentado los valores más elevados de amarilleo es el de encharcamiento durante 24 h, y los más bajos, el suelo no encharcado, no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (fig.50).

Se detectaron diferencias significativas entre los tiempos de encharcamiento para pequeñas necrosis del rizoma. Sin embargo no se produjeron los síntomas típicos, quizás para conseguirlo, se necesiten tiempos superiores (encharcamiento permanente) o la interacción con algún agente biótico o abiótico distinto de los estudiados hasta el momento. No obstante, Lahav *et al.* (1999) observó que el encharcamiento por si mismo no producía los síntomas de ‘Yellow Mat’, desorden con síntomas que pueden considerarse similares a los de FMP.

Los efectos de los tiempos de encharcamiento sobre las variables fenológicas se presentan en la tabla 50.

Tabla.50. Efecto de diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h) sobre las variables fenológicas de plataneras cv ‘Gran Enana’.

enchar5l horas	altura	diámetro	nh	n raíces	area foliar
0	56,25 b	79,497 b	16,00 b	93,00 b	7193,70 ab
2	56,25 b	84,778 b	16,25 b	79,00 ab	9898,80 b
4	58,25 b	82,113 b	16,00 b	84,00 ab	9995,00 b
6	55,25 b	83,025 b	16,00 b	81,75 ab	9732,25 ab
24	40,50 a	67,270 a	13,25 a	58,75 a	4933,25 a
ANOVA					
tratamiento	***	***	***	0,031**	0,018**

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h; ‘enchar5l horas’= encharcamiento en macetas de 5 litros de capacidad durante diferentes tiempos en horas; nh= número de hojas; n raíces= número de raíces.

Para todas las variables estudiadas el valor más bajo se obtiene en las plantas sometidas a encharcamiento de 24 h a días alternos, siendo significativamente diferente del resto de tratamientos (tabla 50). El número de raíces resulta ser una variable muy afectada por el aumento del tiempo de encharcamiento, aunque se produce solapamiento entre los efectos del tiempo de encharcamiento, ya que por un lado no existen diferencias entre 24, 6,4 y 2 h y por otro lado por otro tampoco existen entre 0,2,4,y 6 h. Existen diferencias significativas entre los tiempos extremos de 0 y 24 h de encharcamiento (tabla 50).

En la tabla 51 se presentan los resultados para las variables fenológicas estudiadas.

Tabla.51. Efecto de diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h) sobre las variables de peso fresco (pf) y peso seco (ps) en diferentes órganos de plataneras del cultivar ‘Gran Enana’.

enchar5l horas	Pf pseud	Pspseudo	Pf aereoT	PsaereoT	Pf raíz	Ps raíz	Pf aereoT/raíz	Ps aereoT/raíz
0	763,525 b	34,538 ab	1234,907 b	74,720 b	317,242 b	27,327 b	3,944 ab	2,924 a
2	878,587 b	39,993 ab	1356,150 b	83,642 b	273,122 b	18,690 ab	4,970 bc	4,637 ab
4	990,390 b	46,053 b	1528,847 b	90,370 b	261,135 ab	17,205 ab	5,890 c	5,524 b
6	899,280 b	41,200 ab	1396,080 b	83,862 b	254,830 ab	17,625 ab	5,520 c	4,778 b
24	365,235 a	26,222 a	566,820 a	46,073 a	181,755 a	12,230 a	3,123 a	3,896 ab
ANOVA								
tratamiento	***	0,016**	***	***	0,004**	0,034**	***	0,005**

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h

Existen diferencias significativas entre tiempos de encharcamiento para todas las variables estudiadas (tabla 51). Para peso fresco del pseudotallo, peso fresco total y peso seco total, se obtiene un comportamiento similar al observado para altura, diámetro y número de hojas, es decir diferencias entre 24 h y cada uno de los tiempos 0,2,4 y 6 h, que a su vez no presentan diferencias entre sí. El peso fresco y el peso seco de la raíz tienen un comportamiento similar al número de raíces, habiendo diferencias entre los valores extremos, pero también solapamientos.

A continuación se presentan los resultados de los análisis de micro y macronutrientes en el pseudotallo de las plantas utilizadas en el ensayo.

Tabla.52. Valores medios de micro y macronutrientes del pseudotallo de plataneras del cultivar “Gran Enana” sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).

enchar horas	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
	análisis del pseudotallo								
0	2,375 b	0,448 c	9,067 b	0,758 c	0,468 a	1884,8 ab	143,0 a	126,0 c	69,75 a
2	2,388 b	0,345 b	9,555 b	0,695 bc	0,483 a	2185,5 ab	107,3 a	103,0 bc	63,5 a
4	2,362 b	0,328 b	9,313 b	0,572 ab	0,345 a	2248,3 b	141,3 a	46,5 a	70,8 a
6	2,600 b	0,305 b	9,163 b	0,515 a	0,342 a	2277,5 b	139,5 a	65,5 ab	73,0 a
24	1,725 a	0,203 a	4,573 a	0,428 a	0,238 a	1607,8 a	101,0 a	43,0 a	78,8 a
ANOVA	***	***	***	***	0,052ns	0,022**	0,337ns	0,001**	0,454ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h.

Los análisis realizados para evaluar el estado nutricional de las plantas en cada uno de los diferentes tratamientos muestran que en el caso del pseudotallo, todos los elementos se ven afectados negativamente por el encharcamiento de 24 h (tabla 52). En general el valor de cada elemento se reduce cuando aumenta el tiempo de encharcamiento excepto en el caso del Mn, cuyos valores aumentan cuanto más tiempo de encharcamiento se aplica sobre las plantas. El valor más elevado de todos los elementos corresponde a los tratamientos control y 2h de encharcamiento. Los elementos Mg, Fe y Mn no presentan diferencias significativas en pseudotallo. Resultados similares fueron obtenidos por Dorel (1993).

En la tabla 53 se presentan los resultados de los análisis de micro y macronutrientes del nervio foliar.

Tabla.53. Valores medios de micro y macronutrientes del nervio foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).

enchar horas	análisis del nervio foliar								
	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
0	1,825 b	0,475 c	9,995 b	0,952 a	0,340 a	1045,0 a	49,75 a	18,00 a	76,50 a
2	1,800 b	0,410 b	10,482 b	0,860 a	0,325 a	1054,0 a	58,00 a	23,75 a	71,50 a
4	1,800 b	0,420 bc	10,752 b	0,900 a	0,360 a	1306,3 ab	64,50 a	26,00 a	87,5 a
6	1,838 b	0,390 b	10,750 b	0,870 a	0,290 a	1326,8 ab	61,25 a	21,50 a	90,50 a
24	1,238 a	0,212 a	6,772 a	0,848 a	0,315 a	1506,3 b	49,50 a	24,50 a	148,75 a
ANOVA	***	***	***	0,717ns	0,592ns	0,006**	0,229ns	0,212ns	***

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h.

En el caso del nervio foliar (tabla 53), los elementos N, P, y K mantienen la tendencia de menor valor a más tiempo de encharcamiento existiendo diferencias significativas entre los tratamientos. No existen diferencias significativas para el Ca, Mg, Fe y Zn, aunque la tendencia es la misma que para los anteriores. Resaltar que para el Na y Mn la tendencia se invierte, a mayor tiempo de encharcamiento aumentan los valores de estos elementos en este órgano existiendo diferencias significativas entre tiempos de encharcamiento. Datos similares en cultivo de plataneras adultas cultivadas en condiciones de campo fueron descritos por Dorel (1993).

A continuación se presentan los resultados de los análisis foliares de la última hoja emitida o “cigarro puro” (tabla 54).

Tabla.54. Valores medios de micro y macronutrientes de “cigarro puro” (última hoja emitida sin desarrollar) de las plataneras del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).

enchar horas	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
	análisis del puro foliar								
0	3,450 a	0,467 b	6,74 a	0,16 a	0,34 a	525,75 a	98,50 b	40,75 c	66,50 a
2	3,317 a	0,397 ab	6,84 a	0,14 a	0,35 a	594,67 a	84,00 b	34,33 bc	53,67 a
4	3,367 a	0,410 b	6,68 a	0,15 a	0,28 a	568,33 a	86,00 b	26,67 ab	58,33 a
6	3,633 a	0,407 b	6,94 a	0,15 a	0,34 a	621,00 a	94,00 b	30,00 bc	67,33 a
24	2,017 a	0,277 a	4,95 a	0,14 a	0,22 a	542,00 a	53,33 a	14,67 a	79,67 a
ANOVA	0,184ns	0,004**	0,083ns	0,947 ns	0,054ns	0,451ns	0,003**	0,001**	0,191ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h.

En el análisis del “cigarro puro” (tabla 54), se mantiene la tendencia de que a mayor tiempo de encharcamiento, menor es el contenido en N, P, K y Fe pero sólo existen diferencias significativas para el P, Fe y Zn. No existen diferencias significativas para el Ca, Mg y Na. El Mn continua con la tendencia de que a más tiempo de encharcamiento, mayor contenido, pero en este caso no existen diferencias significativas entre tratamientos.

En la tabla siguiente se presentan los resultados para el análisis en macro y micronutrientes en el peciolo foliar (tabla 55).

Tabla.55. Valores medios de micro y macronutrientes del peciolo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).

enchar horas	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	K/Ca+Mg
0	1,825 b	0,357 c	10,313 b	0,830 b	0,405 a	1658,75 a	44,75 a	15,00 a	75,75 b	8,748 a
2	1,813 b	0,257 b	10,505 b	0,645 ab	0,287 a	1772,25 a	54,00 a	14,25 a	71,75 ab	11,325 a
4	1,950 b	0,262 b	10,533 b	0,643 ab	0,270 a	1454,50 a	54,75 a	15,25 a	86,50 a	11,596 a
6	1,888 b	0,260 b	10,543 b	0,753 ab	0,255 a	2371,25 a	57,75 a	13,50 a	93,25 a	10,584 a
24	1,338 a	0,147 a	5,828 a	0,600 a	0,165 a	1664,25 a	48,25 a	14,50 a	130,00 a	8,077 a
ANOVA										
tratamiento	***	***	***	0,024**	0,215ns	0,345ns	0,497ns	0,744ns	***	0,074ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5l de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h.

En el peciolo (tabla 55), existen diferencias significativas entre tratamientos para N, P, K y Ca. A mayor tiempo de encharcamiento, menor es el contenido de los nutrientes excepto para el

Mn, existiendo diferencias significativas entre el tratamiento de 24 h, donde alcanza el valor más alto, y el resto de los tratamientos. La relación K/Ca+Mg no es significativamente diferente entre tratamientos. Los valores para el Ca son relativamente bajos en esta hoja “puro” respecto a los valores alcanzados en los otros órganos analizados, posiblemente debido a que esta hoja es una hoja en crecimiento activo aún no desarrollada.

En la tabla 56 se presentan los resultados para el limbo foliar.

Tabla.56. Valores medios de micro y macronutrientes de limbo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tiempos de encharcamiento (0, 2, 4, 6 y 24 h).

enchar horas	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
	análisis del limbo foliar								
0	3,662 a	0,378 c	4,912 b	0,982 ab	0,520 ab	614,75 a	132,75 a	25,00 a	127,75 a
2	3,725 a	0,340 b	4,935 b	1,072 ab	0,555 b	614,50 a	116,00 a	27,25 a	164,25 ab
4	3,750 a	0,328 bc	4,887 b	1,160 b	0,595 b	664,25 a	128,25 a	25,50 a	237,75 c
6	3,800 a	0,350 bc	4,662 b	1,102 ab	0,583 b	1769,25 b	138,50 a	28,75 a	210,50 bc
24	3,487 a	0,215 a	3,823 a	0,840 a	0,392 a	1736,00 b	110,50 a	29,75 a	165,50 ab
ANOVA	0,084ns	***	0,001**	0,038**	0,003**	***	0,133ns	0,259ns	***

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo realizado en macetas de 5 litros de capacidad. Tratamientos de encharcamiento durante 0, 2, 4, 6 y 24 h.

Por último en el limbo foliar (tabla 56) la tendencia es que a mayor tiempo de encharcamiento, menores son los valores de los nutrientes. Esta relación se mantiene para el N, P, K, Ca, Mg y Fe pero sólo es significativamente diferente para el P, K, Ca y el Mg. El Na y el Zn se comportan al revés en este órgano, a mayor tiempo de encharcamiento, mayores son los valores alcanzados de estos elementos, pero sólo es significativamente diferente para el Na. El Mn también mantiene esta tendencia pero sólo para los tiempos 2, 4 y 6 horas, ya que en el tratamiento de 24h disminuye significativamente.

Respecto a los valores de referencia para análisis foliares del limbo, en todos los tratamientos se observó un exceso de N (3.4-3.8%). La tendencia de este elemento es aumentar cuanto mayor es el tiempo de encharcamiento, aunque en el tratamiento de 24 h, disminuye sin ser significativamente diferente al resto de tratamientos. En el caso del P los tratamientos 0, 2, 4 y 6 h de encharcamiento manifiestan un exceso (0,32-0,37 %). En este caso el encharcamiento durante 24 h ha reducido el P hasta valores adecuados (0.22%). Con el K, ocurre lo mismo que

con el P. En el caso del Ca, Na, Fe, Zn y Mn todos los tratamientos se encuentran en un rango adecuado del mismo modo que el Mg, aunque este elemento puede decirse que se encuentra ligeramente por encima del rango medio en los tratamientos de 0, 2, 4 y 6 horas de encharcamiento.

En resumen, para el pseudotallo, nervio foliar y peciolo foliar existen diferencias significativas entre tratamientos para N, P, y K. Estos resultados podrían explicarse teniendo en cuenta el abono soluble empleado, ya que contenía valores elevados de N:P:K para plantas jóvenes. Pese a que en el abono, no se incorporó una corrección para calcio ni para microelementos, no se han obtenido niveles bajos ni síntomas de deficiencias en ningún caso.

Para el Ca, un macronutriente muy sensible al encharcamiento, se han encontrado diferencias en pseudotallo, peciolo foliar y limbo foliar.

En el caso del Na, otro elemento sensible al encharcamiento, se observan diferencias significativas para el pseudotallo, nervio foliar y limbo foliar. El Fe sólo presenta diferencias significativas en el “cigarro puro”. El Zinc, presenta diferencias significativas en el pseudotallo y el “cigarro puro”. El Mn presenta diferencias significativas para el limbo foliar y el peciolo.

Las variables relacionadas con la raíz son las más afectadas por el encharcamiento aunque 24 h es igual a 6 a 4 y a 2 y por otra parte 0 h es igual a 2, 4 y 6 h. A mayor tiempo de encharcamiento menores son todas las variables fenológicas estudiadas. Los tiempos establecidos de encharcamiento intermedios (2, 4 y 6 h) no son rangos adecuados para ver el efecto del encharcamiento en la platanera, pues no existen diferencias significativas entre ellos. No obstante, en la mayoría de los órganos estudiados los análisis foliares muestran que al menos para NPK, existen diferencias significativas, con los valores más bajos para 24 h, en el que parece que comienzan a darse bloqueos nutricionales que se reflejan con valores menores, aunque no llegan a ser extremos para que se manifiesten en forma de deficiencia. Este efecto es significativo para el P, independientemente del órgano que se analice.

Aunque las variables fenológicas de la platanera son sensibles a tiempos de encharcamiento superiores a 24 h, este tiempo no es letal, presumiblemente por la capacidad de adaptación de la platanera, utilizando estrategias de adaptación como incrementando el volumen de aerenquima lo que permite que las raíces reciban O₂ desde las hojas (Aguilar *et al.*, 1999).

De este ensayo se desprende que se deben fijar tiempos de encharcamiento mayores de 1 día, y ver cual es el límite soportable por la planta, y si este límite conduce a manifestaciones de síntomas asociados al FMP por sí sólo. Se puede concluir que en sustrato de picón (inerte y esterilizado), con diferentes tiempos de encharcamiento (0-24h), y con un abono sin correcciones para Ca ni micronutrientes no se reproducen los síntomas asociados al FMP.

4.4. Ensayo de encharcamiento permanente e intermitente del sustrato turba:picón (70:30) en contenedores de 50 litros de capacidad.

Como en todos los ensayos descritos hasta el momento, no se obtuvieron los síntomas típicos, aunque se observaron algunas decoloraciones en rizoma más parecidas a esos síntomas. El análisis de la severidad de los síntomas en rizoma se representa en la fig 51.

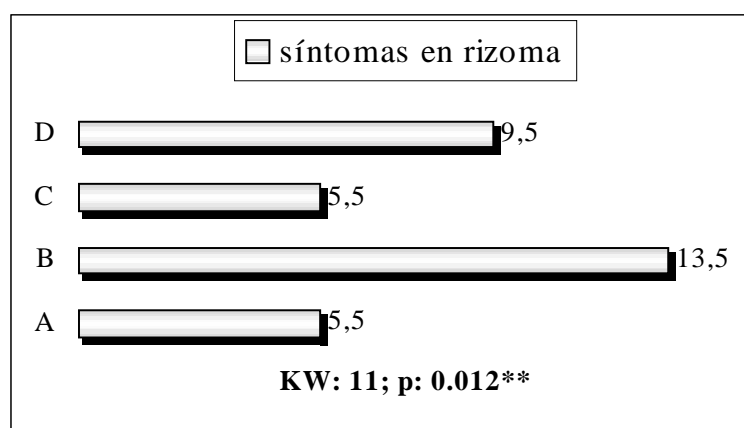


Fig.51. Severidad de síntomas en rizoma de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en sustrato turba/picón (70:30) bajo condiciones de diferentes tiempos de encharcamiento.

(A: 1/2 maceta encharcada total (17.5 cm); B: encharcamiento total (34 cm); C: control; D: encharcamiento 5 días/ 2 días aireación). Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma. KW: Prueba no paramétrica múltiple de Kruscal Wallis que lleva asociada una probabilidad donde ***: p 0.000 (diferencias altamente significativas); **: 0.000<p<0.050 (diferencias significativas); ns: no significativo p >0.050 (las dos muestras comparadas son iguales).

Existen diferencias significativas entre tratamientos, los valores más altos corresponden al tratamiento B, que es el que ha presentado unas decoloraciones en rizoma más similares a las clásicas de FMP, sin ser iguales (fig. 51), existiendo diferencias significativas con el resto de tratamientos. Los tratamientos A y el C son los que han presentado ausencia o menor severidad de síntomas en rizoma, mientras que el tratamiento B seguido del D han presentado mayor intensidad de síntomas según la escala INIBAP.

En la tabla 57 se presentan los resultados del ANOVA para las variables fenológicas estudiadas.

Tabla.57. Resultados del ANOVA y valores medios de diferentes variables fenológicas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ para el factor tratamiento de encharcamiento (A, B, C y D)*

enchar50l	dif altura	dif diametro	dif nh	area foliar
A	89,75 b	172,195 b	10,00 ab	8246,8 b
B	40,25 a	98,186 a	6,00 a	3980,0 a
C	84,75 ab	162,772 b	11,75 b	7267,1 b
D	62,25 ab	111,877 a	6,75 a	4727,4 a
ANOVA				
tratamiento	0,042**	***	0,011**	***
fila	0,939ns	0,413ns	0,614ns	0,036**
columna	0,418ns	0,196ns	0,064ns	0,068ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad. *Tratamientos A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); C: control; D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación.

Para el diámetro y para el área foliar los tratamientos son iguales dos a dos : A=C y B=D Para la altura y el número de hojas, existen solapamientos entre tratamientos Para ninguna de las variables existen diferencias significativas entre filas y columnas salvo para área foliar dentro de filas (tabla 57)

En la tabla 58 se presentan los resultados para las variables pesos frescos de pseudotallo, hoja rizoma y raíz de las plantas sometidas a los distintos tratamientos de encharcamiento.

Tabla.58. Efecto de diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) sobre las variables de peso fresco (pf) y peso seco (ps) en diferentes organos de platanera del cultivar ‘Gran Enana’

enchar50l	Pf pseud	Pf hoja	Pf rizoma	Pf raíz	Ps raíz
A	8675 b	3500 b	3399,75 b	1613,49 b	145,015 b
B	2422 a	1079 a	1325,99 a	625,93 a	59,608 a
C	8175 b	2850 b	2315,65 ab	1127,22 ab	116,593 ab
D	3450 a	1650 a	1228,25 a	725,05 a	68,260 ab
ANOVA					
tratamiento	***	***	***	***	0,010**
fila	0,132ns	0,065ns	0,022**	0,626ns	0,342ns
columna	0,198ns	0,158ns	0,149ns	0,051ns	0,037**

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad. *Tratamientos A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); C: control; D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación.

Para todas las variables fenológicas estudiadas se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos y no existen diferencias significativas para filas ni para columnas, salvo para el peso seco de raíz dentro de columnas (tabla 57). Para peso fresco del pseudotallo y peso fresco de hoja los tratamientos son iguales dos a dos : A=C y B=D. En el resto de las variables, los valores más altos se obtienen en A y los más bajos en B.

En las variables de peso fresco y aéreo de los diferentes órganos (tabla 58) se mantiene la tendencia de los tratamientos anteriormente descritas para las variables fenológicas de altura, número de hojas y número de raíces sanas y total (tabla 58). El peor tratamiento (B) continua siendo significativamente diferente al mejor (A). El tratamiento C se comporta como el A y el tratamiento D como B sin existir diferencias significativas, excepto en la variable peso fresco (pf) de rizoma, en el que el control (C) se comporta como uno de los peores siendo significativamente diferente del tratamiento A, y en las variables peso seco (ps) de rizoma y peso seco (ps) de raíz no existen diferencias entre tratamientos.

A continuación se presentan los resultados para las variables referentes a la raíz de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos de encharcamiento (tabla 59).

Tabla.59. Efecto de diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) sobre variables relacionadas con raíces de platanera del cultivar ‘Gran Enana’.

enchar50l	n raíces T	n raíces sanas	n puntas lesionadas	n ramif. sanas	n ramif lesionadas	Long max raiz
A	303,00 b	207,25 b	94,00	4,333	19,333	87,175 b
B	168,00 a	43,25 a	124,75	3,000	27,000	26,875 a
C	253,75 ab	205,75 b	48,00	7,333	4,333	76,625 b
D	196,25 ab	104,25 a	92,00	4,667	20,667	39,175 a
ANOVA						
tratamiento	0,013**	***	0,084ns	0,743ns	0,086ns	0,001**
fila	0,759ns	0,933ns	0,689ns	0,681ns	0,089ns	0,858ns
columna	0,596ns	0,971ns	0,505ns	0,120ns	0,478ns	0,994ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad. *Tratamientos A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); C: control; D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación.

