



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y
FRUTICULTURA**

TEMA:

“DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE 15 CULTIVARES DE *Musa spp* y 2 *Heliconias* FRENTE A LA INOCULACIÓN DE *Ralstonia solanacearum*, AGENTE CAUSAL DEL MOKO BACTERIANO”.

Previo a la obtención del título de:
Ingeniera en Horticultura y Fruticultura

AUTOR:

KARLA BERENISSE VELOZ MARTÍNEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SUÁREZ CAPELLO CARMITA Ph.D

QUEVEDO – ECUADOR

2015

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Karla Berenisse Veloz Martínez declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Atentamente,

Autora: Karla Berenisse Veloz Martínez

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Ph.D. Carmen Suarez Capello, director de tesis, certifico: que la estudiante, egresada: Karla Berenisse Veloz Martínez, realizó el trabajo de tesis grado titulado: “**DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE 15 CULTIVARES DE *Musa spp* y 2 *Heliconias* FRENTE A LA INOCULACION DE *Ralstonia solanacearum*, AGENTE CAUSAL DEL MOKO BACTERIANO**”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con la disposición reglamentaria establecida para el efecto.

Atentamente,

Ph.D. Carmita Suarez Capello
DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERIA EN HORTICULTURA Y
FRUTICULTURA

TESIS DE GRADO

Tesis presentada al Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias como requisito previo para la obtención del Título de:

INGENIERÍA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

TEMA:

DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE 15 CULTIVARES DE *Musa spp* y 2 *Heliconias* FRENTE A LA INOCULACIÓN DE *Ralstonia solanacearum*, AGENTE CAUSAL DEL MOKO BACTERIANO.

Ing. Freddy Amores Puyutaxi

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Ignacio Sotomayor Herrera

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Cesar Varas Maenza.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2015

DEDICATORIA

Con afecto y amor se la dedico a **DIOS** quién me ayuda a dar cada paso que doy supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mis **PADRES** por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mi **HERMANO** quien es mi inspiración y felicidad por estar siempre acompañándome en todos los momentos.

A mi **FAMILIA** por ser mi apoyo para seguir adelante gracias a ellos puedo alcanzar mis metas y anhelos por su cariño por ser atentos por formar parte de mi vida y compartir cada momento de alegría por estar juntos gracias.

AGRADECIMIENTO

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

- A mi madre, María Martínez por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño afecto y apoyo incondicional.
- A mi padre, Carlos Veloz por su apoyo incondicional en cada momento de mi vida por ser mi guía por sus consejos y por su amor y ser mi fortaleza.
- A mi hermano Carlo Veloz por ser mi fortaleza alegría a seguir.
- A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias y a los docentes, por darme la formación para ser un profesional encaminado a la excelencia.
- Agradecimiento especial a la **Dra. Carmen Suárez PhD.**, por haberme dado la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis, de aprender gracias a sus consejos y ayuda a ser un buen profesional por ser más que un docente una amiga un guía y más que todo una linda persona con la que eh crecido de forma sabia gracias por la experiencia de cada momento.
- Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Ing. Daniel Vera Avilés, Denny Carriel y Gabriel Liu-ba Definí por su importante aporte participación activa en el desarrollo de esta tesis, por ser guías de enseñanza y aprendizaje por ser personas cálidas gracias.
- A mis amigas (os), Palacio, y seres queridos que me rodean ya que forman parte de mi vida y hacen que especial gracias por en apoyo y palabras que me ayudan a superarme día a día agradecida al Sr Holger Mora y Willy Fuentes y a todas las personas que han sido muy gratas en ayudarme en las buenas y malas mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE

Contenido	Pág.
PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS	iii
MIEMBRO DEL TRIBUNAL	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURA	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO I MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.1 Introducción	2
1.1.1 Importancia Agronómica y Alimenticia	3
1.1.2 Exportaciones de Plátano y Banano en el Mundo	3
1.2 Objetivos	3
1.2.1 General	3
1.2.2 Específicos:.....	4
1.3 Hipótesis	4
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	5
2.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	6
2.1.1 Características del Moko (<i>Ralstonia solanacearum</i>).....	6
2.1.2 Biovar.....	7
2.1.3 Taxonomía de la Bacteria	7
2.1.4 Clasificación Intra Específica	8