Existen diferencias significativas entre tratamientos para las variables número de raíces sanas, número de raíces totales y longitud media máxima de las 5 raíces más largas de cada planta

(tabla 59). Como en otras variable estudiadas, los valores más altos corresponde al tratamiento A y los más bajos al tratamiento B.

A continuación, en tabla 60 se presentan los resultados de los análisis foliares para el limbo foliar.

Tabla.60. Análisis de macro y micronutrientes en el limbo foliar de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ sometidas a diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) cultivadas en macetas de 50 l de capacidad en sustrato turba:picón (70:30).

análisis del limbo foliar										
enchar 50l	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	K/Ca+Mg
A	3,45 a	0,28 a	4,06 a	0,74 a	0,52 b	518,50 a	94,25 a	16,75 a	328,75 a	3,27 a
B	2,11 b	0,22 a	4,52 ab	0,68 a	0,44 ab	577,75 a	105,50 a	19,75 a	351,75 a	4,17 a
C	3,21 a	0,30 a	4,79 b	0,70 a	0,50 ab	986,25 a	106,50 ab	17,50 a	374,00 a	4,05 a
D	3,29 a	0,31 a	4,72 a	0,64 a	0,43 a	639,25 a	131,25 b	19,50 a	448,75 a	4,57 a
ANOVA										
tratamiento	0,006**	0,059ns	0,006**	0,885ns	0,021**	0,277ns	0,007**	0,725ns	0,492ns	0,113ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad. *Tratamientos A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); C: control; D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación.

Los valores más altos se han obtenido en los tratamientos A y C, exceptuando el microelemento Fe, cuyo comportamiento es inverso, ya que a mayor tiempo de encharcamiento, mayor es el valor alcanzado en el limbo foliar. Existen diferencias significativas entre tratamientos para la composición en N, K, Mg y Fe (tabla 60). Contrariamente a lo ocurrido en el ensayo anterior en macetas de 5 litros de capacidad, no se han obtenido diferencias para Ca ni para Na. Respecto a los valores de referencia en limbo, el nitrógeno se encuentra en los valores adecuados sólo en el peor tratamiento (B) ya que este provocó una reducción en contenido de N respecto al resto de tratamientos que presentaron exceso de N de forma significativamente diferente. La tendencia de que a más tiempo de encharcamiento sin aireación, menor es el valor alcanzado de los nutrientes en limbo foliar, se ha mantenido también en el resto de elementos analizados. Para los elementos P, Ca Na, Zn, Mn y la relación K/Ca+Mg no existen diferencias significativas entre tratamientos.

En la siguiente tabla 61, se muestran los resultados para los análisis de nutrientes en peciolo.

Tabla.61. Análisis de macro y micronutrientes en el pecíolo foliar de plantas de platanera del cultivar 'Gran Enana' sometidas a diferentes tratamientos de encharcamiento (A, B, C y D) cultivadas en macetas de 50 litros de capacidad en sustrato turba:picón (70:30).

análisis del pecíolo foliar										
enchar 50l	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	K/Ca+Mg
A	0,83 a	0,38 a	6,89 a	0,61 a	0,35 ab	345,0 a	30,5 a	14,5 a	174,5 a	7,24 a
B	0,53 a	0,15 a	9,82 a	0,57 a	0,23 a	4389,0 a	70,0 b	14,0 a	148,0 a	11,43 a
C	1,40 a	0,39 a	8,45 a	0,63 a	0,39 b	892,0 a	34,5 a	15,5 a	222,5 a	8,21 a
D	1,00 a	0,37 a	8,06 a	0,50 a	0,25 ab	843,5 a	35,5 a	17,0 a	224,0 a	10,77 a
ANOVA										
tratamiento	0,394ns	0,311ns	0,874ns	0,804ns	0,036**	0,511ns	0,003**	0,545ns	0,424ns	0,430ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad. *Tratamientos A: encharcamiento intermitente (5 días/ 2 días aireación) hasta la mitad de la maceta (17,5 cm); B: encharcamiento permanente total (34 cm); C: control; D: encharcamiento total (34 cm) 5 días/ 2 días aireación.

Sólo existen diferencias significativas entre tratamientos para los elementos Mg y Fe. En general, la tendencia del Mg se mantiene como el resto de nutrientes, a peores condiciones, menor es el valor alcanzado. El Fe mantiene la tendencia inversa al resto de elementos, a peores condiciones mayor es su valor alcanzado en el pecíolo (tabla 61).

El P, se encuentra en valores adecuados en el tratamiento B, pero en exceso en los tratamientos A, C y D. El K se encuentra en exceso en todos los tratamientos, debido posiblemente al abonado realizado rico en este elemento y a su acumulación en los tratamientos sin drenaje. El Ca se encuentra en los niveles adecuados en el tratamiento A, y en bajos niveles en el resto de tratamientos, posiblemente debido a que el abonado realizado no lo contenía. El Mg, Na, Fe, Zn y Mn se encuentran en los valores adecuados en todos los tratamientos. La relación K/Ca+Mg no es significativamente diferente entre tratamientos.

4.5. Ensayo de simulación en condiciones controladas de compactación del suelo y encharcamiento intermitente.

Los síntomas típicos de FMP que incluyen decoloración vascular en rizoma, sólo se obtuvieron en una de las plantas que también presentó síntomas de colapso y muerte. Como en anteriores ensayos, en el resto de las plantas sólo se observaron algunos puntos necróticos en la zona de inserción de las raíces y leves oscurecimientos vasculares en zonas próximas a esas necrosis.

Tabla.62. Síntomas en rizoma de plantas de platanera de cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo esterilizado y no esterilizado, sometido a encharcamiento y compactación.

tratamientos	muestras	Síntoma en rizoma	
		Suma de rangos	media suma de rangos
encharcadas	28	795,5	28,4
no encharcadas	28	800,5	28,6
Mann-Whitney U	389,5	p 0,938 ns	
compactadas	28	798	28,5
no compactadas	28	798	28,5
Mann-Whitney U	392	p 1,000 ns	
tierra esteril	28	714	25,5
tierra no esteril	28	882	31,5
Mann-Whitney U	308	p 0,010 **	

U: Prueba no paramétrica simple de Mann-Whitney U que lleva asociada una probabilidad donde ***: p 0.000 (diferencias altamente significativas); **: 0.000<p<0.050 (diferencias significativas); ns: no significativo p >0.050 (las dos muestras comparadas son iguales). Medias de la suma de rangos (MSR) de los síntomas en rizoma. Encharcamiento intermitente (Ciclo 1 semana): Riego (600 cc/día) con llave cerrada (4d) Capa freática alta y Con llave abierta (3d) sin riego. Se utilizaron macetas de 1.7 l de capacidad, en las que siguiendo la metodología habitual se consiguieron 2 valores de densidad aparente para simular la compactación: 1500 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 0.88 \text{ g/ml}$; 1800 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 1.06 \text{ g/ml}$

Como puede observarse (tabla 62), sólo se obtuvieron diferencias significativas para el factor suelo esterilizado/ suelo no esterilizado, siendo mayor el número de plantas con síntomas en el tratamiento de suelo no esterilizado. Este hecho sugiere la existencia de una microflora presente en el suelo no esterilizado, que procedía de una plantación del norte de Tenerife afectada de FMP. Los síntomas no típicos, podrían corresponder a zonas de inserción de raíces muertas, que pueden ser colonizados por algunas especies de *Fusarium*, como las comúnmente encontradas en nuestros aislamientos. La única planta que presentó síntomas prácticamente idénticos a los observados en campo estaba en suelo no esterilizado y compactado (0.88

g/cm³). Malcolm y Lewis (1991) describen heridas en las raicillas y necrosis en las raíces de las plantas sometidas a compactación producto de situaciones intermitentes de sequía y encharcamiento de un suelo con elevado contenido en arcillas. La compactación afecta negativamente a varias variables fenológicas y ha sido postulada como uno de los factores abióticos implicados en el FMP y en ‘*Yellow Mat*’ (Deacon *et al.*, 1985); (Reinking, 1926) citado por Lahav *et al.* (1999). En cuanto al factor encharcamiento, nuestros resultados coinciden con lo citado por Lahav *et al.* (1999), quien comentó que el encharcamiento por si mismo no producía los síntomas del “*Yellow Mat*”, desorden aparentemente similar a al FMP

Tabla.63. Resultados del ANOVA y valores medios de las variables fenológicas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelos esterilizados y no esterilizados bajo condiciones de encharcamiento intermitente y compactación.

Tratamientos	dif i-f altura	f i-f diamet	nh	n raíces
Esterilizado	44,304 b	45,638 a	19,357 a	60,286 b
No esterilizo	38,625 a	42,972 a	18,839 a	51,292 a
ANOVA. Esteril.1	0,006**	0,064ns	0,153ns	0,023**
Encharcado	39,071 a	45,573 a	19,375 a	67,250 b
No encharcado	43,857 b	43,037 a	18,821 a	44,327 a
ANOVA. Encharcamiento.2	0,019**	0,078ns	0,127ns	***
Compactación 1500 g	42,500 a	46,481 b	19,554 b	59,435 a
Compactación 1800 g	40,429 a	42,129 a	18,643 a	52,143 a
ANOVA. Compactación.3	0,300ns	0,003**	0,014**	0,063ns
ANOVA. Interacciones				
1*2	0,578ns	0,004**	0,036**	0,618ns
1*3	0,928ns	0,629ns	0,518ns	0,657ns
2*3	0,858ns	0,944ns	0,727ns	0,471ns
1*2*3*	0,401ns	0,293ns	0,881ns	0,137ns

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Ensayo diseñado en cuadrado latino realizado en macetas de 50 l de capacidad Encharcamiento intermitente (Ciclo 1 semana): Riego (600 cc/día) con llave cerrada (4d) Capa freática alta y Con llave abierta (3d) sin riego. Se utilizaron macetas de 1.7 l de capacidad, en las que siguiendo la metodología habitual se consiguieron 2 valores de densidad aparente para simular la compactación:: 1500 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 0.88 \text{ g/ml}$; 1800 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 1.06 \text{ g/ml}$

Para el factor suelo **esterilizado / suelo no esterilizado**, existen diferencias significativas para altura ($p < 0.006$) y para número de raíces (tabla 63). Las plantas que se encontraban en condiciones de suelo esterilizado alcanzaban mayor altura y mayor número de raíces que las plantas que se encontraban sembradas en suelos no esterilizados, existiendo diferencias significativas. Aunque el “vacío biológico” ha sido citado como negativo, también podría

ocurrir que la microflora de este suelo sea en conjunto más perjudicial que beneficiosa, lo que explicaría los resultados obtenidos (Troelstra *et al.*, 2001).

La misma tendencia del factor suelo esterilizado / no esterilizado se observa para el tratamiento **compactación** (tabla 63), cuanto más compactado está el suelo, menores son los valores alcanzados por todas las variables, siendo significativamente diferentes para las variables diámetro ($p < 0.003$) y número de hojas emitidas. Reducciones en estas variables también fueron observadas en platanera por Dorel (1990; 1993). El número de raíces no presentó diferencias significativas, pero los valores más altos corresponden a la compactación más baja.

En el caso del factor **encharcamiento** del suelo, se observan diferencias significativas para las variables altura y número de raíces. Se observa una disminución en la altura de las plantas que se encontraban en suelo encharcado respecto a las que se encontraban en suelo no encharcado ($p < 0.005$). Sin embargo el número de raíces aumenta en el suelo encharcado ($p < 0.005$). El mayor número de raíces en el suelo encharcado podría explicarse por una mayor emisión para compensar las necrosadas y porque en el suelo no encharcado la compactación fue posiblemente mayor. Disminuciones en altura y en otras variables fenológicas asociadas a la compactación han sido citadas para platanera por Dorel (1993). El número de hojas y el diámetro no presentaron diferencias significativas en las sucesivas observaciones, excepto en la última del diámetro.

El número de raíces no fue significativamente diferente para ninguna de las **interacciones** (tabla 63). En la combinación suelo no encharcado* suelo no esterilizado * compactación 1500, una de las plantas presentó colapso de la hoja central y muerte, expresando en grado máximo los síntomas característicos de FMP en pseudotallo y rizoma. De esta planta se aislaron predominantemente especies de *Fusarium* (fig 55, 56).

Las variables diámetro y número de hojas presentaron diferencias significativas para la **interacción encharcamiento/ no encharcamiento * suelo esterilizado / suelo no esterilizado**, $p \leq 0.004$. que se desarrollan en la siguiente tabla 64 y fig.52. Los resultados muestran que la combinación de suelo no esterilizado * suelo no encharcado fue la peor.

En la tabla 64, se presentan los valores de la interacción encharcamiento por esterilización del suelo.

Tabla.64. Valores medios del diámetro del pseudotallo y emisión de n° de hojas en platanera del cultivar ‘Gran Enana’ bajo el efecto de la interacción del tratamiento encharcamiento con esterilización del sustrato tierra:picón (70:30).

Interacción 1*2	diametro	nh
Esteril*Encharcado	44,769 ab	19,250 ab
Esteril*No Encharcado	46,506 b	19,464 ab
No esteril*Encharcado	46,376 b	19,500 b
No esteril*No Encharcado	39,568 a	18,179 a
ANOVA	0,004**	0,036**

Las medias que comparten la misma letra no son significativamente diferentes, $p \leq 0,050$ según la prueba de rango múltiple de Tukey. ANOVA ***: $p < 0,000$; **: $0,000 < p < 0,050$; ns: no significativo $p > 0,050$. Encharcamiento intermitente (Ciclo 1 semana): Riego (600 cc/día) con llave cerrada ➡ (4d) Capa freática alta y Con llave abierta ➡ (3d) sin riego. Se utilizaron macetas de 1.7 l de capacidad, en las que siguiendo la metodología habitual se consiguieron 2 valores de densidad aparente para simular la compactación:: 1500 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 0.88 \text{ g/ml}$; 1800 g de suelo/ 1700 ml: $\rho = 1.06 \text{ g/ml}$

Para el diámetro, en suelo encharcado los valores son iguales en suelo esterilizado que en no esterilizado, mientras que en suelo no encharcado, los valores en no esterilizados son inferiores (tabla 64). Este resultado podría explicarse por la posible hipoxia producida en suelo encharcado, que inhibiría el desarrollo microorganismos potencialmente perjudiciales.

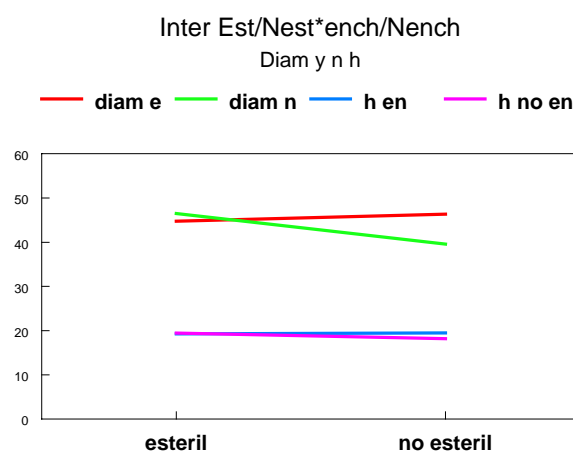


Fig.52. Interacción de los factores suelo esterilizado / No esterilizado * suelo encharcado / no encharcado.

En la fig. 52 se observa gráficamente las interacciones. Como puede apreciarse, tanto para el diámetro como para el número de hojas no existen diferencias significativas entre plantas encharcadas y no encharcadas cuando el suelo esta esterilizado y sí existen diferencias

significativas cuando el suelo no está esterilizado (fig. 52). Los valores más bajos para las variables diámetro y número de hojas, que presentan una interacción significativa entre los tratamientos esterilización y encharcamiento del suelo (1*2), se obtienen para la interacción suelo no esterilizado por suelo no encharcado (tabla 64).

A continuación se muestra la evolución del pH y conductividad eléctrica de la solución de encharcamiento (fig. 53).

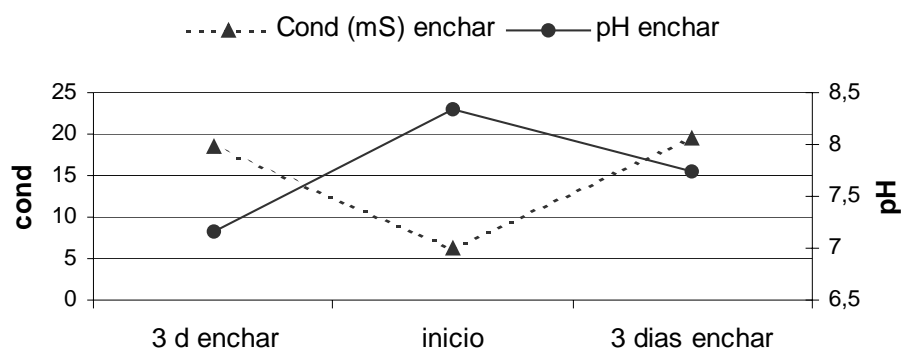


Fig.53. Evolución del pH y de la conductividad del agua de drenaje en un ciclo de 3 d de encharcamiento/ 4 días de drenaje /3 días de encharcamiento.

Como puede observarse en la figura 50, el pH del agua de riego a los 3 días de encharcamiento tiende a disminuir y la conductividad eléctrica a aumentar. Estas variaciones se han descrito bajo situaciones de estrés por Álvarez *et al.* (1995), Grimaldi (1986), Drew *et al.* (1979), Eckstein y Robinson (1996) y Ke (1979).

En las condiciones ensayadas sólo se ha conseguido reproducir síntomas en el tratamiento suelo compactado*suelo no encharcado* suelo no esterilizado (fig. 55, y 56). Estos resultados sugieren que la microflora presente en el suelo, perteneciente al género *Fusarium* en su mayoría, o la combinación de ésta con otro rango o tipo de factores abióticos, pueda tener un papel en la expresión de síntomas del FMP bajo ciertas condiciones de estrés, aunque no se puede descartar un origen fisiológico o nutricional inducido por dichas situaciones. Los valores foliares indican que no existe ninguna deficiencia asociada a la expresión de los síntomas observados aunque valores elevados de K y bajos de Calcio y en otros casos valores bajos de N han sido encontrados en algunos órganos analizados. En cebada bajo encharcamiento, Drew *et al.* (1979) encontraron niveles bajos de nitrógeno. Valores bajos de

calcio han sido asociados a salinidad en tomate por diferentes autores Adams *et al.*, (1989) y por Halperin *et al.*, (1997). Chillet *et al.*, (2000) encontraron una asociación entre elevados valores foliares de Mn y bajos de Ca con la susceptibilidad de la platanera a *Colletotrichum musae*.



Figura 54 . Bandejas utilizadas en el tratamiento de encharcamiento intermitente.



Figura 55. Punteado discontinuo en el pseudotallo característico del FMP



Figura 56 . Síntoma característico del FMP en rizoma. Oscurecimientos en el anillo vascular y en la médula.

4.6. Ensayo “Compactación del suelo y dosis de Riego”

La plantación se realizó en la primera semana de marzo de 2002. Los datos climáticos de la zona (1999-2002) donde se encuentra situada la plantación se presentan en la siguiente figura 57.

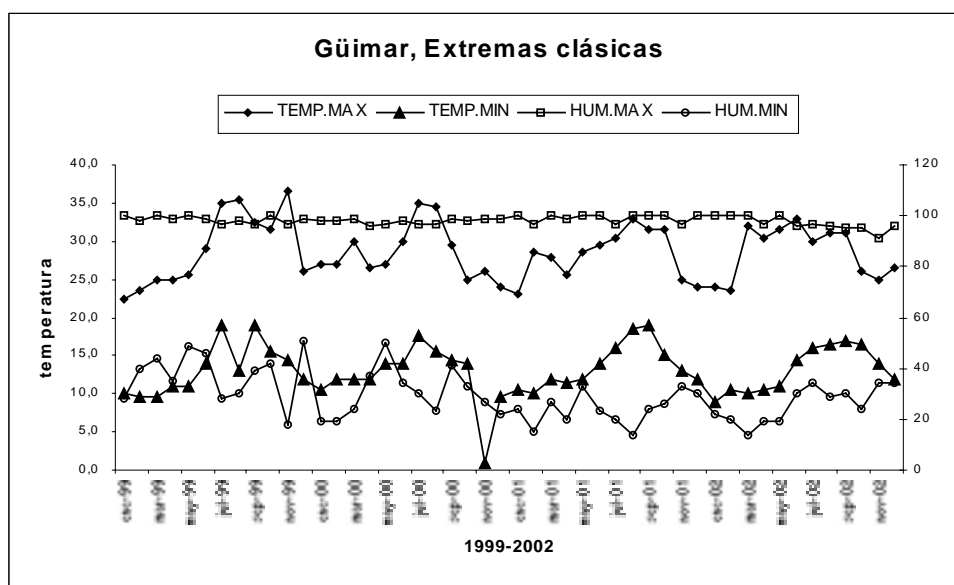


Fig.57. Datos climáticos facilitados por el servicio de meteorología del Dpto. de Suelos y riegos del ICIA, en la localidad de Güimar.

Los datos climáticos muestran que en la época cuando se realizó la plantación, en marzo del 2002, se estaban dando las temperaturas mínimas más bajas que del invierno, sobre 10° C.

Durante el cultivo las plantas no han presentado ningún tipo de síntomas que recordasen a los del FMP, aunque si se ha observado un cierto acortamiento de entrenudos.

En estos momentos el cultivo esta casi finalizado. Ya se han cosechado todos los racimos, aunque todavía quedan algunos, sobre todo en el bloque 2 que es el que ha presentado mayor retraso en el ciclo fenológico. Por esta razón presentamos un análisis preliminar de los datos obtenidos, aunque presumiblemente no será muy diferente del definitivo.

Los resultados para la diferencia entre las tomas de datos a los 5 y a los 9 meses después de la plantación de algunas variables fenológicas se presentan en la siguiente tabla 65.

Tabla.65. Resultados del ANOVA para las variables Altura del pseudotallo, (Alt1915); Diámetro (Diam1915) y Número de hojas(Nhl915) de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en una parcela bajo diferentes niveles de compactación del suelo y diferentes dosis de riego.

ANOVA	ALTL9L5	DIAM L9L5	NHL9L5
BLOQUE	0.009**	0.000***	0.501 ns
RIEGO	0.599 ns	0.510 ns	0.252 ns

ANOVA donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Para el factor bloque (tabla 65), se obtuvieron diferencias significativas para altura del pseudotallo y para el diámetro. El factor riego no presenta diferencias significativas para ninguna de las variables. A continuación se presenta la separación de medias de estas variables para los dos factores del diseño (tabla 66).

Tabla.66. Valores medios de los factores bloque y riego para las variables altura, diametro y número de hojas de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en una parcela bajo diferentes niveles de compactación del suelo y diferentes dosis de riego

BLOQUE	Alt1915	Diam1915	Nhl1915
BLOQUE1	90.250 ab	140.04 a	15.58 ns
BLOQUE2	75.50 a	117.56 a	14.50 ns
BLOQUE3	97.08 b	166.514 b	16.50 ns
RIEGO			
RIEGO1	86.88 ns	142.98 ns	15.63 ns
RIEGO 2	91.472 ns	146.83 ns	16.88 ns
RIEGO 3	84.472 ns	134.31 ns	14.05 ns

ANOVA donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales) Valores seguidos de una misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey

Sólo se obtuvieron diferencias significativas para la altura y el diámetro en el factor bloque (tabla 66). Los valores más altos para la altura se obtuvieron en el bloque 3 que no estaba

compactado, había recibido un lavado de sales y enmiendas de yeso agrícola y de materia orgánica, aunque estadísticamente es igual a bloque 1.

Los bloques 2 y 3 presentaron valores más bajos de las variables. El bloque 1 fue compactado, no fue lavado para sales y no recibió enmiendas de yeso agrícola ni enmiendas orgánicas. Por los tratamientos aplicados cabría haber esperado los peores resultados en el bloque 1. Posiblemente pueda ser atribuido a que el bloque 2 sufrió más los efectos del viento, que afecta mucho a las variables fenológicas de la platanera.

Para el diámetro, los resultados son más próximos a los esperados pues los bloques 1 y 2 son estadísticamente iguales y diferentes del 3. Reducciones en variables fenológicas en relación con problemas de compactación del suelo han sido citadas por Dorel (1990) y por Irizarry et al. (1980).

El ANOVA para variables del ciclo fenológico y de producción se presenta en la siguiente tabla 67

Tabla.67. Resultados del ANOVA para las variables PL-PAR; PP, PR; NM y ND de plantas de platanera del cultivar ‘Gran Enana’ cultivadas en suelo con diferentes niveles de compactación y a diferentes dosis de riego.

	PL-PAR	PP	PR	NM	ND
ANOVA					
BLOQUE	**0.005	0.294 NS	*0.018	0.103 NS	0.130 NS
RIEGO	0.311 NS	0.110 NS	**0.001	0.287 NS	**0.009

PL_PAR= Plantación parición (sem); PP= Peso racimo; PR= Peso del raquis; NM= Número de manos; ND= Número de dedos

ANOVA donde ***: $p = 0.000$ (diferencias altamente significativas); **: $0.000 < p < 0.050$ (diferencias significativas); ns: no significativo $p > 0.050$ (las dos muestras comparadas son iguales).

Existen diferencia significativas entre bloques para las variables plantación- parición y peso del raquis (tabla 67). Para el factor riego sólo existen diferencias significativas en la variable peso del raquis. La separación de medias de estas variables se presenta en la siguiente tabla 68.

Tabla.68. Valores medios para los factores bloque y riego de las variables PL-PAR; PP; PR; NM; y ND

BLOQUE	PL-PAR	PP	PR	NM	ND
1	47.75 ab	34.31 ns	2.72 b	10.66 ns	194.43 ns
2	50.95 b	33.78 ns	2.49 ab	10.19 ns	185.19 ns
3	43.11 a	31.71 ns	2.16 a	10.36 ns	184.26 ns
RIEGO					
1 (100 %)	48.94 ns	31.68 ns	2.04 a	10.22 ns	178.23 a
2 (175 %)	45.39 ns	35.35 ns	2.80 b	10.55 ns	194.99 b
3 (250 %)	47.48 ns	32.78 ns	2.52 ab	10.43 ns	190.67 ab

PL_PAR= Plantación parición (sem); PP= Peso racimo; PR= Peso del ráquis; NM= Número de manos; ND= Número de dedos Valores seguidos de una misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de rango múltiple de Tukey

El bloque 3 es estadísticamente diferente de los bloques 1 y 2, que son iguales entre sí (tabla 68). En el bloque 2 se ha producido un retraso en la parición de entre 2 y 3 semanas con respecto a estos bloques. Retrasos del ciclo fenológico también han sido citados por Dorel (1990, 1993) y por Irizarry *et al.* (1980). De nuevo aquí vuelven a comportarse igual los bloques 1 y 3, cuando cabría haber esperado diferencias más claras. Posiblemente al ser un ensayo de campo, estén actuando otros factores que no se han podido controlar en el ensayo, como gradientes de insolación, efecto viento etc.

A punto de finalizar el ensayo, se han ido cortando las plantas una vez que se había recolectado el racimo al objeto de observar si se habían producido síntomas en el interior del rizoma. No sólo se han estudiado las plantas de ensayo sino también las plantas borde.

Se han observado síntomas típicos en tres plantas del bloque 1 (compactado, no lavado, no enmendado); dos en el bloque 2 (compactado, lavado y enmendado) y una planta borde en el bloque 1 (no compactado, lavado y enmendado). También se han observado lo que podría ser inicio de síntomas, o síntomas claros pero en zonas relativamente pequeñas de la médula en plantas del bloque 1 y del 2 (fig. 59, 60, 61, 62). La presencia de síntomas en rizoma no acompañados de síntomas externos fue citada por Deacon *et al.* (1985).

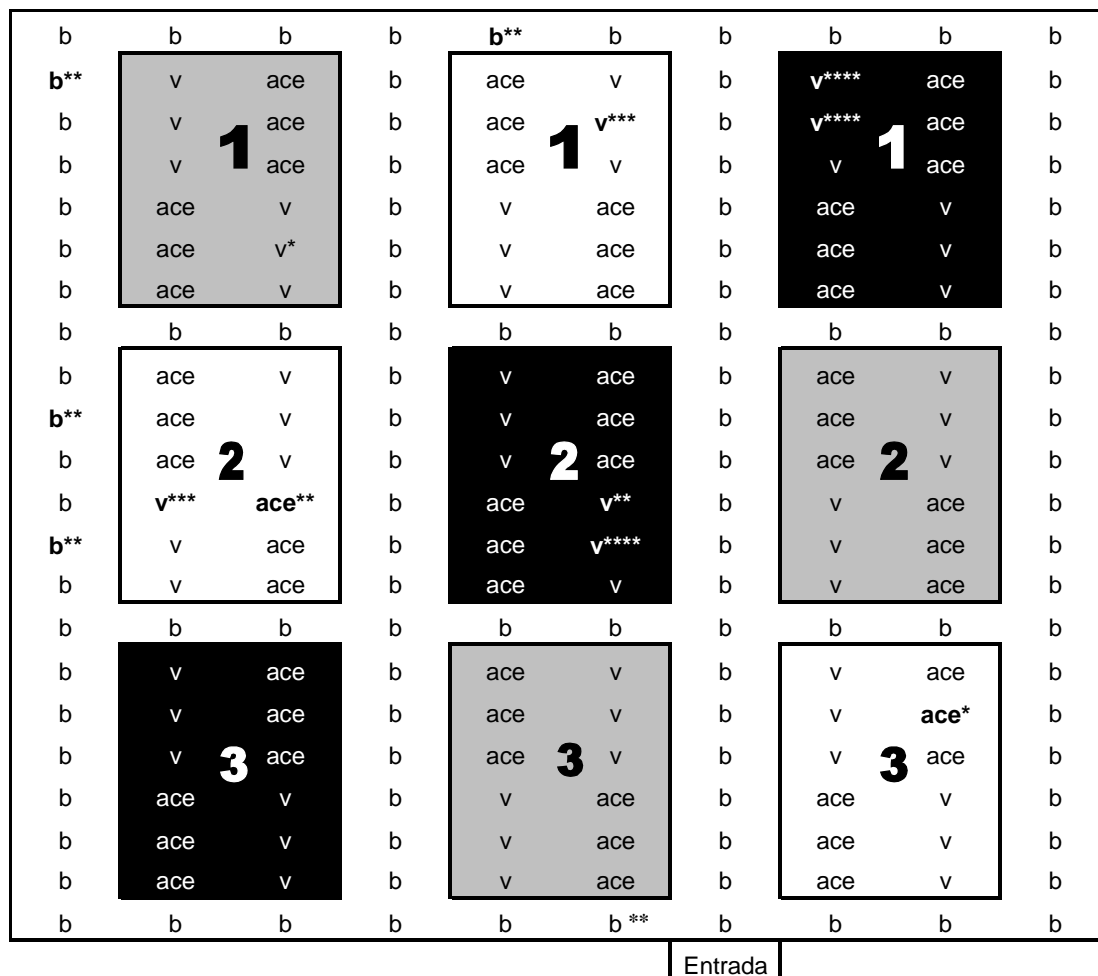
En todos los casos las plantas estaban sometidas a la dosis (100%) de riego que es la recomendada para la zona por el Departamento de suelos y Riegos del ICIA. Estos resultado

sugieren que los síntomas están asociados al suelo compactado y que la dosis de riego en exceso no fue más perjudicial, posiblemente debido a que cuando el suelo se encontraba al 100 % de saturación el resto de agua era drenada. En uno de los ensayos de invernadero también se obtuvieron síntomas casi típicos en una planta que estaba en suelo compactado (fig. 55, 56).

En las plantas sometidas a dosis intermedias de riego o a la dosis máxima, se ha observado un mayor número de plantas caídas que tenían el rizoma poco sumergido en el suelo y mostraban un sistema radical muy dañado por el encharcamiento. Los datos de sensores ECHO aún no estudiados muestran que en algunas plantas se han producido tiempos de encharcamiento de 4 horas después de cada pulso de riego (dos al día), con valores de agua volumétrica cercanos al 50 % sólo en algunos casos.

Pese a que el suelo fue teóricamente homogeneizado por el tratamiento de compactación, la baja incidencia podría estar relacionada con la heterogeneidad de los suelos agrícolas de Canarias. Pero como todavía no tenemos los resultados de los análisis foliares, ni los del suelo de esas plantas, que nos aporten claves para la interpretación, no podemos establecer conclusiones definitivas sino esta hipótesis de la asociación con la compactación y los factores asociados a la misma como hipoxia y resistencia mecánica a las raíces,

En la fig 58, se representa la disposición de los tratamientos en la parcela experimental, así como la posición de las plantas que han presentado síntomas.



* Puntos en el raquis de la piña

** Oscurecimientos grisáceos generalizados en el rizoma, puntos necróticos en la zona de inserción de las raíces

*** Puntos necróticos en la zona de inserción de las raíces y en el tejido adyacente

**** Síntomas de Falso mal de Panamá en rizoma

(v) Planta de cultivo in vitro, (ace) Planta obtenida de cultivo acelerado, (b) Plantas bordes fuera de ensayo
 (1) Bloque Compactado y no lavado, (2) Bloque compactado y lavado, (3) Bloque no compactado y lavado

- Riego normal 100% de predicción
- Riego intermedio 175% de predicción
- Riego extremo 250% de predicción

Fig.58. Localización de las plantas con síntomas en el ensayo sobre el efecto de compactación y diferentes dosis de riego en campo sobre un ciclo de cultivo de cv 'Gran Enana'



Fig.59. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado)



Fig.60. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado)



Fig.61. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (250% del asesorado)



Fig.62. Síntomas reproducidos en condiciones de campo, compactación y dosis de riego intermedia (175% del asesorado)

5. ESTUDIOS HISTOQUÍMICOS

5.1. Muestras de cortes en fresco

- **Rizoma**

Los cortes realizados de las muestras en fresco de rizoma eran demasiado gruesos y debido a la estructura compacta del rizoma, era difícil la penetración de los colorantes y la observación de las estructuras tisulares.

La desorganización vascular que se observa en las plantas con FMP de forma generalizada, puede ser una consecuencia de las disfunciones metabólicas que se producen bajo diferentes factores de estrés y al “*Yellow Mat*” por Reinking (1926) citado por Lahav *et al.* aunque también ha sido asociada tanto a patógenos como a salinidad y bloqueos nutricionales como el Ca y el B (Epstein, 1973).

- **Pseudotallo**

En pseudotallo, las muestras procedentes de la planta sana presentaban la luz de los vasos xilemáticos vacía y el conjunto de las células del floema y placas cribosas se encontraban bien organizadas (fig.63). En las muestras procedentes de plantas con síntomas de FMP puede observarse una obstrucción parcial de la luz del xilema (fig. 64) y detalle (fig.65) que cuando se tiñen con calcofluor e incide sobre la muestra un haz de luz azul, la celulosa de todas las paredes celulares emite fluorescencia azul, aunque las sustancias que ocluyen los vasos no se tiñen (fig.66).

- **Raíces**

En la raíz de todas las plantas, el floroglucinol tiñó color rojo cereza las paredes celulares lignificadas y puso de manifiesto la fuerte lignificación de las células de la endodermis del cilindro central (fig.67) y la epidermis, así como las paredes celulares de las células parenquimáticas cercanas a la epidermis de las muestras procedentes de plantas con FMP. El interior de algunas de estas células se teñía con floroglucinol posiblemente debido a que acumulaban lignina (fig.68). La lignificación de las células es una respuesta defensiva que puede producirse inespecíficamente ante diferentes factores de estrés, tanto abióticos como bióticos (Beckman, 1987) y (Deborath, 2001). Cachorro *et al.* (1993) observaron deposiciones

de lignina en los tejidos vasculares en raíces de *Phaseolus vulgaris* en respuesta a estrés salino y iones de Ca^{2+} . La auramina O tiñe la cutina y lípidos de todas las paredes celulares de la raíz, que cuando se observa bajo luz azul, emiten fluorescencia amarilla, excepto de las cercanas a la endodermis (fig. 72).

Los rafidios presentes en los cortes procedentes de muestras sintomáticas, se localizan cerca de la epidermis. En la (fig.67) y en detalle en la (fig.69), puede observarse la presencia de un rafidio cerca de la endodermis. En los cortes de muestras con síntomas se observan grandes espacios aéreos que constituyen el aerenquima (fig.70). Un incremento en el volumen total ocupado por el aerenquima ha sido citado para plataneras en situaciones de hipóxia, (Aguilar *et al.*, 1999).

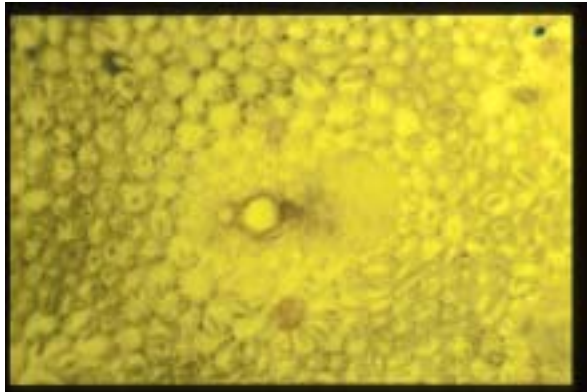


Fig. 63. Corte en fresco del pseudotallo de planta sana, detalle de la organización los vasos xilema y floema, en planta sana, x4 sin teñir.

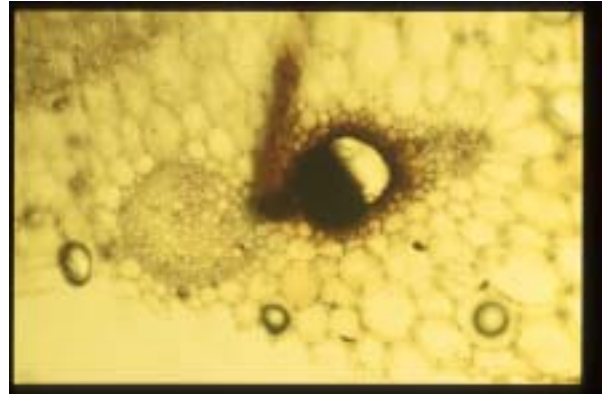


Fig 64. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x4 sin teñir.

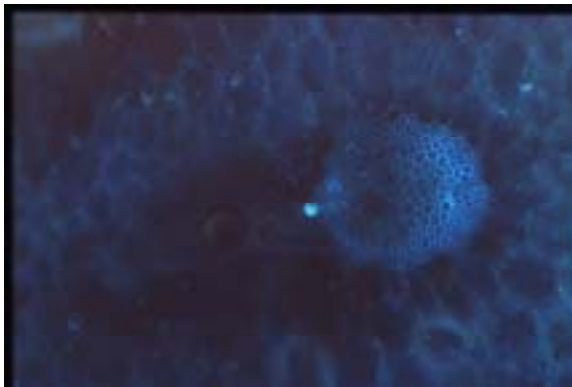


Fig.66. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x4 Tinción calcofluor.

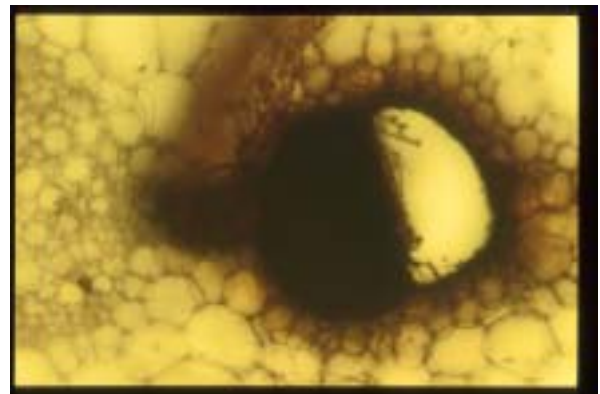


Fig.65. Cortes en fresco del pseudotallo de planta con FMP. de vaso xilemático colapsado en planta x10 sin teñir.



Fig.67. Corte en fresco, detalle de células lignificadas de la endodermis en planta sana. x10. Tinción Floroglucinol

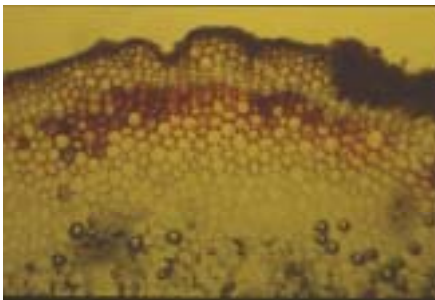


Fig. 68. Detalle de rafidio en corte de raíz de planta con FMP en fresco. x10. Tinción azul de Tripán.



Fig.69. Corte en fresco, detalle de células cercanas a la epidermis lignificadas. x 4 Tinción con Floroglucinol (sup.). Planta con FMP. (inf) detalle x10 Tinción con Floroglucinol.

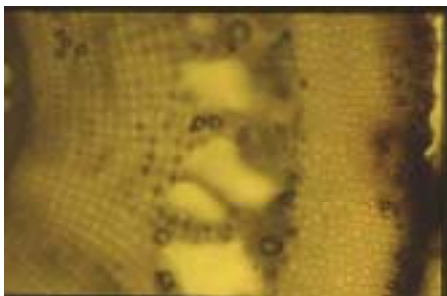


Fig.70. Corte en fresco de raíz de planta con FMP, donde se observan los espacios aéreos que configuran el aerenquima.x4 sin teñir.

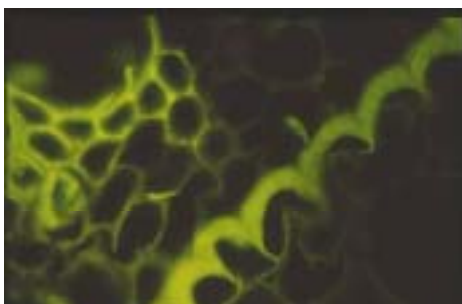


Fig.71. Corte en fresco de la raíz de planta control. x10. Tinción con auramina O.

5.2. Muestras fijadas incluidas en parafina.

Después de la observación de las muestras desparafinadas y selección de los portas para las posteriores tinciones, las observaciones que se describen a continuación están basadas en 15 repeticiones de portas por cada muestra.

Rizoma

En plantas sanas la corteza del rizoma está constituida por células parenquimatosas que acumulan almidón, muy destacable en la tinción de PAS aunque en menor cantidad que las que se encuentran en el interior del anillo vascular (fig.72). La presencia de tales cantidades de almidón pone de manifiesto la función del rizoma como órgano de reserva. En plantas con FMP se observó menor cantidad de almidón acumulado (fig.73) y (fig.74). Esta observación podría explicarse por el hecho de que en plataneras enfermas o bajo situaciones de estrés puede darse una reducción de la fotoasimilación (Lecuona, 1975) y (Sandoval y Müller, 1990). La tinción con calcofluor reveló que existía una mayor presencia de rafidios en los rizomas procedentes de plantas con síntomas de FMP que en las plantas sanas (fig.75). La presencia de rafidios es habitual en las zonas cercanas a la epidermis y se les atribuye un papel en la defensa pasiva de la planta (Lecuona, 1975). El calcofluor tiñe la celulosa de todas las paredes celulares emitiendo fluorescencia azul cuando un haz de luz azul incide sobre la muestra (fig.76) y (fig.77), pero no tiñe las oclusiones xilemáticas que cuando se observan bajo la luz blanca son de color marrón (fig.78) y (fig.79).

La auramina O tiñe la cutina y lípidos y como ocurre con el calcofluor, la auramina O tiñe las paredes celulares de todas las células (fig.80), pero no tiñe el contenido de las oclusiones xilemáticas que bajo luz blanca se ven de color marrón (fig.81). En muestras de rizoma de plantas con síntomas de FMP, teñidas con auramina O, aparecen células llenas de sustancias que cuando incide luz azul sobre ellas, emiten fluorescencia amarilla. Posiblemente sean células especializadas en acumular sustancias de naturaleza lipídica (fig.82).

Las oclusiones xilemáticas se tiñen de color violeta y azul oscuro con el azul de toluidina (fig.83) por lo que posiblemente contengan sustancias tipo lignina. También se tiñen con Gerlach (fig.84) donde aparecen teñidas de color rojo, por lo que también indica que en su composición pueda haber lignina. En otras zonas, aparecen células llenas de una sustancia de

color azul muy intenso, casi negro que posiblemente sea debido a una mezcla de sustancias que pudieran ser parecidas a las descritas por Beretta *et al.* (1988) quien observó la presencia de bloqueos xilemáticos producidos por sustancias de naturaleza lipídica, además de calosas, lignina, sustancias pecticas, gomas y proteínas en *citrus*. También se observa una desorganización de los vasos y estructuras del tejido (fig.85) y presencia de rafidios (fig.86).