2.1.5	Razas.....	8
2.1.6	Plantas Hospederas.....	9
2.1.7	Síntomas y Signos.....	9
2.1.8	Distribución Geográfica.....	10
2.1.9	Zonas Afectadas por el Moko en América Latina y el Caribe.....	10
2.2	Descripción del Patosistema <i>Musa spp R. solanacearum</i>	11
2.2.1	Características Morfológicas.....	11
2.2.2	Síntomas en Hojas.....	12
2.2.3	Raquis.....	12
2.2.4	Pseudotallo.....	12
2.2.5	Cormo.....	13
2.3	Epidemiología.....	13
2.3.1	Infección y Diseminación de la Bacteria.....	13
2.3.2	Proceso de Infección.....	14
2.3.3	Formas de Diseminación.....	15
2.3.4	Estrategias de Manejo o Control de Moko.....	15
2.3.4.1	Genético.....	15
2.3.4.2	Cultural.....	15
2.3.4.3	Físico.....	16
2.3.4.4	Químico.....	16
2.3.5	Manejo Integrado de la Enfermedad.....	16
2.4	Características del Cultivo de <i>Musáceas</i>	17
2.4.1	Taxonomía.....	17
2.4.2	Morfología de <i>Musa spp</i>	17
2.4.3	Panorama del Banano en el Ecuador.....	18
2.4.4	Las Heliconias.....	19
2.4.5	La Heliconia Arco Iris (<i>Heliconia wagneriana</i>).....	20

2.4.6	<i>Heliconia Latispatha</i>	21
CAPITULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN		22
3.1	MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1.1	Localización y Duración de la Investigación	23
3.1.2	Materiales y Equipos	23
3.1.3	Factor en Estudio	25
3.1.4	Diseño Experimental	26
3.1.5	Variables	27
3.1.6	Manejo del Experimento	28
3.1.61	Fase de campo	28
3.1.7	Aislamiento de <i>Ralstonia solanacearum</i>	29
3.1.8	Caracterización Bioquímica de la Bacteria	30
3.1.9	Tinción Diferencial	30
3.1.10	Solubilidad en Hidróxido de Potasio (KOH)	31
3.1.11	Prueba Pectinolítica	31
3.1.12	Cultivo en medio selectivo	32
3.1.13	Inoculación	33
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION		34
4.1	RESULTADOS	35
4.1.1	Aislamiento	35
4.1.2	Caracterización del Cultivo Bacteriano	36
4.1.3	Reacción de Viscosidad	36
4.1.4	Prueba Pectinolítica	37
4.1.5	Crecimiento en Medio Diferencial TZC (2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio)	37
4.1.6	Patogenicidad	38

4.1.7 Resistencia/Tolerancia de los Cultivares <i>Musa spp</i> y Heliconia al Moko (<i>R.solanacearum</i>) del Plátano y Banano en Función de los Síntomas Presentes en los Cultivares.....	39
4.2 DISCUSION	44
CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
5.1 Conclusiones.....	47
5.2 Recomendaciones.....	48
CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA.....	49
6.1 LITERATURA CITADA.....	50
CAPITULO VII ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro	Pág.
1 Características de los Cuatro “Biovars” de <i>R. solanacearum</i> Raza 2	7
2 Características de las Cepas (D, B, SFR y H) de <i>Ralstonia solanacearum</i> Smith.....	14
3 Clasificación de las Especies de Banano y Plátanos.....	18
4 Cultivares de Musa, con su Caracterización o tipo Genético.....	26
5 Resultados de Pruebas Bioquímicas Aplicadas a Aislamientos Bacterianos de los Diferentes Cultivares Inoculados con <i>R. solanacearum</i>	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1	Distribución de <i>R. solanacearum</i> en el Mundo 11
2	Colinos Seleccionados Para Inoculación28
3	<i>R. solanacearum</i> en Condiciones Controladas29
4	Inoculación de las Plántulas de <i>Musa spp</i> en la Base del Pseudotallo.....33
5	Síntomas de Tejido Infectado con <i>R. Solanacearum</i>35
6	Características In Vitro del Aislamiento de Tejidos con Síntomas de <i>R. solanacearum</i>35
7	Resultado de la Tinción de Gram Aplicada a las Bacterias Recuperadas de Tejido Inoculado de <i>Musa spp</i> (100X Inmersión en Aceite).36
8	Reacción de <i>Ralstonia solanacearum</i> en la Prueba de Viscosidad con KOH.....36
9	Reacción del Tejido de Papa inoculado con <i>R. Solanacearum</i>37
10	Aspecto de la Lesión Causada por <i>R. Solanacearum</i> en Cormo de <i>Musa spp</i>37
11	Crecimiento de <i>R. Solanacearum</i> en Medio Diferencial TZC.37
12	Evolución de la Infección en Días, por <i>R. solanacearum</i> en cultivares del grupo plátano.....40
13	Evolución de la infección en días, por <i>R.solanacearum</i> en cultivares del grupo banano.....41
14	Evolución de la infección en días, por <i>R.solanacearum</i> en Cultivares de <i>Heliconia spp</i>42

15	Caracterización para Resistencia y Evolución de la Infección en Días, de <i>R. solanacearum</i> en Cultivares de Plátano, Banano y <i>Heliconia</i> spp.	43
-----------	---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 7.1	Aislamiento de <i>R.solanacearum</i> en Medio de Agar Nutriente	56
Anexo 7.2	Síntomas de <i>R solanacearum</i> en Hijuelos	56
Anexo 7.3	Establecimiento de los Cultivares de <i>Musáceas</i> y <i>Heliconias</i> en el invernadero	56
Anexo 7.4	Síntomas de <i>R. solanacearum</i> en <i>H. Wagneriana</i>	56
Anexo 7.5	Síntoma Amarillamiento Total de la Planta en la Variedad Barraganete	57
Anexo: 7.6	Síntoma Flacidez de Hojas	57
Anexo: 7.7	Síntoma Amarillamiento Tenue de la Primera Hoja	57

RESUMEN

La presente investigación se realizó a nivel de campo y Laboratorio en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el km 1 Vía Quevedo a Santo Domingo.