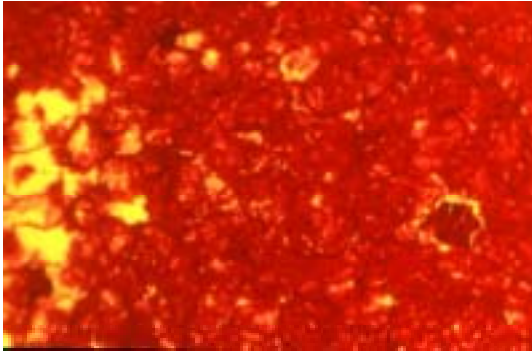


Fig. 72. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta control. x10. Tinción PAS.

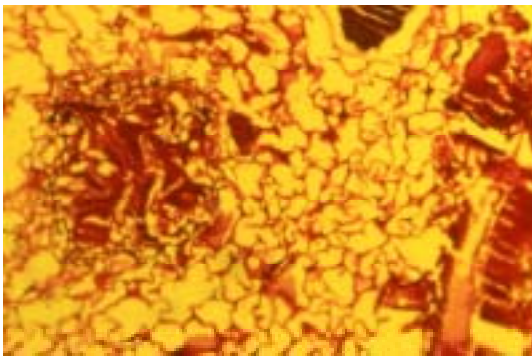


Fig. 73. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción PAS.

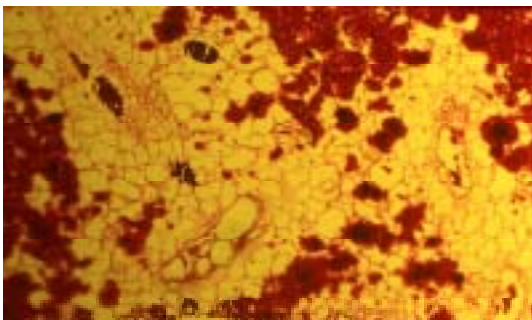


Fig. 74. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción PAS.



Fig. 75. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. Rafidios. x40. Tinción con calcofluor.

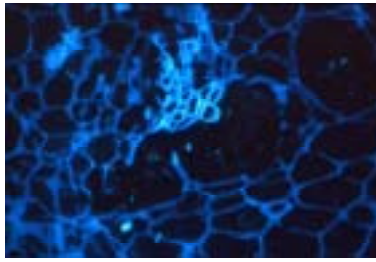


Fig.76. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Calcofluor.

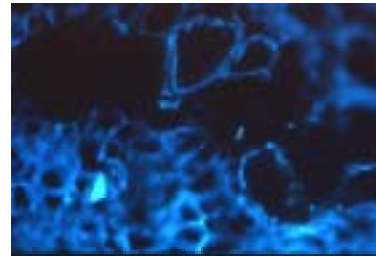


Fig. 77. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Tinción Calcofluor.

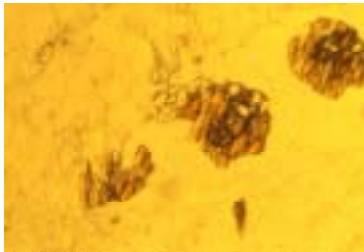


Fig.78. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Sin teñir.

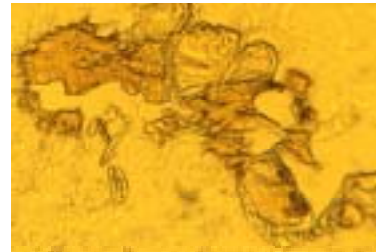


Fig.79. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Sin teñir.

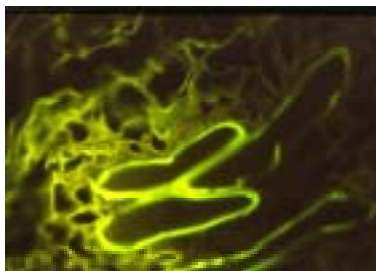


Fig.80. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Tinción Auramina O.

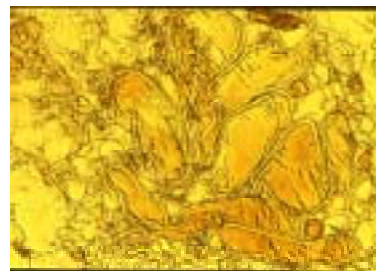


Fig.81. Corte en parafina (10 μm) de rizoma procedente de planta con FMP. x25. Sin teñir.



Fig.82. Corte en parafina (10 µm) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Auramina O.

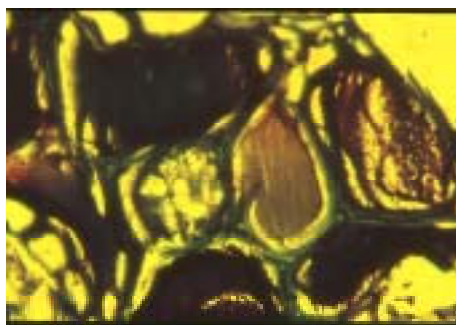


Fig.83. Corte en parafina (10 µm) de rizoma procedente de planta con FMP. x40. Tinción Azul de toluidina.

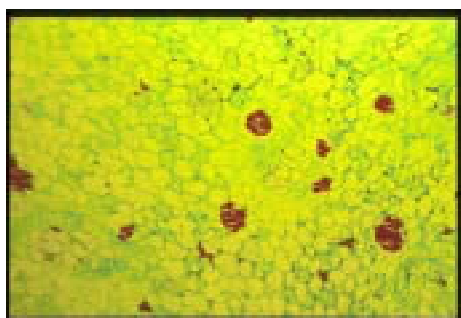


Fig.84. Corte en parafina (10 µm) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción Gerlach.

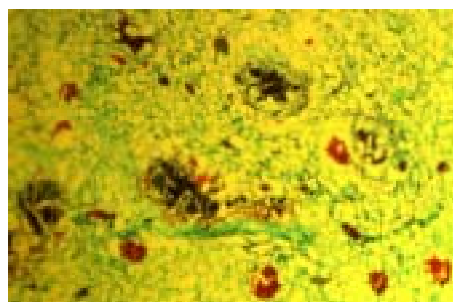


Fig.85. Corte en parafina (10 µm) de rizoma procedente de planta con FMP. x4. Tinción Gerlach.

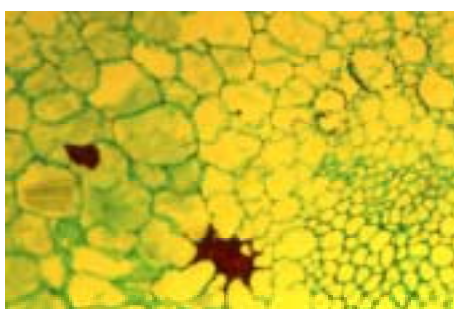


Fig.86. Corte en parafina (10 µm) de rizoma procedente de planta con FMP. x10. Tinción Gerlach.

Pseudotallo

En plantas con FMP la mayoría de los haces vasculares de xilema se encuentran colapsados por sustancias amorfas, de forma generalizada que cuando se observan sin teñir bajo luz blanca son de color marrón (fig.87) y cuando se aplica calcofluor no se tiñen (fig.88). En la tinción con Auramina O sucede lo mismo, las oclusiones no se tiñen (fig.89) mientras que con la tinción de Gerlach las oclusiones se tiñen en azul muy intenso como ocurría en el rizoma (fig 90) y con la tinción de azul de toluidina se tiñen color violeta oscuro (fig.91).

Entre los vasos del floema se encuentran células parenquimatosas acompañantes, algunas repletas de materiales que se tiñen en Gerlach de color rojo, azul o negro (fig. 90). Este fenómeno se observa en todos los casos. En las plantas afectadas por FMP, el floema se presenta desorganizado y en algunos casos repleto de materiales amorfos (fig 94). Reinking (1926) estudiando plantas afectadas de “*Yellow mat*” (YM), sólo observó alteraciones en el floema.

En el xilema del pseudotallo de plantas con MP, también se observan oclusiones de la misma forma que en las muestras de FMP, de color marrón cuando se encuentran sin teñir (fig.92), mientras que con Auramina O se tiñen todas las paredes celulares emitiendo fluorescencia amarilla, pero no se tiñe su contenido (fig.93).

En plantas con MP se observan afectados, únicamente los vasos xilemáticos colonizados supuestamente por FOC. Observaciones similares fueron realizadas por Beckman (1990). El resto de estructuras tisulares y floema se encuentran aparentemente sin ninguna alteración como en las plantas sanas. El colapso de placas cribosas y xilema ha sido descrito por Beckman (1987) en la platanera asociado a la enfermedad de Mal de Panamá, y por microorganismos no patógenos y por factores de estrés abiótico por Halperin *et al.*, (1997) en tomate.

En la epidermis de las vainas que configuran el pseudotallo, es frecuente encontrar estomas (Lecuona, 1975); en nuestras observaciones en plantas con síntomas de FMP, los estomas aparecen semiabiertos (fig. 94). Se ha descrito que en procesos fisiológicos desfavorables, los estomas se ven afectados por pérdida de turgencia y muchas veces pierden su función (Huang *et al.*, 1994).

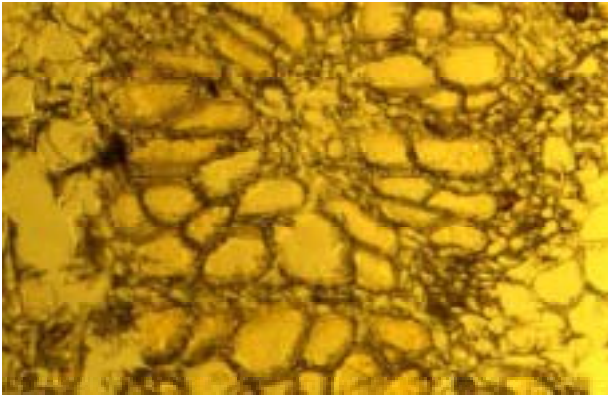


Fig. 87. Corte en parafina (10 μm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Sin teñir.

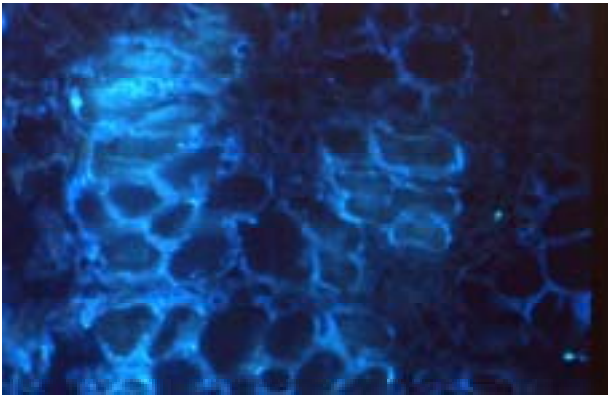


Fig. 88. Corte en parafina (10 μm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Calcofluor.

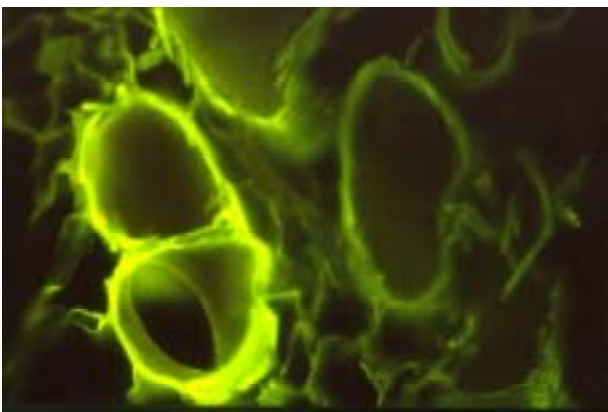


Fig. 89. Corte en parafina (10 μm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Auramina O.

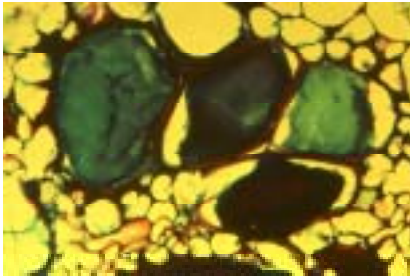


Fig.90. Corte en parafina (10 µm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Gerlach.

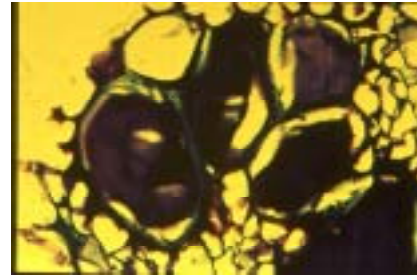


Fig.91. Corte en parafina (10 µm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina.



Fig. 92. Corte en parafina (10 µm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Sin tinción.

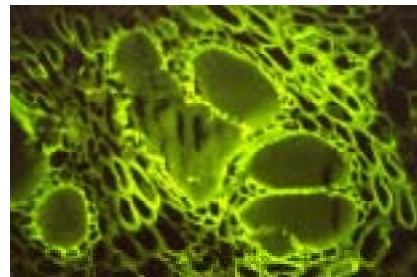


Fig.93. Corte en parafina (10 µm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Auramina O.



Fig.94. Corte en parafina (10 µm) de pseudotallo procedente de planta con FMP. x10. Tinción Gerlach.

Raíz

Los vasos del xilema de las muestras procedentes de las plantas control, se encuentran rodeados por una fila de células parenquimatosas muy pequeñas que pueden acumular tanino. En la tinción de Gerlach la endodermis y las paredes de los vasos xilemáticos aparecen teñidas de rojo, mientras que el resto de las paredes celulares se tiñen en verde turquesa (fig.95). Tanto en plantas con FMP y MP se observaron lo que podrían ser tílides, protusiones de las células parenquimatosas que rodean las traqueidas que penetran por las puntuaciones porosas y se desarrollan en su luz teñidas con azul de toluidina de color rojo (fig.96) y con Gerlach de color verde turquesa y rojo (fig.97). Observaciones similares han sido descritas por Beckman (1987) para el MP. A veces fueron tan numerosas que llenaron la luz de la traqueida y xilema (Fig. 98, 99). Lecuona (1975) y Sandoval y Müller (1990) observaron tílides en plantas afectadas de infecciones vasculares. En muestras procedentes de MP, en algunos vasos xilemáticos, se han observado oclusiones por micelio y la presencia de conidias fusiformes - posiblemente de FOC- que se tiñen con Gerlach (fig.98), de color rojo (fig.99) y (fig.100), con azul de toluidina color lila (fig.101) y con PAS en rojo (fig.102) y (fig.103), mientras que en plantas con FMP, sólo se ha observado micelio sin ninguna estructura que permita su identificación (fig.104). También se observan diferencias en las lagunas lisogénicas y aerenquima radical que parecen ser mayores en tamaño y cantidad en las plantas que presentan sintomatología asociada al FMP. Huang *et al.* (1994) describió la formación del aerenquima en raíces de trigo y Aguilar *et al.* (1999) bajo condiciones de hipoxia. El calcofluor tiñe los rafidios que se encuentran distribuidos por todas las zonas de la raíz, incluso en los espacios aéreos del aerenquima. En este caso no se observaron diferencias respecto a su abundancia entre los dos tipos de muestras.

En general, se observa que en plantas afectadas por FMP existe un desorden generalizado de las estructuras vasculares, tanto xilema como floema, en los tres tipos de tejidos estudiados: pseudotallo, rizoma y raíz.. Existen elementos diferenciadores en la expresión del Mal de Panamá y el Falso Mal de Panamá en los diferentes tejidos estudiados. En el MP sólo está afectado el xilema, manteniéndose una estructura normal en el resto de los tejidos. En el FMP

se observa una desorganización general de los tejidos, incluido el xilema, que se presenta además ocluido por materiales amorfos.

Las observaciones realizadas con las diferentes tinciones contribuyen a un mejor conocimiento de lo que ocurre en la expresión de síntomas asociados al FMP y nos permiten diferenciarlos de los descritos para el MP.

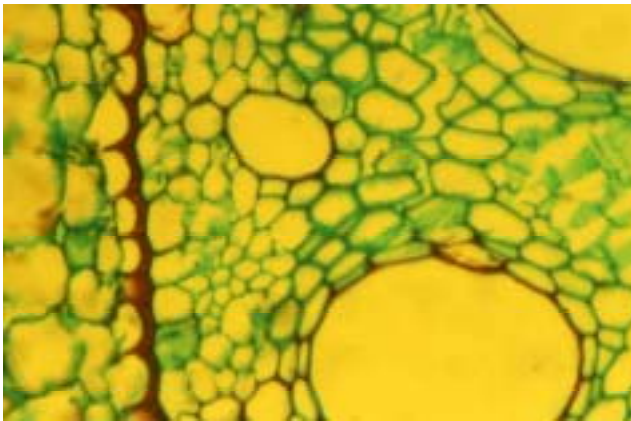


Fig.95. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con sana. x25. Tinción Gerlach.

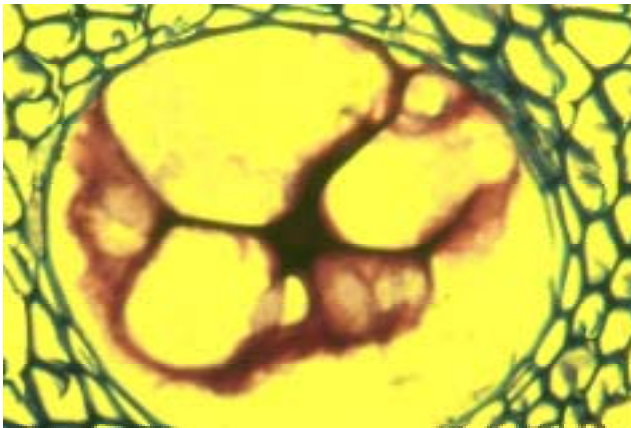


Fig.96. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina.

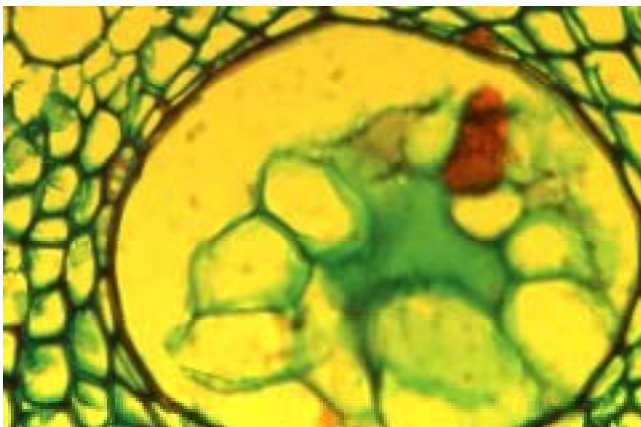


Fig.97. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Gerlach.

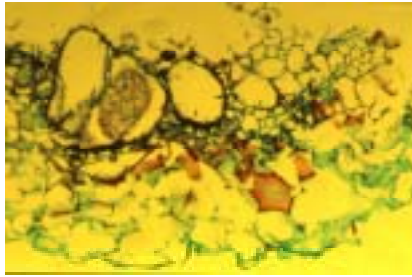


Fig.98. Corte en parafina (10 μ m) de raíz procedente de planta con MP. x10. Tinción



Fig.99. Corte en parafina (10 μ m) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción

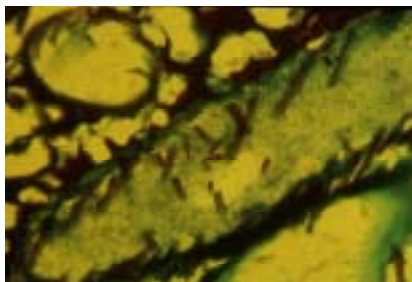


Fig.100. Corte en parafina (10 μ m) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción

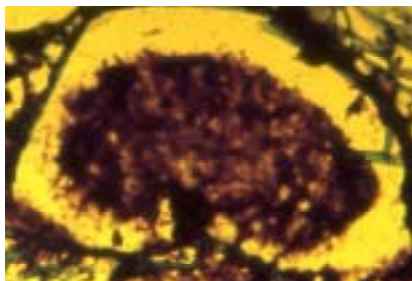


Fig.101. Corte en parafina (10 μ m) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción

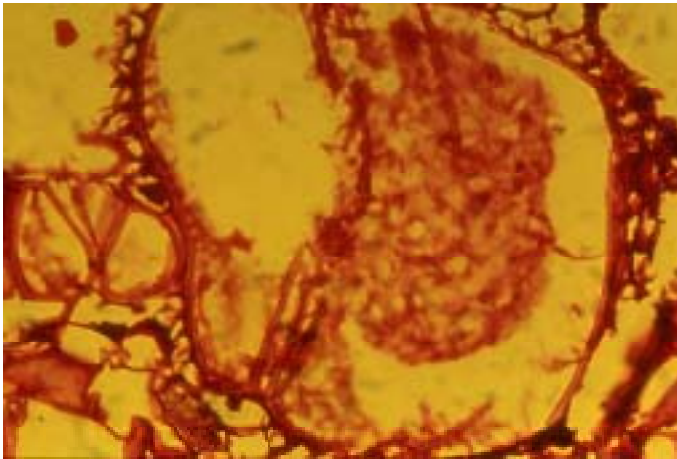


Fig.102. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con MP. x25. Tinción PAS

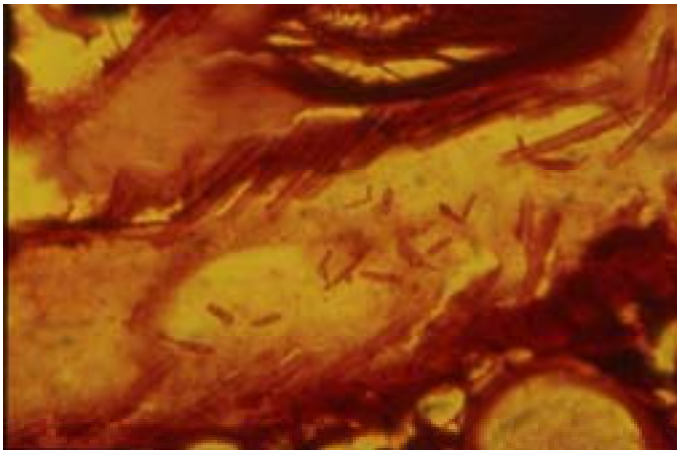


Fig.103. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con MP. x40. Tinción PAS

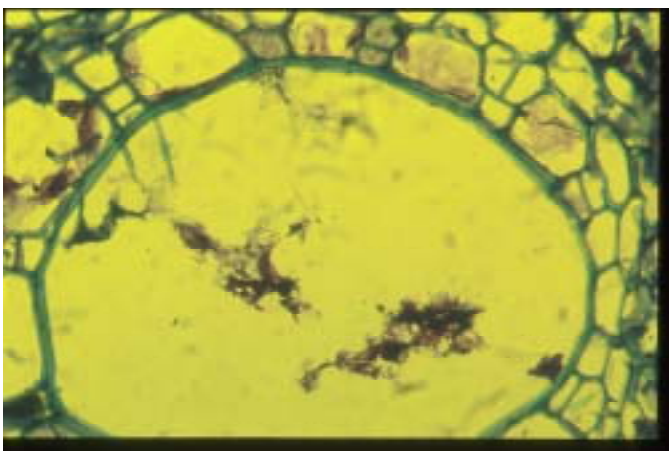


Fig.104. Corte en parafina (10 μm) de raíz procedente de planta con FMP. x25. Tinción Azul de Toluidina



CONCLUSIONES

- 1.El Falso Mal Panamá (FMP) es un desorden que se ha presentado mayoritariamente asociado a plantaciones nuevas sobre suelos vírgenes, antiguos suelos de platanera que habían estado en baldío durante unos años, o cultivados con papa u otras hortalizas.
- 2.El momento de aparición generalmente ha sido en primavera, a la salida de inviernos anormalmente fríos. Frecuentemente las plantaciones afectadas presentaban problemas de suelos tales como compactación y cierto nivel de encharcamiento así como valores bajos de calcio y materia orgánica y altos de niveles de sodio.
3. Asociada al desorden se encuentran una serie de especies fúngicas, predominantemente del Género *Fusarium* como: *F. oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. solani* así como géneros bacterianos como *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*.
4. Ninguna de estas especies fúngicas y bacterianas ha producido la aparición de síntomas típicos en pruebas de inoculación simples ni en aquellas en las que se han ensayado interacciones con factores abióticos como encharcamiento y compactación del suelo
5. En dos ocasiones, bajo encharcamiento intermitente y bajo compactación del suelo combinada con encharcamiento intermitente se han obtenido síntomas similares a los típicos de Falso Mal Panamá (FMP) en ensayos de invernadero.
6. En ensayos de campo de compactación del suelo y dosis de riego, se han logrado reproducir los síntomas típicos del interior del rizoma en plantas del tratamiento de compactación bajo todas las dosis de riego.
7. Estudios histológicos sobre plantas con los síntomas característicos de FMP han puesto de manifiesto que el xilema puede presentar oclusiones con materiales de diversa naturaleza y que el floema se encuentra desorganizado junto con las células acompañantes que pueden presentar además importantes acumulaciones de sustancias de naturaleza lipídica, polisacáridos y proteínas.

8. Se ha establecido un criterio diagnóstico diferencial entre el Mal de Panamá (MP) y el FMP basado en la observación de síntomas y completado con la respuesta en medio Komada, la determinación del Grupo de Compatibilidad Vegetativa (VCGs) y estudios histológicos para determinar anomalías en el xilema y en el floema.

9. Aunque no queda completamente descartado que alguna de las especies estudiadas pueda jugar un papel en el desorden bajo condiciones abióticas distintas de las ensayadas, los resultados obtenidos apuntan a un origen abiótico, en particular a ciertas características de los suelos que produzcan compactación, hipoxia y bloqueo en la absorción de nutrientes.

10. La mejora de la estructura, la textura y el drenaje del suelo, así como un reparto de la dosis de riego en dos o tres aplicaciones por día, parecen ser hasta el momento los únicos consejos de control que pueden ser útiles para los agricultores.



BIBLIOGRAFÍA

Abdalla MY, Al Rokibah A, Moretti A, Mule G (2000) Pathogenicity of toxigenic *Fusarium proliferatum* from date palm in Saudi Arabia. *Plant Disease* 84, 321-324.

Abo Hassan A, Tawfic H, Habib M (1980) Effect of salinity on seed germination and growth of orache (*Atriplex* spp.). In 'Proceedings of the Fourth Conference on the Biological Aspects of Saudi Arabia. 1980, pp. 71-81; 8 tab.; 13 ref.' (University of Riyadh Press.: Riyadh; Saudi Arabia)

Adams P, Ho LC (1989) Effects of constant and fluctuating salinity on the yield, quality and calcium status of tomatoes. *Journal of Horticultural Science* 64, 725-732.

Adams P, Ho LC, Beusichem MLv (1990) Effect of salinity on calcium transport in tomato (*Lycopersicon esculentum*). In 'Plant nutrition physiology and applications. Proceedings of the Eleventh International Plant Nutrition Colloquium, Wageningen, Netherlands, 30 July-4 August 1989. 1990, 469-472; *Development in Plant and Soil Sciences* Volume 41. ; 4 ref.' (Kluwer Academic Publishers; Dordrecht; Netherlands)

Agrios G (1988) 'Plant Pathology.' (New York)

Aguilar EA (1998) Responses of banana roots to oxygen deficiency and its implications for Fusarium Wilt., Western Australia.

Aguilar EA (1998) Responses of banana roots to oxygen deficiency and implications for Fusarium wilt infection. The University of Western Australia.

Aguilar EA, Turner DW, Sivasithamparam K (1999) Aerenchyma formation in roots of four banana (*Musa* spp.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 80, 57-72.

Aguilar EA, Turner DW, Sivasithamparam K (2000) *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* inoculation and hypoxia alter peroxidase and phenylalanine ammonia lyase activities in nodal roots of banana cultivars (*Musa* sp.) differing in their susceptibility to fusarium wilt. *Australian Journal of Botany* 48, 589-596.

Aguilar EA, Turner DW, Sivasithamparam K (2000) Proposed mechanisms on how Cavendish bananas are predisposed to Fusarium wilt during hypoxia. *Infomusa* 9, 9-13.

Akiew E (1992) Bacterial wilt of diploid *Musa* caused by *Pseudomonas solanacearum* race 1 in Australia. *Plant Disease* 76, 753.

Ali AHN, Jarvis BC (1988) Effects of auxin and boron on nucleic acid metabolism and cell division during adventitious root regeneration. *New Phytologist* 108, 383-391.

Allen RM (1957) A virus-type disease of Gros Michel bananas in Costa Rica. *Turrialba* 7, 72-83.

Alquini Y, Morretes BLd (1996) Structural organization of the root of *Musa rosacea* Jacq. (Musaceae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 39, 657-669.

- Alvarez CE, Calzadilla VE, Fernandez M (1999) Chemical fertility of banana soils of Tenerife Island (Canary Islands). *Fruits Paris* 54, 159-166.
- Alvarez CE, Garcia V, Robles J, Diaz A (1981) Influence of soil characteristics on the incidence of Panama disease. *Fruits* 36, 71-81.
- Alves EJ (1997) 'A cultura da banana, Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais.' (Ministério da Agricultura e do Abastecimento: Brasília, DF)
- Anónimo (1994) 'Metodos oficiales de Análisis.' (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación)
- Anónimo (1999) 'Resumen de datos estadísticos agrarios de Canarias.' Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Servicio de Estadística., Sta. Cruz de Tenerife.
- Anónimo (2002) Nuestros proyectos. Tolerancia de las plantas al estrés abiótico. INIA. 2001 Balance de un año de gestión en el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Mayo- Junio 2, 29-31.
- Anónimo (2003) <http://www.istac.rcanaria.es>. In. (ISTAC. Instituto Canario de Estadística)
- Asch F, Dorffling K, Dingkuhn M (1995) Response of rice varieties to soil salinity and air humidity: a possible involvement of root-borne ABA. *Plant and Soil* 177, 11-19.
- Aubert B (1973) Particularités anatomiques liées au comportement hydrique des bananiers. *Fruits* 28, 589-604.
- Azaizeh H, Steudle E (1991) Effects of salinity on water transport of excised maize (*Zea mays* L.) roots. *Plant Physiology* 97, 1136-1145.
- Barceló Muñoz A (1995) Micropropagación de aguacate (*Persea Americana* Mill.). Aspectos histológicos del proceso de vitrificación., Universidad de Málaga.
- Barnes RF (1962) Grenada banana disease. In 'Report of Banana Investigation'. (Ed. UoW Indies). (Regional Research Centre)
- Barnett HLaH, Barry B. (1972) 'Illustrated Genera of Imperfect fungi.' (Burgess Publishing Company: Minneapolis)
- Barrett-Lennard EG (1986) Effects of waterlogging on the growth and NaCl uptake by vascular plants under saline conditions. Forage and fuel production from salt affected wasteland (edited by Barrett Lennard, E.G.; Malcolm, C.V.; Stern, W.R.; Wilkins, S.M.), Netherlands.
- Batino H, Campo R, Gaviria MA, Hurtado M, Aguirre A (1975) Two nutritional disorders of plantain and banana in Colombia. Preliminary considerations on boron and magnesium deficiencies in these Musaceae. *Noticias Fitopatológicas* 4, 189-210.

- Beckman CH (1987) 'The nature of wilt diseases of plants.' (APS Press: St. Paul, Minnesota)
- Beckman CH (1990) Host responses to the pathogen. Fusarium wilt of banana [edited by Ploetz, R.C.].
- Beckman CH, Mueller WC, Mace ME (1974) The stabilization of artificial and natural cell wall membranes by phenolic infusion and its relation to wilt disease resistance. *Phytopathology* 64, 1214-1220.
- Belalcazar SL (1991) 'El cultivo del platano en el trópico. Manual de asistencia técnica N° 50.' (Instituto Colombiano Agropecuario: Armenia, Colombia)
- Belda RM, Fenlon JS, Ho LC (1996) Salinity effects on the xylem vessels in tomato fruit among cultivars with different susceptibilities to blossom-end rot. *Journal of Horticultural Science* 71, 173-179.
- Belda RM, Ho LC (1993) Salinity effects on the network of vascular bundles during tomato fruit development. *Journal of Horticultural Science* 68, 557-564.
- Bell EA (1980) The possible significance of secondary compounds in plants. In 'Secondary Plant products'. (Ed. EABaBVC eds.) pp. 11-19. (Springer-Verlag: New York)
- Benchimol RL, Poltronieri LS, Trindade DR, Albuquerque FC (2001) White-thread blight: five new hosts in the state of Para, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 26, 778.
- Benjama A (1994) Isolation of nonpathogenic bacterial contaminants of micropropagated date palms (*Phoenix dactylifera* L.) and banana (*Musa* sp.) in Morocco. *Al Awamia*, 89-96.
- Bentley S, Pegg KG, Moore NY, Davis RD, Buddenhagen IW (1998) Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology* 88, 1283-1293.
- Benyon F, Summerell BA, Burgess LW (1996) Association of *Fusarium* species with root rot of *Cymbidium* orchids. *Australasian Plant Pathology* 25, 226-228.
- Beretta MJG, Brlansky RH, Lee RF (1988) A comparison of histochemical staining reactions of the xylem occlusions in trees affected by citrus blight and decline. *Plant Disease* 72, 1058-1060.
- Bingham IJ (2000) Soil-root-canopy interactions. *Annual appl. Biol.*, 243-251.
- Blanco MA (1996) Micosis vasculares. In 'Patología Vegetal'. (Ed. Phytoma-España) pp. 913-937. (Sociedad Española de fitopatología (SEF))
- Blesa AC, Morales D, Lopez I (1979) Contribution to the study of the soil mycoflora of banana plantations in the Canary Islands. II. Study of fungi other than the *Fusarium* isolated. *Fruits* 34, 659-675.

- Blevins DG, Lukaszewski KM (1998) Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 481-500.
- Blodgett JT, Swart WJ, Louw S (1998) First report of *Fusarium sambucinum*, *F. oxysporum*, and *F. subglutinans* associated with stem decay of *Amaranthus hybridus* in South Africa. *Plant Disease* 82.
- Bolkan HA, Dianese JC, Cupertino FP (1979) Survival and colonization potential of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* in soil. *Phytopathology* 69, 1298-1301.
- Booth C (1971) 'The genus *Fusarium*.'
- Borges Perez AFF, M.; Bravo Rodríguez, J.J; Pérez Francés, J.F. y López Carreño, I (1991) Enhanced resistance of banana plants (Dwarf Cavendish) to *Fusarium Oxysporum* f. sp. *cubense* by controlled Zn nutrition under field conditions. *Banana Newsletter* 14, 24-26.
- Borrás Hidalgo O, Pires de Matos A, Santos Cabral R, Tapia Tussel R, Arzola M, Santos R, Pérez M (1998) Phytotoxic effect of culture filtrate from *Fusarium subglutinans* the causal agent of fusarirose of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr. *Euphytica* 104, 73-77.
- Borrás Hidalgo O, Santos R, Tussel RT, Matos APd, Cabral RS, Arzola M, Perez MC, de Matos AP (1999) Phytotoxicity of *Fusarium subglutinans* culture filtrates on in vitro plantlets and calli of resistant and susceptible pineapple (*Ananas comosus*). *Plant Pathology* 48, 756-758.
- Bradbury JF (1986) *Guide to plant pathogenic bacteria*.
- Bradbury JF (1988) Identification of cultivable bacteria from plants and plant tissue cultures by use of simple classical methods. *Acta Horticulturae*, 27-37.
- Bradford K, Hsiao T (1982) Stomatal behaviour and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology*, 1508-1513.
- Broadhurst PG, Hartill WFT (1996) Occurrence of *Fusarium subglutinans* on *Cymbidium* orchids in New Zealand. *Plant Disease* 80.
- Brown PH, Hu H (1998) Phloem boron mobility in diverse plant species. *Botanica Acta* 111, 331-335.
- Burdick DM, Mendelssohn IA (1990) Relationship between anatomical and metabolic responses to soil waterlogging in the coastal grass *Spartina patens*. *Journal of Experimental Botany* 41, 223-228.
- Burgess TM, J.; Hardy, G.; Colquhoun, I. (1998) Influence of low oxygen levels in aeroponics chambers on Eucalypt roots infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant disease* 82, 368-373.
- Cabrera Cabrera J, Galan Saucó V, Hernandez Delgado PM, Rodriguez Pastor MC (1997) Single-cycle cultivation of in vitro-propagated Grande Naine banana under subtropical

conditions. Proceedings of the first international symposium on banana in the subtropics, Puerto de la Cruz, Tenerife, Spain, 175-179.

Cachorro P, Ortiz A, Ros Barcelo A, Cerda A (1993) Lignin deposition in vascular tissues of *Phaseolus vulgaris* roots in response to salt stress and Ca²⁺ ions. *Phyton Horn* 33, 33-40.

Cakmak I, Römheld V (1997) Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*, 71-83.

Camacho-Cristóbal JJ, González-Fontes A (2002) Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. In 'La deficiencia en boro provoca cambios cuantitativos y cualitativos en el metabolismo fenólico de plantas de tabaco' pp. 997-1002. (*Plant Physiol Biochem*)

Carlier J, Zapater MF, Lapeyre F, Jones DR, Mourichon X (2000) Septoria leaf spot of banana: a newly discovered disease caused by *Mycosphaerella eumusae* (anamorph *Septoria eumusae*). *Phytopathology* 90, 884-890.

Carlier JM, X.; Jones, D.R (2000) The causal agent. In 'Diseases of banana, abaca and enset'. (Ed. DR Jones) pp. 48-56. (CAB International: London)

Cedeno-M LR, Nieves-M BM, Palacios-Pru EL (1990) *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, a causal agent of soft rot disease of Harton plantain (*Musa AAB*) in Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 3, 6-9.

Champion J (1968) 'El Plátano.' (Barcelona)

Chao L, Zeng D, et al. (1998) *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg - a pathogen causing wetwood in poplar trees. *Scientia Silvae Sinicae* 34, 69-73.

Charpentier JMM-P, P. (1968) 'Carences et troubles de la nutrition minéral chez le bananier.' (Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer: Paris)

Chase AR, Jones JB (1987) Leaf spot and blight of *Strelitzia reginae* (Bird-of-Paradise) caused by *Xanthomonas campestris*. *Plant Disease* 71, 845-847.

Cheesman EED, Simmonds NW (1948) 'Classification of the bananas III.' (*Kew Bull*)

Chellemi DOP, I.J. (2001) The role of plant pathology in understanding soil health and its application to production agriculture. *Australasian Plant Pathology*, 103-109.

Clark CJ, Smith GS (1988) Seasonal accumulation of mineral nutrients by kiwifruit. 2. Fruit. *New Phytologist* 108, 399-409.

Clark G (1993) 'Stain procedures.' (Ed. William-Wilkins)

Conner RL, Hwang SF, Stevens RR (1996) *Fusarium proliferatum*: a new causal agent of black point in wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18, 419-423.

- Cordeiro ZJM, Kimati H, Dias CTdS, dos SDCT (2001) Pathogenic variability of *Mycosphaerella musicola*. *Summa Phytopathologica* 27, 291-295.
- Correll JCK, C.J.R.; Leslie, F. (1987b) Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77, 1640-1646.
- Cos Terror JFT, D (2001) Determination of macronutrients to be included in in vitro culture media according to leaf concentrations. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 76, 484-488.
- Crisci JLA, MF (1983) 'Introducción a la taxonomía numérica.' (Washington, D.C.)
- Da Costa IC (1982) Agricultural aspects of banana cultivation in polders in Suriname. In 'International Symposium: Polder of the world.' Letystad. The Netherlands
- Dale JL, Burns, T., Oehlschalager, S., Karan, M. (1993) 'Banana Bunchy top virus: prospects for control through biotechnology.' (INIBAP: San José, Costa Rica)
- Daugherty CJ, Musgrave ME (1994) Characterization of populations of rapid-cycling *Brassica rapa* L. selected for differential waterlogging tolerance. *Journal of Experimental Botany* 45, 385-392.
- Davis RI, Fegan M, Tjahjono B, Rahamma S (2000) An outbreak of blood disease of banana in Irian Jaya, Indonesia. *Australasian Plant Pathology* 29, 152.
- Deacon JS (1997) 'FPD of bananas: a nematode problem?' CSFRI, Levubu.
- Deacon JW, Herbert JA, Dames J (1985) Fals Panama disorder of bananas. In 'Citrus and Subtropical Fruit Research Institute Information Bulletin'. pp. 15-18.
- Deborath SDP, A.; Vidhyasekaran, P.; Velazhahan, R. (2001) Time-course study of the induction of defense enzymes, phenolics and lignin in rice in response to infection by pathogen and non-pathogen. *Zeitschrift-fur-Pflanzenkrankheiten-und-Pflanzenschutz* 108, 204-216.
- Declercq S, Risede JM, Rufyikiri G, Delvaux B (2002) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on severity of root rot of bananas caused by *Cylindrocladium spathiphylli*. *Plant Pathology* 51, 109-115.
- Demeke T (1986) Is Ethiopia's *Ensete ventricosum* crop her greatest potential food? *Agriculture International* 38, 362-365.
- Dickey RS, Victoria JI (1980) Taxonomy and emended description of strains of *Erwinia* isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. *International Journal of Systematic Bacteriology* 30, 129-134.
- Ding N, Musgrave ME (1995) Relationship between mineral coating on roots and yield performance of wheat under waterlogging stress. *Journal of Experimental Botany* 46, 939-945.

Dobren' kova LG (1980) Anatomical changes in strawberry under conditions of drought and salinity. Byulleten' Vsesoyuznogo Ordena Lenina i Ordena Druzhby Narodov Instituta Rasteniievodstva Imena N. I. Vavilova, 56-57.

Domínguez Correa PN (2000) Antagonismo y supresión de *Phytophthora cinnamomi* Rands en suelos de Laurisilva y efectos del preparado BINAB sobre el patógeno. Proyecto Final de Carrera para la obtención del título de Ingeniero Técnico Agrónomo thesis, Universidad de La Laguna.

Dominguez JN, M.A.; Rodríguez, C.M. (2001) Allophane content in conducive and suppressive soils to *Fusarium* wilt of banana from Canary Islands (Spain). Soil Management and Agronomy 7 th International Meeting on Soils with Mediterranean Type of Climate, 441-443.

Domínguez JN, M.A.;Rodríguez, C.M. (2000) Aggregate water-stability, particle-size and soil solution properties in conducive an suppressive soils to *Fusarium* wilt of banana from Canary Islands (Spain). Soil Biology and Biochemistry, 449-455.

Dorel M (1990) Problems related to physical characteristics of soils in banana plantations. Fruits Paris 45, 94-97.

Dorel M (1993) Développement du bananier dans un andosol de Guadeloupe: effet de la compacité du sol. Fruits 48, 83-88.

Dorel M, Ozier Lafontaine H (1998) Irrigation of banana plantations in ferralsols and vertisols in Guadeloupe: testing indicators for the water status of the crop. Fruits Paris 53, 17-26.

Drew MC, Sisworo EJ, Saker LR (1979) Alleviation of waterlogging damage to young barley plants by application of nitrate and a synthetic cytokinin, and comparison between the effects of waterlogging, nitrogen deficiency and root excision. New Phytologist 82, 315-329.

Duniway JM (1971) Water relations of *Fusarium* wilt in tomato. Physiological Plant Pathology 1, 537-546.

Dunlap VC (1923) 'Weekly reports on banana investigations.' United Fruit Co. , Panamá Div., Panamá.

Eckstein K, Robinson JC (1996) Physiological responses of banana (*Musa* AAA; Cavendish sub-group) in the subtropics. VI. Seasonal responses of leaf gas exchange to short-term water stress. Journal of Horticultural Science 71, 679-692.

Eden Green SJ, Hayward AC, Hartman GL (1994) Diversity of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria in south east Asia: new directions for moko disease. In 'Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*' pp. 25-34; 38 ref. (Cab International: Wallingford; UK)

Eden Green SJ, Sastraatmadja H (1990) Outbreaks and new records. Indonesia. Blood disease of banana present in Java. FAO Plant Protection Bulletin 35, 49-50.

- Elena K, Kranias L (1996) *Fusarium* spp. as a cause of crown and root rot of asparagus in Greece. *Bulletin OEPP* 26, 407-411.
- Engelaar W, Jacobs M, Blom C (1993) Root growth of *Rumex* and *Plantago* species in compacted and waterlogged soils. *Acta Botanica Neerlandica* 42, 25-35.
- Engels R, Kramer J (1996) Incidence of fusaria and occurrence of selected *Fusarium* mycotoxins on *Lolium* spp. in Germany. *Mycotoxin Research* 12, 31-40.
- Epstein E (1973) Flow in the phloem and the immobility of calcium and boron: a new hypothesis in support of an old one. *Experientia* 29, 133-134.
- Everard J, Drew MC (1989) Water relations of sunflower (*Helianthus annuus*) shoots during exposure of the root system to oxygen deficiency. *Journal of Experimental Botany* 40, 1255-1264.
- Forsythe W (1975) 'Manual de Laboratorio. Física de suelos.' (San José, Costa Rica)
- Frisullo SL, A.;Moretti, A.;Grammatikaki, G.; Bottalico, A. (1994) Banana corm and root by *Fusarium compactum*, in Crete. *Phytopathologia Mediterranea* 33, 78-82.
- Gadallah MAA, Ramadan T (1997) Effects of zinc and salinity on growth and anatomical structure of *Carthamus tinctorius* L. *Biologia Plantarum* 39, 411-418.
- Galan Saucó V (1992) 'Los frutales tropicales en los subtrópicos. II. Plátano (Banano).' (Madrid)
- Galan Saucó V, García Samarín J (1984) Aplicación de los criterios de alometría y ortogonalidad a la platanera. *Musa Acuminata Colla (AAA), cv. Pequeña Enana en Canarias*. *Fruits* 39, 379-388.
- Ganry J (1973) Étude du développement du système foliaire du bananier en fonction de la température. *Fruits* 28, 499-516.
- García- Arenal F (1978) 'Mecanismos de defensa activa de las plantas ante los patógenos.' Fundación Juan March, Madrid.
- García V, Fernández Caldas E, Álvarez CE, Robles J (1978) Potassium-magnesium imbalance in Tenerife banana plantations. *Fruits* 33, 7-13.
- Ghavami M (1976) Banana plant response to water table levels. *Transactions of the ASAE* 19, 675-677.
- Green GCaK, FA (1969) Growth of the banana plant in relation to winter air temperature fluctuations. *Agroplanta* 1, 157-162.
- Grimaldi M (1986) The effects of dynamic compaction on a silty soil material. *Science du Sol* 24, 269-284.

- Guzman M, Sandoval J (1996) Symptoms of pseudostem soft rot in the hybrids FHIA-01 and FHIA-02. *Corbana* 21, 145-150.
- Hahn SK, Ikotun T, Theberge RL, Swennen R (1989) Major economic diseases of cassava, plantain, and cooking/starchy bananas in Africa. *Tropical Agriculture Research Series*, 106-112.
- Halperin SJ, Kochian LV, Lynch JP (1997) Salinity stress inhibits calcium loading into the xylem of excised barley (*Hordeum vulgare*) roots. *New Phytologist* 135, 419-427.
- Hampson MC, Sinclair WA (1973) Xylem dysfunction in peach caused by *Cytospora leucostoma*. *Phytopathology* 63, 676-681.
- Hasan AK, MW (1993) The role of fungi in fungus-nematode interactions. *Nematode interactions* 97, 273-287.
- Hayward AC (1994) Pseudomonads infecting *Musa* spp. and clove (*Syzygium aromaticum*) in South East Asia: phylogeny and nomenclature of the causative agents and significance in plant quarantine. *Australasian Plant Pathology* 23, 163-169.
- Heiskanen J, Roeber RU (1996) Air-filled porosity of eight growing media based on sphagnum peat during drying from container capacity. *Proceedings of the international symposium on growing media and plant nutrition in horticulture, Freising, Germany*, 277-286.
- Herichova A (1986) Relation of boron to the differentiation of conducting tissues. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae, Physiologia Plantarum*, 13-21.
- Hernández J, Dubón F (1992) 'Sistemática Bacteriana 3ªEd.' (Valencia)
- Hernández J, Sabadell S (2000) Estudios preliminares del "Falso Mal de Panamá". In 'X Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología.' Valencia
- Hernández J, Sabadell S (2002) 'Trabajos realizados en platanera en el periodo 1980-2001.' (Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación.: Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias.)
- Hernández JM (1997) Caracterización de la estructura de virulencia y determinación de los grupos de compatibilidad vegetativa (VCG's) en poblaciones de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense presentes en Canarias., Universidad de La Laguna.
- Hernandez MES, Davila AR, Algaba APd, Lopez MAB, Casas AT, De Algaba AP (1998) Occurrence and etiology of death of young olive trees in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology* 104, 347-357.
- Holder GD, Gumbs FA (1983) Effects of waterlogging on the growth and yield of banana. *Foliar diagnosis, soil analysis, St. Lucia. Trop Agric. (Trinidad)* 60, 111-116.
- Houwe Ivd, Guns J, Swennen R, van den Houwe I, Galan Sauco V (1998) Bacterial contamination in *Musa* shoot tip cultures. *Acta Horticulturae*, 485-492.

- Howell AB, Francois L, Erwin DC (1994) Interactive effect of salinity and *Verticillium albo-atrum* on *Verticillium* wilt disease severity and yield of two alfalfa cultivars. *Field Crops Research* 37, 247-251.
- Hu H, Penn SG, Lebrilla CB, Brown PH, Hu HN (1997) Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. The mechanisms of phloem mobility of boron. *Plant Physiology* 113, 649-655.
- Huang B, Johnson JW (1995) Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Annals of Botany* 75, 427-432.
- Huang B, Johnson JW, Box JE, NeSmith DS (1997) Root characteristics and hormone activity of wheat in response to hypoxia and ethylene. *Crop Science* 37, 812-818.
- Huang B, Johnson JW, NeSmith DS, Huang BR (1997) Responses to root-zone CO₂ enrichment and hypoxia of wheat genotypes differing in waterlogging tolerance. *Crop Science* 37, 464-468.
- Irizarry H, Silva S, Vicente Chandler J (1980) Effect of water table level on yield and root system of plantains. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 64, 33-36.
- Jackson ML (1982) 'Análisis químico de suelos.' (Barcelona)
- Jimenez M, Heurta T, Mateo R (1997) Mycotoxin production by *Fusarium* species isolated from bananas. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 364-369.
- Jimenez M, Logrieco A, Bottalico A (1993) Occurrence and pathogenicity of *Fusarium* species in banana fruits. *Journal of Phytopathology* 137, 214-220.
- Jones DR (2000) 'Diseases of Banana, Abacá and Enset.' (CABI Publishing)
- Jorge MR, AI; Mashingaidze, AB; Keogh, E (2001) Distinguishing the effects of light and temperature variations on the growth, development, multiplication potencial and ex vitro survival rates of in vitro cassava. *Ann. appl. Biol.* 138, 363-370.
- Kangire AK, EB.; Gold, C.; RutherfordMA. (2000) *Fusarium* wilt of banana in Uganda, with special emphasis on wilt-like symptoms observed on East African Highland cooking cultivars (*Musa* spp., AAA). First International Conference on Banana and Plantain for Africa, Kampala, Uganda, 14-18 October, 1996. *Acta-Horticulturae*. 2000 No. 540, 343-353.
- Kistler HC (1997) Genetic Diversity in the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87, 474-479.
- Klement ZR, K.; Sands, D.C (1990) 'Methods in Phytobacterology.' (Budapest)
- Klute Ae (1986.) 'Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods. 2nd.' (Ed. Agronomy monograph no.9.: Madison:ASA-SSSA)

Kneifel W, Leonhardt W (1992) Testing of different antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated from plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 29, 139-144.

Ko W, Chen S, Chao C, Hwang S, Ko WH, Chen SP, Chao CP, Hwang SC (1997) Etiology and control of heart rot of banana tissue culture plantlets. *Plant Pathology Bulletin* 6, 31-36.

Koch AL (1975) The Kinetics of Mycelial Growth. *Journal of General Microbiology* 89, 209-216.

Kohn S, Leh HO, Zeller W, Schmidle A, Petzold H, Marwitz R, Heinze K (1974) Institute for Bacteriology, Berlin-Dahlem. In 'Annual Report for 1973, Federal Biological Institute for Agriculture and Forestry at Berlin and Brunswick.: Jahresbericht 1973, Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft in Berlin und Braunschweig. 1974, 52 58.' pp. 53-54.

Korobko AP (1997) Bacterial wilt of pseudobanana (*Ensete ventricosum*). *Mikrobiologichnii Zhurnal* 59, 44-53.

Kostecki ML, A.; Szczesna, J.; Chelkowski, J.; Pronczuk, M.; Wisniewska, H.; Golinski, P.A.D. (1994) Susceptibility of maize hybrids to infection by *Fusarium subglutinans* and accumulation mycotoxins moniliformin and beauvericin in cobs. *Genetica-Polonica* 35B, 213-217.

Lahav E (1995) 'Relaciones agua-nutrientes en platanera.' Canarias Explosivos, S.A., S/C Tenerife.

Lahav E, Israeli Y (2000) Mineral Deficiencies of Banana. In 'Diseases of Banana, Abacá and Enset'. (Ed. D Jones) pp. 339-350. (CABI Publishing: Wallingford, Oxon, UK)

Lahav EI, Y.; Jones, D.R. and Stover, R.H. (1999) Non-infectious disorders of banana. In 'Diseases of banana, abacá and Enset'. (Ed. DR Jones) pp. 325-338. (CABI Publishing: Wallingford, Oxon, UK)

Lakshmanan P, Mohan S (1992) Studies on rhizome rot and tip over disease of banana. *Madras Agricultural Journal* 79, 56-57.

Lecuona MC (1975) 'Contribución al estudio estructural de la platanera canaria.'

Lehto T, Kallio E, Aphalo PJ (2000) Boron mobility in two coniferous species. *Annals of Botany* 86, 547-550.

Lelliott RA, Stead DE (1987) 'Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants.' (British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications: London)

Liao C-T, Lin C-H (2001) (Invited Review Paper) Physiological Adaptation of Crop Plants to Flooding Stress. *Proc. Natl. Sci. Counc. ROB (B)* 25, 148-157.

- Liese W (1998) Structural Modifications. Wound Effects. In 'The Anatomy of Bamboo Culms' pp. 204. (INBAR (International Network for Bamboo and Rattan))
- Lockhart BEL, Jones DR (2000) Banana Mosaic. In 'Diseases of Banana, Abacá and Enset'. (Ed. E D. R. Jones) pp. 256-263. (CABI Publishing: London)
- Logrieco A, Moretti A, Altomare C, Bottalico A, Torres EC (1993) Occurrence and toxicity of *Fusarium subglutinans* from Peruvian maize. *Mycopathologia* 122, 185-190.
- Lopez Cabrera JJMD, A.; Galan Sauco, V. (1998) Use of hot water dips to control the incidence of banana crown rot. *Acta-Horticulturae*. 490, 563-569.
- López Encinas C (2003) Reacciones de Hipersensibilidad en plantas cultivadas in vitro. In. (<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS26/26reacciones.html>)
- Luquin M, Ausina V, López-Calahorra F, Belda F, García Barceló M, Celma C, Prats G (1991) Evaluation of practical chromatographic procedures for identification of clinical isolates of mycobacteria. *Journal of Clinical Microbiology*. 29, 120-130.
- Maciel Cordeiro ZJ, Lúcia Borges A (2000) Problemas de causa abiótica e anormalidades de causa desconhecida. *Frutas do Brasil. Banana Fitossanidade* 8, 87-95.
- Malcolm CD, Lewis HS (1991) Drew and Stolzy. Growth Under Oxygen Stress. In 'Plant Roots: The hidden half.' (Ed. YE Waisel, A.; Kafkafi, U.). (Marcel Dekker Inc.: Neww York)
- Marin S, Sanchis V, Magan N (1995) Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian Journal of Microbiology* 41, 1063-1070.
- Marriott J, Been BO, Perkins C (1978) The aetiology of vascular discoloration in cassava roots after harvesting: association with water loss from wounds. *Physiologia Plantarum* 44, 38-42.
- Marriott J, Been BO, Perkins C (1979) The aetiology of vascular discoloration in cassava roots after harvesting: development of endogenous resistance in stored roots. *Physiologia Plantarum* 45, 51-56.
- Marschner H (1986) Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press, 673p.
- Marschner H, Kirkby EA, Cakmak I, Hall JL, Baker DA, Oparka KL (1996) Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* 47, 1255-1263.
- Martelleto LAP, Castilho AMC, Goes Ad, de Goes A (1998) Influence of incubation temperature on mycelial growth, sporulation and pathogenicity of *Fusarium subglutinans*, the causing agent of *Fusarium* wilt in the pineapple plant. *Summa Phytopathologica* 24, 3-4.

- Martin-Prevel P, Gagnard, J., Gautier, p. (1984) 'L'analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales.' (Paris)
- McCoy RE (1982) Chronic and Insidious Disease: The Fastidious Vascular Pathogens. In 'Phytopathogenic prokaryotes.' (Ed. MSMaGH Lacy) pp. 475-489. (Academic Press, Inc.: New York)
- Mee C, Hyun I, Lee Y, Lee D, Chang M, Hyun IH, Lee YH, Lee DH (1998) Leaf spot of *Cymbidium hybrida* caused by *Fusarium proliferatum*. Korean Journal of Plant Pathology 14, 664-667.
- Melati MR, Scialabba A, Bellani LM (1993) Effect of treatments of different duration with NaCl on growth, differentiation and esterase activity in excised radish cotyledons. Acta Botanica Gallica 140, 793-802.
- Meredith DS (1970) 'Banana Leaf Spot Disease (Sigatoka) caused by *Micosphaerella musicola* Leach.' Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.
- Miller LTB, T. (1985) 'Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids.'
- Misaghi IJ, DeVay JE, Duniway JM (1978) Relationship between occlusion of xylem elements and disease symptoms in leaves of cotton plants infected with *Verticillium dahliae*. Canadian Journal of Botany 56, 339-342.
- Molina A (1999) Fruit rot diseases of cooking banana in Southeast Asia. Infomusa 8, 29-30.
- Mollenhauer HH, Hopkins DL (1976) Xylem morphology of Pierce's disease-infected grapevines with different levels of tolerance. Physiological Plant Pathology 9, 95-100.
- Moretti A, Logrieco A, Ritieni A, Randazzo G, Bottalico A, Macchia L (1998) Beauvericin and fusaproliferin: emerging *Fusarium* toxins. Bulletin of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University, 13-21.
- Moskaleva GI, Sinel'nikova VN (1976) Anatomical structure of the roots and stem of young tomato plants grown under normal and saline conditions. Trudy po Prikladnoi Botanike, Genetike i Seleksii 57, 148-155.
- Naidoo G, McKee KL, Mendelssohn IA (1992) Anatomical and metabolic responses to waterlogging and salinity in *Spartina alterniflora* and *S. patens* (Poaceae). American Journal of Botany 79, 765-770.
- Nelson PE, Ploetz RC (1990) Taxonomy of fungi in the genus *Fusarium* with emphasis on *Fusarium oxysporum*. *Fusarium wilt of banana*.
- Nelson PE, Tousson TA, Cook RJ (1981) 'Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy.' (The Pennsylvania State University: Pennsylvania State)

Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO (1983) 'Fusarium species: An Illustrated Manual for Identification.' (Pennsylvania State Univ. Press, University Park.)

Nemec S (1995) Stress-related compounds in xylem fluid in blight-diseased citrus containing *Fusarium solani* naphthazarin toxins and their effects on the host. *Canadian Journal of Microbiology* 41, 515-524.

Nicole M, Boher B, et al. (1996) Contribution of cytology to the study of defence mechanisms of plants to parasitic attacks. In 'Interactions insectes plantes. Actes des 5e journées du groupe de travail Relations insectes plantes, Montpellier, France 26 27 Octobre 1995. 1996, 19 28; 39 ref.' (Edition de l'ORSTOM; Paris; France)

Noon RA, Booth RH (1977) Nature of post-harvest deterioration of cassava roots. *Transactions of the British Mycological Society* 69, 287-290.

Novo M, Lucas M, Masa A, Pomar F, Merino F (2002) 'Compuestos fenólicos autofluorescentes responsables del pardeamiento en tallos de *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infectados por *Verticillium dahliae* Kleb.' XUGA, A Coruña.

O' Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC (1998) Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 2044-2049.

Orjeda G (1998) 'Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka y marchitamiento por *Fusarium*.' (INIBAP)

Osborn AE (2001) Plant mechanisms that give defence against soilborne diseases. *Australasian Plant Pathology*, 99-102.

Owen Bartlett EJ (1977) The effect of different oxygen and salinity levels in the rooting media on the growth of cotton (*Gossypium barbadense* and *G. hirsutum* L.). *Dissertation Abstracts International*, B 38, 2470-2471.

Page AL, Miller, R.H., and D. R. Keeney (ed). (1986.) 'Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological properties.' (Madison:ASA-SSSA)

Panis B, Thinh NT (2001) 'Crioconservación de germoplasma de Musa.' (INIBAP)

Pemberton IJ, Smith GR, Philley GL, Rouquette FM, Jr., Yuen GY (1998) First report of *Pythium ultimum*, *P. irregulare*, *Rhizoctonia solani* AG4, and *Fusarium proliferatum* from arrowleaf clover (*Trifolium vesiculosum*): a disease complex. *Plant Disease* 82.

Peng HX, Sivasithamparam K, Turner DW (1999) Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1363-1374.

Peñalver RD-V, N.; López, M.M. (1994) Characterisation and pathogenicity of bacteria from shoot tips of the globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Ann. Appl. Biol.* 125, 501-513.

Peregrine WTHB, J (1992) The lesion nematode *Pratylenchus goodeyi*, an important pest of Ensete in Ethiopia. *Tropical Pest Management* 38, 325-326.

Pereira LV, Nunes RAS (1988) Soft rot of the rhizome and pseudostem of banana (*Musa acuminata*). *Fitopatologia Brasileira* 13, 70-71.

Perez Mateos J, Fernandez Caldas E (1972) Primary minerals in Tenerife soils. *Anales de Edafologia y Agrobiologia* 31, 11-12.

Permar JH (1925) 'Colorado disease in the Farm 8 Lacatan Planting. A. REp. United Fruit Co. for period December 27, 1924, to December 5, 1925, Panamá Div.' Panamá.

Photita W, Lumyong S, Lumyong P, Hyde KD, Wipornpan P, Saisamorn L, Pipob L (2001) Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. In 'Paper presented at the Asian Mycological Congress 2000, incorporating the 2nd Asia Pacific Mycological Congress on Biodiversity and Biotechnology, Hong Kong, 9-13 July 2000. *Mycological Research*. 2001, 105: 12, 1508-1513; 34 ref.'

Pinochet J (1979) Nematode-fungus associations in bananas and plantains. *Society of Nematologists: Abstracts of papers presented at the 18th Annual Meeting, Salt Lake City, Utah, July 11*, 311-312.

Pinochet JG, Stover RH (1980) Fungi in lesions caused by burrowing nematodes on bananas and their root and rhizome rotting potential. *Tropical Agriculture* 57, 227-232.

Pinto L, Azevedo JL, Pereira JO, Vieira MLC, Labate CA (2000) Symptomless infection of banana and maize by endophytic fungi impairs photosynthetic efficiency. *New Phytologist* 147, 609-615.

Pires de Matos A, Santos Cabral JR, Fritzon Sanches N, Correa Caldas R (2000) Effect of temperature and rainfall on the incidence of *Fusarium subglutinans* on pineapple fruits. *Acta Horticulturae* 529, 265-272.

Pissarek HP (1980) Macro- and microsymptoms of boron deficiency of sunflowers, chinese cabbage and corn. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 143, 150-160.

Ploetz R, Galan Sauco V (1998) Banana diseases in the subtropics: a review of their importance, distribution and management. *Acta Horticulturae*, 263-276.

Ploetz RB, S. (1999) Workshop on pathogenic and genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC).

Ploetz RC, Correll JC (1988) Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Plant Disease* 72, 325-328.

Ploetz RCaP, K. G. (1997) *Fusarium* wilt of banana and Wallace's line: Was the disease originally restricted to his Indo-Malayan region? *Australasian Plant Pathology* 26.

- Ploetz RH, John;Sebasegari, Kabonyi; Hernández, Julio H; Pegg,Kenneth G.; Ventura,José S.; and Luisa Sala Mayato (1990) Importance of Fusarium Wilt in Different Banana Growing Regions. In 'Fusarium Wilt of Banana'. (Ed. RC Ploetz) pp. 9-26. (The American Phytopathological Society: St. Paul, Minnesota. USA.)
- Pocasangre LS, R.A.; Vilich, V.; Schuster, R.P. (2000) Survey of banana endophytic fungi from Central America an screening for biological control of the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Infomusa* 9, 3-5.
- Ponnamperuma FN (1984) Effects of flooding on soils. In 'Flooding and plant growth'. (Ed. e T.T. Kozlowsky). (Academic Press Inc.: Florida)
- Ponz F (1995) Resistencia a virus de plantas. In 'Patología Vegetal. I'. (Ed. LL LLacer, M.M.; Trapero, A.; Bello, A.) pp. 101-118. (Sociedad Española de Fitopatología (SEF): Phytoma-España)
- Prescott SC (1917) Diseases of banana. In 'Bull. United Fruit Co. Res. Dep.'
- Puhalla JE (1985) Calssifications of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63, 179-183.
- Ranasinghe LJ, B.; Abeywickrama, K. (2002) Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolates from banana. *Letters in Applied Microbiology* 35, 208-211.
- Raven JA (1980) Short- and long-distance transport of boric acid in plants. *New Phytologist* 84, 231-249.
- Regalado-Guijarro VMH-H, J. M. (1998) Racial structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense in the Canary Islands. In 'Proceedings of the First International Symposium on Banana in the Subtropics'. Puerto de la Cruz. Tenerife . Islas Canarias. (Ed. VG Sauco) pp. 315-321. (*Acta Horticulturae*)
- Reinhardt DH, Rost TL (1995) Developmental changes of cotton root primary tissues induced by salinity. *International Journal of Plant Sciences* 156, 505-513.
- Reinking OA (1926) Fusaria inoculations experiments. Relationships of various species of fusaria to wilt and Colorado disease of bananas. *Phytopathology* 16, 371-392.
- Richards LA (1965) Physical condition of water in soil. In 'Method of soil analysis. I. Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling.' (Ed. CA Black) pp. 128-158. (American Society of Agronomy: Madison, Wisconsin)
- Rickard JE, Marriott J, Gahan PB (1979) Occlusions in cassava xylem vessels associated with vascular discoloration. *Annals of Botany* 43, 523-526.
- Risède JM Eléments de caractérisation de *Cylindrocladium* sp. agent de nécroses racinaires du bananier en Martinique. *Fruits* 49, 167-178.

Risede JM, Simoneau P (2001) Typing *Cylindrocladium* species by analysis of ribosomal DNA spacers polymorphism: application to field isolates from the banana rhizosphere. *Mycologia* 93, 494-504.

Rishbeth J (1955) Fusarium wilt of bananas in Jamaica. I. Some observation on the epidemiology of the disease. *Ann bot. London* 19, 293-328.

Rivera Docando N (1978) Comparative study of two new bacterial diseases in banana-growing areas of Cuba. *Agrotecnia de Cuba* 10, 35-44.

Robinson JC, Bower JP (1988) Transpiration from banana leaves in the subtropics in response to diurnal and seasonal factors and high evaporative demand. *Scientia Horticulturae* 37, 1-2.

Robinson JC, Manicom BQ (1991) Rhizomes of new banana cultivars are susceptible to *Erwinia* corm rot. *Inlightingsbulletin Navorsingsinstituut vir Sitrus en Subtropiese Vrugte*, 1-2.

Rodrigo López J (2002) El agua y la agricultura en Canarias (El regadío en Canarias). *Libro Blanco de la Agricultura y el Desarrollo Rural*, 7pp.

Rodríguez Brito W (1985) El cultivo del platano en Tenerife. *Gaceta Daute* II.

Rodríguez Pascual CFC, E; Borges Perez,A (1971) Mineralogy of the clay and silt fractions of some Tenerife volcanic soils. *Anales-de-Edafologia-y-Agrobiologia*. 30:, 1031-1053.

Rodríguez Santana FR, Ortega Rodríguez MP, Ponte Cullen B, De Ponte CB (1984) Preliminary conclusions on nematode control in banana crops through drip irrigation. Evolution of populations of *Pratylenchus* spp. and *Meloidogyne* spp. in Tenerife. *Comunicaciones del III Congreso Nacional de Fitopatología*. Puerto de la Cruz 29, 124-132.

Roget DK (2001) Prediction modelling of soilborne plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 85-89.

Rutherford MAK, A.; Kung'u, J.N.; Mabagala, R,B. (1999) Fusarium Wilt of banana. United Kingdom Department for International Development (UK DfID), 1-6.

Sabadell González S (1999) Efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares y antagonistas microbianos sobre el cultivo del fresón. UAB.

Sabadell González S, Hernández JM (1999) Panama disease and similar disorders (False Panama disease) in the Canary Islands. *International Seminar & Workshop on the Banana Fusarium Wilt disease*. 'Banana Fusarium Wilt management towards sustainable cultivation'.

Sabadell S, Hernández J (1999) Panama disease and a similar disorder ('False Panama') in the Canary Islands. In 'Banana Fusarium wilt management: Towards sustainable

cultivation. Proceedings of the International workshop on the banana fusarium wilt disease.' Malasya. (Ed. NHNMaKWL A.B. Molina) pp. 266-274. (INIBAP)

Sabadell S, Hernández J (2003) Pathogenicity of fungal species associated with false Panama disorder of banana in the Canary Islands. In '2 International symposium on fusarium wilt on banana'. Salvador de Bahia, Brazil. (Ed. Embrapa) pp. 15-16

Salazar PH, Duque S (1994) Cultural and chemical control of the pseudostem pit (*Erwinia chrysanthemi* pv. *paradisiaca*) in *Musa* spp. *Fitopatología Colombiana* 18, 9-13.

Sandoval JA, Müller L (1990) Anatomía y morfología de la planta de banano (*Musa* AAA). In 'Jornadas dedicadas a la platanera'. (Sta. Cruz de Tenerife)

Santana JL, Suarez CL, Fereres E, Lopez Galvez J (1992) Evapotranspiration and crop coefficients in banana. International symposium on irrigation of horticultural crops, Almeria, Spain, 341-348.

Schaad NW (1988) 'Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria.' (The American Phytopathological Society: St. Paul, Minnesota)

Schippers B, Gams W (1979) 'Soil-borne plant pathogens.' (London)

Sheikh MI, Ismail CM, Zakaullah C (1978) A note on the causes of mortality of bamboo around Sargodha. *Pakistan Journal of Forestry* 28, 127-128.

Shelp BJ, Marentes E, Kitheka AM, Vivekanandan P (1995) Boron mobility in plants. *Physiologia Plantarum* 94, 356-361.

Shelp BJ, Shattuck VI, Proctor JTA (1987) Boron nutrition and mobility, and its relation to the elemental composition of greenhouse grown root crops. II. Radish. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 18, 203-219.

Shtefyrtse AA, Chernat VI (1994) Respiration of apple tree leaves and roots in conditions of temporary soil waterlogging. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 78-83.

Simmonds N (1962) 'The evolution of the Bananas.' (New York)

Simmonds NW (1966) 'Los platanos.' (Blume: Barcelona)

Simmonds NW, Shepherd K (1955) The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *The Journal of the Linnean Society of London* 55, 302-312.

Siverio F, Carbonell Garcia F, López MM (1996) Characteristics of the whole cell Fatty Acid Profiles of *Pseudomonas corrugata*. *European Journal of Plant Pathology*, 102, 19-526.

Snyder WC, Hansen, H. W. (1940) The species concept in *Fusarium*. . *Am. J. Botany*. 27, 64-67.

- Soguilon CE, Magnaye LV, Natural MP (1994) Bugtok disease of cooking banana in the Philippines. *Infomusa* 3, 21-23.
- Soguilon CE, Magnaye LV, Natural MP (1995) Bugtok disease of banana. In 'Musa Disease Fact Sheet. 1995, No. 6, 2 pp.'
- Soto M (1985) 'Bananas. Cultivo y comercialización.' (San José)
- Sridhar R, Buddenhagen IW, Ou SH (1973) Phenol localization in rice leaf tissues. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 8, 13-18.
- Stanosz GR, Blodgett JT, Smith DR, Kruger EL (2001) Water stress and *Sphaeropsis sapinea* as a latent pathogen of red pine seedlings. *New Phytologist* 149, 531-538.
- Stevens RM, Harvey G (1995) Effects of waterlogging, rootstock and salinity on Na, Cl and K concentrations of the leaf and root, and shoot growth of Sultana grapevines. *Aust. J. Agric. Res.* 46, 541-551.
- Stewart D, Treshow M, Harner FM (1973) Pathological anatomy of conifer needle necrosis. *Canadian Journal of Botany* 51, 983-988 + 1 pl.
- Stover RH (1953) The effect of soil moisture on *Fusarium* species. *Canadian Journal of Botany* 31.
- Stover RH (1953) The effect of soil moisture on the growth and survival of *Fusarium oxysporum* f. *cubense* in the laboratory. *Phytopathology* 43, 499-504.
- Stover RH (1959a) Studies en *Fusarium* wilt of bananas. IV. Clonal Differentiation among wild types isolates of *F. oxysporum* f.sp. *cubense*. *Can.J.Botany* 37, 245-255.
- Stover RH (1959b) A rapid and simple pathogenicity test for detecting virulent clones of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Nature* 14, 1591-1592.
- Stover RH (1972) 'Banana, Plantains and Abaca diseases.' (Commonwealth Mycological Institute: Kew, Surrey, England)
- Stover RH (1990) *Fusarium* wilt of banana: some history and current status of the disease. *Fusarium wilt of banana* [edited by Ploetz, R.C.].
- Stover RH, Espinoza A (1992) Blood disease of bananas in Sulawesi. *Fruits Paris* 47, 611-613.
- Suárez C (1996) Caracterización de las aguas subterráneas del Valle de la Orotava. In 'VII Curso Internacional de Riego Localizado' pp. 84-89
- Suarez C, Santana J (2002) Calidad Agronómica y uso del agua depurada en la zona agrícola de Las Galletas. In 'Meeting Internacional de riego'. Puerto de la Cruz, Tenerife. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Gobierno de Canarias.)

- Suárez C, Santana J (2002) 'Manejo de la calidad del agua de riego y del abonado para una agricultura sostenible en platanera.' (Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación.: Santa Cruz de Tenerife. Islas Canarias)
- Suarez Sanchez CL, Santana Ojeda JL (1996) Banana evapotranspiration. Ciclo de seminarios: VII Curso Internacional de Riego Localizado.
- Sun EJ, Su HJ (1984.) Rapid method for determining differential pathogenicity of *Fusarium oxysporum cubense* using banana plantlets. *Tropical Agriculture* 61: 7-8.
- Surga RJ, Guevara Y (1994) Disinfection trials to control bacterial contamination in in vitro culture of banana (*Musa AAA*) apexes. *Fitopatología Venezolana* 7, 14-17.
- Tamietti G, Matta A (1989) The wilt of basil caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *basilicum* in Liguria. *Difesa delle Piante* 12, 213-220.
- Tapia R, Santos R, Quincose M, Pena LM, Borrás O, Companioni B, Blanco MA, Gonzalez JL (1998) Standardization of the process for obtaining *Fusarium* subglutinans metabolites and its effect on pineapple calluses. *Cultivos Tropicales* 19, 51-55.
- Thomas JE, Iskra Caruana ML (2000) Bunchy Top. In 'Diseases of banana, Abacá and Enset'. (Ed. D Jones) pp. 241-253. (CABI publishing)
- Thwaites R, Eden-Geen, S. J., and Black, R. (1999) Diseases caused by bacteria. In 'Diseases of Banana, Abaca y Enset'. (Ed. DR Jones) pp. 213-239. (CABI Publishing: Wallingford, Oxon)
- Trapero Casas A, Jiménez Díaz, R. M. (1985) Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology* 75, 1146- 1151.
- Trought MCT, Drew MC (1980) The development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). 1. Shoot and root growth in relation to changes in the concentrations of dissolved gases and solutes in the soil solution. *Plant and Soil* 54, 77-94.
- Trujillo EE (1962) Pathological-Anatomical studies of Gros michel Banana affected by *Fusarium* wilt. *Phytopathology* 53, 162-166.
- Trujillo EE, Obrero FP (1978) *Cephalosporium* wilt of *Cassia surattensis* in Hawaii. In 'Proceedings of the 4th International Symposium on Biological Control of Weeds, Gainesville, 1976. 1978, 217-220; 10 ref.'
- Udovenko GV, Gradchaninova OD, Gudkova GN, Semushina LA, Morozova AG (1976) Structural and anatomical changes in plants grown under salinity and their physiological importance. *Fiziologiya i Biokhimiya Kul'turnykh Rastenii* 8, 288-292.
- Van Alfen NK (1982) Wilts: Concepts and mechanisms. In 'Phytopathogenic Prokaryotes'. (Ed. MSL Mount, G.H.) pp. 459-474. (Academic Press)

- Van der Meeren PDV, D; Debergh, P (2001) Determination of oxygen profiles in agar-based gelled in vitro plant tissue culture media. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 65, 239-245.
- Van Doorn GW, Cruz P (2000) Evidence for a wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. *Postharvest Biology and Technology* 19, 73-83.
- Van Loon LC (1983) The induction of pathogenesis-related proteins by pathogens and specific chemicals. *Neth. J. Plant Pathol.* 89, 265-273.
- VanderMolen GE (1978) Electron microscopy of vascular obstructions in citrus roots affected with young tree decline. *Physiological Plant Pathology* 13, 271-274.
- Vandermolen GE, Gennaro RN, Peeples TO, Bistline FW (1976) Chemical nature and statistical analysis of the distribution of plugging in blight/YTD-affected citrus trees. 1975, publ 88, 76-79.
- Vargas G, Rodríguez A (2000) Influencia de las aguas de riego en los procesos de salinización y sodificación de suelos en cultivos de plátanos y tomates(I. Canarias). *Edafología* 7-3.
- Venter HAvd, Currier HB (1977) The effect of boron deficiency on callose formation and ¹⁴C translocation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *American Journal of Botany* 64, 861-865.
- Viljoen A, Wingfield MJ, Marasas WFO, Coutinho TA (1995) Characterization of *Fusarium* isolates from gladiolus corms pathogenic to pines. *Plant Disease* 79, 1240-1244.
- Vovlas N, Avgelis A, Goumas D, Frisullo S (1994) A survey of banana diseases in sucker propagated plantation in Crete. *Nematologia Mediterranea* 22, 101-107.
- Waite BH (1977) Inoculation studies and natural infection of banana varieties with races 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. *cubense*. *Plant Disease Reporter* 61, 15-19.
- Warcup JH (1950) The soil -plate method for isolation of fungi from soli. *Nature* 166, 117-118.
- Weaver RW (1994) 'Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties.' (Wisconsin, USA)
- Welch RM, Rengel Z (1999) Importance of seed mineral nutrient reserves in crop growth and development. In 'Mineral nutrition of crops: fundamental mechanisms and implications' pp. 205-226; 47 ref. (Food Products Press: Binghamton; USA)
- Wiengweera AG, H; Campbell J. Thomson (1997) The use of Agar Nutrient solution to stimulate lack of convection in waterlogged soils. *Annals of Botany* 80, 115-123.
- Wu RS, Huang JW (1997) A major causal agent of lily seedling blight: *Fusarium proliferatum*. *Plant Pathology Bulletin* 6, 103-110.

Yabuuchi EK, Y.; Yano, I.; Hotta, H. and Nishiuchi, Y. (1995) Transfer of two Burkholderia and an Alcaligenes species to Ralstonia Gen. Nov. proposal of Ralstonia solanacearum (Smith, 1896) Comb. Nov. and Ralstonia eutropha (Davis, 1969) Comb. Nov. Microbiology and Immunology 39, 897-904.

Zaag de Beer ZH, J.; Sabadell, S. (2001) Enfermedad del Falso Mal de Panamá en banano. In 'Enfermedades de Musa: Hoja divulgativa N° 9. INIBAP'.

Zhang J, Peng Y, Wei S, Chen Y, Zhang JC, Peng YJ, Wei SX, Chen YX (2000) Study on the pathogenicity of Rhizoctonia solani to banana seedlings. Journal of Guangxi Agricultural and Biological Science 19, 85-88.

Zhang J, Wei S, Chen Y, Xie Y, Zhang JC, Wei SX, Chen YX, Xie YJ (1999) Tests on the factors responsible for the development of banana sapling sheath blight. Plant Protection 25, 22-24.

Zimmermann U, Zhu JJ, et al. (1994) High molecular weight organic compounds in the xylem sap of mangroves: implications for long-distance water transport. Botanica Acta 107, 218-229.



ANEXOS

1. Bacterias

1.1. Medio Nutrient Agar

Nutrient Agar (Oxoid)	28 g
Agar bacteriológico	5 g
Agua destilada	1 l

Dejar calentar el agua a 80°C y añadir los dos componentes, agitar bien y repartir 6.5 ml en cada tubo. Autoclavar a 120° durante 20 min.

1.2. Medio LPGA

Bactopeptona	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Glucosa	10.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1.0 l

Se esteriliza en el autoclave durante 20 min. a 121°C

1.3. Detección de pigmentos fluorescentes en medio B de King (Hing y col., 1954).

Proteasa Peptona	20 g
Glicerol	10 ml
Fosfato bipotásico anhidro	1.5 g
Sulfato magnésico hidratado	1.5 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 l

Ajustar el pH a 7 y esterilizar a 120° C durante 20 min.

1.4. TSBA

Composición para 1 l de agua destilada.

Soja Trypticaseina caldo. (500 Gr BBLBD)	30 g/l
Bacto-agar (Difco)	15 g/l

Autoclavar a 121°C durante 15 minutos.

1.5. Reacción a una solución de KOH al 3%

Sobre un portaobjetos se depositan unas gotas de KOH 3%, a continuación se realiza un frotis con una asa de Köller que con la luz de la punta llena de cfu recogidas de una placa sembrada en triple estría del tercer cuadrante (células en estado exponencial) y se separa el asa suavemente dos o tres veces del porta, si se forma un hilo mucilaginoso desde la suspensión de cfu en KOH unido al asa posiblemente las células son gram -, si no se forma un hilo mucilaginoso son gram +.

1.6. Tinción del gram

Diferencia los organismos gram-positivos de organismos gram-negativos. Se realizó preparando un frotis de células que se cubrió con cristal violeta (= violeta de genciana) durante 2 min. Este colorante además de teñir fija las posee acción fijadora. Se lavó con agua y a continuación se aplicó lugol (ioduro potásico) durante 1 min. Se lavó con una mezcla de alcohol acetona hasta que no se observó a simple vista pérdida de color. Se lavó con agua y se dejó secar la preparación a temperatura ambiente, que se observó al microscopio óptico. Las bacterias gram negativas se destiñen con el alcohol acetona, por eso se observan color violeta, mientras que las gram positivas se observan color rojas.

1.7. Crecimiento anaeróbico en el medio Hugh y Leifson (Hugh y leifson, 1953)

BactoTryptona	2.0 g
Cl	5.0 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
Agar	5.0 g
Azul de bromotimol 0.2%	40ml
Glucosa	10.0 g
Agua destilada	1.0 l

Se ajusta el pH a 7.1 (coloración verde del medio) y se esteriliza en autoclave 20 min. a 120° C. Se reparte 5 ml por tubo. Se inoculan dos tubos por cepa, uno de ellos se cubre con 3-4 cm de aceite de vaselina estéril. La reacción se considera positiva cuando el medio vira a color amarillo-naranja después de tres días.

1.8. Reacción oxidasa (Kovaks, 1956)

Se añadieron unas gotas de una solución de dihidrocloruro de tetrametil-p-feniléndiamina (1% p/v en agua) a un papel de filtro. Inmediatamente después se toma un asa de plástico cargada de bacterias cultivadas 24 h a 25°C en Kb y se extendió sobre el papel de filtro impregnado. La aparición de color violeta en los primeros 10 s se considera positiva.

1.9. Reducción de nitratos (Coother, 1987)

KNO ₃	1.0 g
bactopeptona	10.0 g
Agua destilada	1.0 l

Se esteriliza en autoclave 20 min. a 120°C. Se ajusta el pH a 7. Se sembraron tubos de 5 ml de medio, se incubaron a 25 °C y se leyeron a los 3 días. La lectura se efectuó con

tiras Merkoquant. Estas tiras presentan dos pastillas rectangulares absorbentes en su extremo. La primera pastilla detecta la presencia de nitritos, y la segunda la presencia de nitratos. Cuando las dos pastillas cambian de color, quiere decir que todos los nitratos del medio no han pasado a nitritos pero que la reacción es positiva. Si ninguna de las dos cambia de color, quiere decir que todos los nitratos han pasado a nitritos y todos los nitritos a nitrógeno atmosférico., La reacción solo se considera negativa cuando solo se ha producido cambio de color en la primera pastilla, eso quiere decir que todos los nitratos iniciales continúan estando presentes en el medio y que por tanto no se ha producido reacción.

1.10. Degradación de almidón a glucosa

ADSA-MICRO	25 g
Agar	5 g
Agua destilada	1 l

Esterilizar durante 15 min. a 120° C en el autoclave. El medio se reparte en placas de Petri convencionales y las cepas se siembran dibujando una línea recta sobre el medio. A lectura se realiza a las 48 h, añadiendo lugol sobre el medio. Si la cepa ha conseguido degradar el almidón a glucosa, alrededor de la línea sembrada se formará un halo hialino, pues el lugol tiñe solamente el almidón presente en el medio de cultivo.

1.11. Degradación de la gelatina

Nutrient gelatina	128 g
Agua destilada	1 l

Esterilizar durante 15 min. a 120° C en autoclave. Repartir en tubos 5 ml. La cepas se siembran por picadura. La lectura se realiza a las 24, 48h, y al séptimo y quinceavo día. Antes de realizar la lectura se colocan con los tubos durante 10min a 4°C para evitar falsos positivos, ya que la incubación a 25° C podría licuar la gelatina un poco. Observar si la gelatina se ha licuado y la velocidad de la reacción.

1.12. Prueba de la patata

Sumergir una patata en una solución de lejía comercial al 50% durante media hora.

Al lado de la llama, con un bisturí flameado con alcohol, cortar la patata en trozos y hacer una herida e inocular con la cepa.

Realizar el control.

1.13. Arginina dihidrolasa (Thornley, 1960)

Peptona neutralizada (Oxoid L34)	1.0 g
NaCl	5.0 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
L (+)arginina HCl	10.0 g
Rojo fenol	0.01 g
Agar	3.0 g
Agua destilada	1 l

Se ajusta el pH a 7.2 y se esteriliza en el autoclave durante 15 min. a 121°C. Después de la inoculación se cubre el medio con 3-4 cm de aceite de vaselina estéril y se incuba a 25°C. El cambio del color del medio a rosado se considera como reacción positiva. La lectura se realiza a los siete días.

1.14. Esculina

Bactopeptona	10 g
Citrato de hierro y amonio	1 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 l

Ajustar el pH a 7.5-7 y esterilizar a 120° durante 20 min. La lectura se realiza a la 24 y 72 h. También puede prepararse sin agar. Es positivo cuando vira a un color marrón muy oscuro o negro.

1.15. Urea

L- Triptofano	1.5 g
Fosfato monopotásico	0.5 g
Fosfato dipotásico	0.5 g
Cloruro sódico (ClNa)	3 g
Urea	10 g
Alcohol 95°	5 ml
*Rojo fenol 1%	1.34 ml
Agua destilada	500 ml

*Rojo fenol

Rojo fenol	0.5 g
Etanol	5 ml
Agua destilada	45 ml

Esterilizar por filtración de membrana de 45 µm. La reacción se lee a las 24 h si se ha producido un cambio de color de rojo a marrón oscuro.

1.16. Composición de los reactivos para el protocolo de extracción de ac. Grasos I, Sistema MIS

- Composición de los reactivos

Reactivo # 1

- NaOH	45 g
- Metanol	150 ml
- Agua destilada desionizada	150 ml

Reactivo # 2

- HCl 6,00 N	270,8 ml
- Metanol	229,2 ml

Reactivo # 3

- Hexano	200 ml
- Metil-tert Butil Eter (MTBE)*	200 ml

*Este producto es explosivo en condiciones de elevada temperatura, aunque si se trabaja en campana de extracción de gases y se almacena en lugares aireados no tiene porqué ocurrir ningún percance. La mezcla con el hexano lo hace más estable.

Este producto puede substituirse por éter etílico, aunque éste presenta algunas desventajas, como que siempre se obtiene un pico correspondiente a éste producto, el cual hace difícil la identificación del perfil del cromatograma obtenido. Otro inconveniente es que con éste producto, no se detectan algunos ac. grasos cíclicos, que podrían ser, en algunos casos, determinantes para la distinción entre cepas muy parecidas. En general se pierde resolución utilizando el éter etílico.

Reactivo # 4

- NaCl	11 g
- Agua destilada	900 ml

- Composición del medio de cultivo

1.17. Consideraciones del sistema MIS o MIDI, en la cromatografía de gases para la identificación de microorganismos.

- En la hoja de resultados, aparece una identificación con el medio TSBA y otra con la abreviatura CLIN, sólo nos debemos de fijar en la dada para TSBA ya que todo el trabajo presentado ha estado realizado con este medio. La clasificación dada con CLIN, se refiere a clínica, y está referida a la siembra de los microorganismos en el medio agar sangre.
- Al lado de algunas especies aparece un asterisco (*), este símbolo quiere decir que la especie señalada, ha sido incorporada recientemente a la base de datos y que anteriormente, podía encontrarse con otro nombre.
- El sistema MIS (System Software), compara el cromatograma obtenido de una muestra problema con 10-20 cromatogramas de referencia (dependiendo de la variedad intraespecífica existente) que contiene en la base de datos y te da una relación de especies de acuerdo con un índice de similitud que varía entre 0 y 1. Para una determinada especie dada por el programa existirá un valor del índice de similitud que cuanto más se aproxime a 1, significará que más se parece el cromatograma de la muestra problema con el conjunto de cromatogramas de referencia para ésta especie. Hay que tener en cuenta que éste índice no es un valor de probabilidad.

Cuando el índice de similitud es inferior a 0,01, quiere decir que posiblemente hay una contaminación en la muestra, y que se tendría que repetir el protocolo partiendo de un cultivo puro. Pero si se repite, probablemente, se obtendrán las mismas especies con un índice de similitud mayor, ya que la base de datos te da el nombre de la especie mayoritaria en la muestra problema.

1.18. Reactivos utilizados en el protocolo de extracción de ac grasos II. Metanolisis

Reactivo # 0

Agitar bien la mezcla.

Metanol 30 ml

Tolueno 15 ml

Ac. Sulfúrico 1 ml

1.19. Condiciones del cromatógrafo UAB

T^a del inyector: 250°C

T^a del detector: 300°C

Tiempo de equilibrio: 5 minutos

T^a inicial: 170°C

Rampa de 5°C/minuto hasta 300°C

T^a final: 300°C

Tiempo de T^a final: 0 minutos

Columna: 1. Ultra 2 (Crosslinked 5 % PhMe Silicone), 25 m x 0,2 mm x 0,33 µm
film Thickness (tipo capilar).

2.HP-5.(Crosslinked 5% PHME Silicone), 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm
film Thickness (tipo semicapilar).

Presión de gases:

Hidrógeno: 2 bar

Helio: 2,8 bar

Aire: 4 bar

Flujo total: 100 ml/min.

Purga sel Septum: 2,29 ml/min.

Tiempo de un no retenido: 2,40 min.

Velocidad de flujo lineal: 20,875 ml/min.

Flujo volumétrico: 1,0048 ml/min.

Relación de división: 1:99

Presión en cabeza de columna: 50 KPa

Flujo de gases en detector:

Helio: 15,8 ml/min.

Hidrogeno: 30,2 ml/min.

Aire: 500 ml/min.

2. Hongos

2.1. Medio MS (Murashige y Skoog 1962)

complementado con sacarosa 90g/l

Sales inorgánicas

CaCl ₂	332.02 mg/l
NH ₄ NO ₃	1650 mg/l
MgSO ₄	80.70 mg/l
H ₃ BO ₃	6.2 mg/l
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025 mg/l
CuSO ₄ ·6H ₂ O	0.025 mg/l
MnSO ₄ ·H ₂ O	16.90 mg/l
KI	0.83 mg/l
KNO ₃	1900 mg/l
KH ₂ PO ₄	170 mg/l
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25 mg/l
ZnO ₄ ·7H ₂ O	8.60 mg/l

Fuente de hierro

Na ₂ ·EDTA	37.26 mg/l
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.80 mg/l

Vitaminas

Mio-inositol	100 mg/l
Acido nicotínico	0.5 mg/l
Piridoxina HCl	0.5 mg/l
Tiamina HCl	0.5 mg/l
Glicina (base libre)	2.0 mg/l

2.2. Medio de cultivo utilizado en los ensayos preliminares *in vitro*.

Solución de nutrientes minerales

NO ₃ ⁻	4.5 mol m ³
SO ₄ ²⁻	2.0
[H ₂ PO ₄ ⁻ + HPO ₄ ²⁻]	0.08
Ca ²⁺	2.0
NH ₄ ⁺	0.5
Mg ²⁺	0.4
K ⁺	3.3

Micronutrientes

B	0.006
Cu	0.0008
Zn	0.0012
Mn	0.001
Mo	0.0001
Fe	0.015
FeSO ₄	0.06

El pH final se debe ajustar a 6.5.

El modo de preparación es el siguiente:

Se preparan las soluciones de macro y micronutrientes por separado.

Se prepara una solución nutritiva con 100 ml de los macronutrientes y 1 ml de los micronutrientes.

Paralelamente se disuelven 6 g de agar en 899 ml de agua destilada en agitador a 80°C o se puede autoclavar a 115°C durante 5 min. Se deja enfriar hasta 40° y se añade 101 ml de la solución nutritiva. Se agita bien.

Se reparten 100 ml en cada recipiente, se tapan con papel de aluminio y se autoclavan a 121°C durante 15 min. El pH final es de 6,7

En la cámara de flujo laminar se deja enfriar y se siembran las plantas.

Las plantas se extraen del pote común y se cortan las raíces para introducirlas bien en el agar. Estarán bajo fluorescente de 280 lux, a 25°C y fotoperíodo de 16 h de luz y 8 de oscuridad diarias, hasta que comiencen a emitir nuevas raíces.

3. HISTOQUIMICA

3.1. Listado de muestras para cortes en fresco

Plantas sana.

1. Barranco del agua. Los Silos.
2. Finca suerte 4°

Plantas con síntomas de FMP

1. Carmelo Villa, planta con todos los sintomas internos y externos de FMP. 7 meses de plantación
2. Finca Suerte 4ª. Planta con colapso y piña abortada, sin parir en el interior del pseudotallo. Vainas ext.

Plantas dudosas de FMP

1. Carmelo Villa, planta arrancada por sintomas de amarillos. Riego en exceso. Sin sintomas internos. Sana?
2. Finca Suerte 4ª. Planta con signos de encharcamiento

3.2. Listado de muestras procesadas con parafina

3 plantas FMP procedente de Los Realejos

3 plantas sanas procedente de Los Realejos

1 planta con Mal de Panamá procedente de Valle Guerra. CATESA

3.3. Protocolo de deshidratación

solución	tiempo
i. Etanol 70%	5 h
ii. TBA mix 70%	Mínimo 15 h
iii. TBA mix 85%	60 min
iv. TBA mix 95%	75 min
v. TBA mix 100%	75 min
vi. TBA I puro	75 min
vii. TBA II puro	75 min
viii. TBA III puro	Mínimo 15 h

3.4. Mexclas TBA

	Agua (v)	Etanol 90% (v)	Etanol 100% (v)	TBA puro (v)
TBA mix 70%	30	50	-	20
TBA mix 85%	15	50	-	35
TBA mix 95%	-	45	-	55
TBA mix 100%	-	-	25	75

3.5. Protocolo de Inclusión en Parafina

	Solución	tiempo
i.	TBA puro + Aceite parafinado (1:1) 30°C	24 h
ii.	Material anterior sobre parafina 60°C	24 h
iii.	Parafina I 60°C	6 h
iv.	Parafina II 60°C	48 h
v.	Parafina III 60°C	24 h
vi.	Inclusión en molde	

4. Plan de abonado del ensayo de diferentes dosis de riego y compactación en campo

Planificación del abonado diario en el ensayo de Güimar					
	Nºplantas total: 220	Borde: 112	Tratamiento: 108		
	T1: 148	T2: 36	T3: 36		
marzo/abril	N: 15g/pl/mes	abono: 1g/pl/dia			
	lunes	martes	miércoles	jueves	viernes
t1	444	148	148	148	148
t2	108	108	108	108	108
t3	108	108	108	108	108
mayo/junio	N: 30g/pl/mes	abono: 2g/pl/dia			
	lunes	martes	miércoles	jueves	viernes
t1	888	296	296	296	296
t2	216	72	72	72	72
t3	216	72	72	72	72
julio	N: 25g/pl/mes	abono: 1,67g/pl/dia			
	lunes	martes	miércoles	jueves	viernes
t1	741,48	247,16	247,16	247,16	247,16
t2	180,36	60,12	60,12	60,12	60,12
t3	180,36	60,12	60,12	60,12	60,12
agosto/septiembre	N: 20g/pl/mes	abono: 1,34g/pl/dia			
	lunes	martes	miércoles	jueves	viernes
t1	594,96	198,32	198,32	198,32	198,32
t2	144,72	48,24	48,24	48,24	48,24
t3	144,72	48,24	48,24	48,24	48,24
octubre	No hay que abonar con N				
Noviembre/diciembre	N: 10g/pl/mes	abono: 0,67g/pl/dia			
	lunes	martes	miércoles	jueves	viernes
t1	297,48	99,16	99,16	99,16	99,16
t2	72,36	24,12	24,12	24,12	24,12
t3	72,36	24,12	24,12	24,12	24,12

Fe de erratas

- Pág. 12 línea 9 debe decir (Domínguez y Rodríguez, 2001).
- Pág. 12 línea 29 donde dice:...Suárez (2000), debe decir: Suárez (1996)
- Pág. 12 línea 30 donde dice:...pozos y..., debe decir: pozos o galerías...
- Pág 16 línea 27 debe decir: decoloración vascular producida...
- Pág. 18 línea 19 debe decir: (Declerck et al., 2002; Risede y Simoneau, 2001)
- Pág 19 línea 8 debe decir: Frisulo et al. (1994)
- Pág. 19 línea 12. debe decir: *Xylariaceous* taxa.
- Pág. 21 donde dice Nelson, 1983 debe decir Nelson et al. 1983.
- Pág. 21 donde dice Nelson, 1981 debe decir Nelson et al., 1981.
- Pág. 22 última línea debe decir (Ploetz et al., 1990).
- Pág. 25 línea 3 debe decir Kangire et al. (2000).....
- Pág. 29 línea12 debe decir :(Venter y Currier, 1977; Ali y Jarvis, 1988)
- Pág 40 línea 22 debe decir: 1986; Malcolm y Lewis, 1991).
- Pág. 41 línea 12 debe decir Aguilar et al.(2000 a y b)
- Pág. 41 línea 23 debe decir: Stevens y Harvey (1995) en vid...
- Pág. 43 línea 20 debe decir Domínguez y Rodríguez (2000).
- Pág. 46 línea 18 debe decir Borges Pérez et al. (1991).
- Pág. 47 línea 16 debe decir Marschner et al. (1996).
- Pág. 47 línea 26 debe decir: (Charpentier, 1968).
- Pág. 48 líneas 13, 15 y 21 debe decir Lahav e Israeli
- Pág. 50 línea 15 debe decir (Arroyo et al., 1993;).
- Pág. 51 línea 3 debe decir (Komada, 1975 ,1976).
- Pág. 51 línea 10 debe decir (Martin-Prevel et al., 1984).
- Pág. 52 línea 11 debe decir (..... ; Page et al., 1986).
- Pág. 54 línea 17 debe decirsupervisión de los Doctores.....
- Pág. 54 última línea debe decir (Klement y Sands, 1990).
- Pág. 55 Fig. 3. debe decir: *Pseudomonas*.
- Pág. 60 línea 4 debe decir Nelson et al. (1983),
- Pág. 61 Tabla 2 debe decir (Nelson et al., 1983; Nelson, 1990).
- Pág. 61 y sucesivas donde dice: fialides debe decir: fiálidas.
- Pág. 62 Tabla 3 debe decir (Leslie, 1990).

Pág. 65 línea 8 debe decir (Peñalver y López, 1994).....

Pág. 66 línea 4 debe decir: ...diera reacciones rápidas ... fitopatógenos u hongos...

Pág. 67 línea 4 debe decir: ...se desarrollaba la planta...

Pág. 68 última línea debe decir:...mediante el riego...

Pág. 77 línea 19 debe decir: ...ensayos, se analizaron...

Pág. 78 línea 27 debe decir: ...se ajustaba de acuerdo...

Pág. 87 Figuras 12 y 13 debe decir: (octubre 96-marzo 99)

Pág. 89 Tabla 5 donde dice: Incidencia(%), debe decir: Incidencia media y donde dice: Incidencia media, debe decir:Total

Pág. 89 línea 16 debe decir: De las plantaciones...

Pág. 91 línea 12 debe decir: ...del rizoma que era...

Págs. 96 y 97 donde dice: plantación(es) debe decir :parcela(s).

Pág. 97 línea 9 dice: plarcela , debe decir:parcela.

Pág. 98 Tabla 10. donde dice: Municipio de Los Realejos , debe decir: municipio de Buena Vista del Norte.

Pág. 101 línea 5 debe decir:... Para la mayoría...

Pág. 107 Línea 1 debe decir: Algunas especies han sido...

Pág. 118 Tabla 21 última línea donde dice: *F. moniliforme*, debe decir: *F. proliferatum*

Pág. 121 línea 10 debe decir: ...esas bacteriosis o los ...

Pág. 127 y sucesivas donde dice: cv ,debe decir: cv.

Pág. 129 línea 8 debe decir: hipoxia radical

Pág. 137 línea 2 debe decir: ...de valores...

Pág. 139 línea 8 debe decir: ...inoculación con *F. proliferatum* la...

Pág. 151 línea 13 debe decir: ...tabla 42, se presenta la separación de medias de las variables fenológicas de ...

Pág. 155 línea 11 donde dice: sembradas , debe decir: cultivadas.

Pág. 158 línea 1 donde dice: peso fresco aéreo, debe decir: peso seco de raíz.

Pág 159 Tablas 48 y 49 dice:infección, debe decir:interacción

Pág 170 línea 8 debe decir: número de hojas (tabla 57).El peor....

Pág. 170 línea 11 donde dice:uno de los peore siendo....., debe decir: ...peores no siendo...

Pág. 177 línea 13 debe decir: ...género *Fusarium*

Pág. 182 línea 3 debe decir: Los bloques 1 y 2 ...

Pág. 183 párrafo 1 donde dice: El bloque... respecto a los bloques., debe decir: Para la variable PL-PAR el bloque 3 es estadísticamente diferente al bloque 2 y es igual al bloque 1.

Pág. 188 línea 9 donde dice: ...de estrés y ... , debe decir: ...de estrés. Reinking (1926) citado por Lahav et al. (2000), describe el *Yellow Mat*, desorganización vascular asociada al floema cuya causa no se conoce. La desorganización vascular ha sido asociada tanto a patógenos como a salinidad y bloqueos nutricionales como el Ca y el B (Epstein, 1973).

Pág. 189 línea 2 debe decir : e iones...

Pág. 190 Figuras: 64, 65 y 66 donde dice FMP. , debe decir : FMP

Pág 191 Figuras. 69 donde dice: FMP. , debe decir: FMP

Pág 191 pie de Fig. 68 corresponde a pie de Fig. 69 y viceversa.

Pág. 192 línea 12 donde dice: ...(Lecuona, ...), debe decir: (Lecuona , 1975; Sandoval y Müller, 1990).

Pág. 203 Fig. 98 debe decir: Tinción Gerlach.

Pág. 203 Fig. 99, 100 y 101 debe decir: Tinción Azul de toluidina

REFERENCIAS

1. Citadas en el texto, no incluidas en Bibliografía.

Arroyo, A. ; Cabrera, J. ; Galán, V.; García, J. Y Hernández, J. 1993. El Mal de Panamá. Recomendaciones técnicas para el cultivo de la platanera en Canarias. Consejería de Agricultura y Alimentación. Gobierno de Canarias.

Gahan, P. B., 1984. Plant histochemistry and cytochemistry. An introduction. Academic Press. London. 301 pp. Citado por Marín, 1986.

García Rodríguez, A., Lorenzo Martín, J. R., and Rodríguez Enriquez, M. J. (1987). In vitro propagation of Canary Island banana (*Musa acuminata* Colla AAA var. Dwarf Cavendish). Studies of factors affecting culture obtention, preservation and conformity of the plants. *Acta Horticulturae*, 577-583.

Gerlach, D. 1969. A rapid safranin-crystal violet-light green staining sequence for paraffin sections of plant materials. *Stain Technol.*, 44: 210-211.

Hammond , L. C., Allaway, W. H., and Loomis, W.E. (1955). Effects of oxygen and carbon dioxide levels on absorption potassium by plants. *Plant Physiology* **30**, 155-161.

Hernández y Sabadell, 1999. Se refiere a: Sabadell, S., and Hernández, J. (1999). Panama disease and a similar disorder (‘False Panama’) in the Canary Islands. *In* "Banana Fusarium wilt management: Towards sustainable cultivation. Proceedings of the International workshop on the banana fusarium wilt disease." (N. H. N. M. a. K. W. L. A.B. Molina, ed.), pp. 266-274. INIBAP, Malasya.

Heslop-Harrison, Y. 1977. The pollen-stigma interaction: pollen-tube penetration in *Crocus*. *Ann. Bot.* 41(175): 913-922.

Heslop-Harrison, Y. y Heslop-Harrison, J., 1981. The digestive glands of *Pinguicula* structure and cytochemistry. *Ann.Bot.*, 47(3): 293-319. Citado por Marín, 1986.

Komada, H. 1975. Development of selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant Prot. Res. 8: 114-125.

Komada, H. 1976. A new selective medium for isolation *Fusarium* from natural soil. Proc. Am. Phytopathological Soc. 3: 221.

Leslie, J. F., 1990. Genetic exchange within sexual and asexual population of the genus *Fusarium*. In *Fusarium Wilt of Banana*. Edited by Randy C. Ploetz. Pp 37-48. APS Press.

Marín, J. A., 1986. Morfología, fisiología y aclimatación del patrón de cerezo micropropagado Masto de Montala (*Prunus cerasus* L.). Memoria de Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 281 pp.

Phillips y Hayman, D.S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British mycological Society 55:158-161.

Rudolph, K., Roy, M. A., Sasser, M., Stead, D. E., Davis, M., Swings, J., and Gosselé, F. (1990). Isolation of bacteria. In "Methods in phytobacteriology" (Z. R. Klement, K.; Sands, D.C, ed.). Akadémiai Kiadó, Budapest.

Sasser, M. (1990). Identification of bacteria through fatty acid analysis. In "Methods of phytobacteriology" (Z. R. Klement, K.; Sands, D.C, ed.), pp. 199-203. Akadémiai Kiadó, Budapest.

Sheldon, J.M. y Dickinson, H.G. 1983. Determination of patterning in the pollen wall of *Lilium henryi*. Journal of Cell Science, 63: (1) 191-208.

Sneath, P. H. A., Keddie, R. M., Collins, M. D., Jones, D., Komagata, K., Suzuki, K. I., Goodfellow, M., Lechevalier, M. P., and Bradbury, J. F. (1986). Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2. **73**.

Suárez, C. L. (1994). Evapotranspiración de la platanera (*Musa Acuminata* COLLA, AAA) y respuesta fisiológica al régimen de riego. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, La Laguna.

Sun, E. J. ; H.J. Su; and W. H. Ko. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 from soil or host tissue by cultural characters. *Phytopathology*, 68: 1672-1673.

2.- Citadas en bibliografía que no aparecen en el texto

Battino et al. 1975.

Blesa et al, 1979.

Crisci, 1983.

Klement, 1990.

Panis y Thinh, 2001.

Peng et al. 1999.

Tamietti y Matta, 1989.

Vandermolen, 1978

Vandermolen et al., 1976.

3. Citaciones incorrectas

Pág. 213. Chao, L., Zeng, D., Sun, F., Zhao, T., Liu, C., Chao, L. J., Zeng, D. P., Sun, F. Z., Zhao, T. C., and Liu, C. J. (1998). *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg - a pathogen causing wetwood in poplar trees. *Scientia Silvae Sinicae* **34**, 69-73.

Pág. 214 debe decir Correll, J. C. ; Klittich, C.J. R.; Leslie, J. C. (1978b) Nitrate nonutilizing mutantas.....

Pág. 219. Debe decir :Lecuona, M. C. (1975). Contribucion al estudio.....Servicio de Publicaciones de la Caja de Ahorros de Santa Cruz de Tenerife. (Investigación.5). 180 pp.

Pag. 221. Debe decir: Nelson, P. E. (1990). Taxonomy of fungi in the genus *Fusarium* with emphasis in *Fusarium oxysporum*. In *Fusarium Wilt of banana*. Pp 27-37. Edited by Randy C. Ploetz. APS Press.

Pág. 221. Nicole, M., Boher, B., Valette, C., Martinez, C., Calatayud, P. A., Kpemoua, K., Daayf, C., Daniel, J. F., Bresson, E., Sarah, J. L., Andary, C., Geiger, J. P., and Vercambre, B. (1996). Contribution of cytology to the study of defence mechanisms of plants to parasitic attacks. *In* "Interactions insectes plantes. Actes des 5e journees du groupe de travail Relations insectes plantes, Montpellier, France 26 27 Octobre 1995. 1996, 19 28; 39 ref." Edition de l'ORSTOM; Paris; France.

Pág. 223 Última cita debe decir Ploetz, R. C. and Pegg, K. G.

Pág. 224. Risède, J. M. Falta año de cita.

Pág. 230. Zimmermann, U., Zhu, J. J., Meinzer, F. C., Goldstein, G., Schneider, H., Zimmermann, G., Benkert, R., Thurmer, F., Melcher, P., Webb, D., and Haase, A. (1994). High molecular weight organic compounds in the xylem sap of mangroves: implications for long-distance water transport. *Botanica Acta* **107**, 218-229.