El objetivo principal fue establecer el comportamiento de quince cultivares de *Musa spp* y dos cultivares de *Heliconia spp* frente a la inoculación del aislamiento de Moko (*Ralstonia solanacearum*) y específicamente determinar el tipo de *R. solanacearum* que se presenta en la zona litoral (biovar) y definir los niveles de resistencia/tolerancia de los cultivares *Musa spp* contra Moko (*R. solanacearum*).

Esta enfermedad que detectada por primera vez en 1840, en la Guayana Británica y apareció en forma epidémica en Trinidad en 1895, en la actualidad se encuentra presente en varios países productores de plátano de América, donde causa grandes pérdidas anuales. Este estudio se dispuso en un diseño completamente al azar (DCA), 17 tratamientos (cultivares de *Musa* y *Heliconia*) en tres repeticiones, donde cada unidad experimental estuvo compuesta de 4 plántulas.

La respuesta de los cultivares a la inoculación de *R. Solanacearum* determinó los niveles de resistencia/susceptibilidad a tenerse en consideración para el manejo de la enfermedad. El lapso de apenas un mes que demoró la bacteria en matar a la totalidad de las plantas de Gross Michel, Barraganete y *H. wagneriana* determinó el nivel de susceptibilidad de los cultivares evaluados. Estos tres cultivares se consideraron muy susceptibles. Bajo este criterio, en el grado opuesto de la escala tenemos a *H. latispata* como resistente. Con el cultivar Filipino se hace una distinción (Medianamente susceptible) considerando que ninguna planta se murió en el período del ensayo. Los demás cultivares presentaron diferentes grados de tolerancia.

Seguidamente el grupo de cultivares integrados por los dos maqueños, los dos dominicos del grupo de los plátanos; el Vinces, Orito, Cavendish y Williams cuya reacción a la enfermedad llegó nivel de presentar clorosis en la segunda y tercera hoja por lo que se ubican en la categoría de tolerantes o medianamente resistentes.

ABSTRACT

This research was conducted at the field level and at the State Laboratory Technical University of Quevedo, located at Km 1 Vía Quevedo to Santo Domingo.

The main objective was to establish the behavior of fifteen cultivars of *Musa spp* and two cultivars of *Heliconia spp* against challenge insolation Moko (*Ralstonia solanacearum*) and specifically determine the type of *R. solanacearum* presented in the littoral zone (biovar) and define levels of resistance / tolerance of the cultivars *Musa spp* against Moko (*Ralstonia solanacearum*).

This disease first detected in 1840 in British Guiana and appeared in epidemic form in Trinidad in 1895, today present in several banana producing countries of America, where it causes major annual losses. This study was placed in a completely randomized design (CRD), 17 treatments (cultivars of *Musa* and *Heliconia*) in three repetitions, each experimental unit was composed of 4 seedlings.

The response of the cultivars to inoculation of *R. solanacearum* determined levels of resistance / susceptibility to be considered in the management of the disease. The span of just one month it took to kill the bacteria in all plants Michel Gross, *H. Wagner* Barraganete and determined the level of susceptibility of the cultivars evaluated. These three were considered highly susceptible cultivars. Under this criterion, on the opposite side of the scale we have grade *H. latispata* as resistant. With the Filipino cultivate a distinction (Moderately susceptible) considering that no plant died in the trial period is done. The other cultivars showed different degrees of tolerance.

Then the group made up of the two cultivars maqueños, the two Dominicans group bananas; Vinces, Orito, Cavendish and Williams whose reaction to the disease reached present level of chlorosis in the second and third sheet so they fall into the category of moderately tolerant or resistant.

CAPÍTULO I

MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Introducción

El cultivo de *Musas* particularmente banano y plátanos son partes de la dieta humana toda la vida y combinación de su habitad con una serie de plantas del mismo género que el hombre le da distintos usos como la decoración adicionalmente existen plantas ornamentales como las *Heliconias*, de amplia distribución en la zona tropical donde se cultivan banano y plátano.

Ecuador es el primer exportador de banano en el mundo debido a sus características especiales de suelo y clima; el banano ecuatoriano se caracteriza por su textura, sabor y olor, por ello tiene acogida en los mercados de exportaciones externas del país.

El banano tiene gran importancia económica en el país por su producción, a causa de esto la economía ha ido creciendo con una gran significancia ya que el consumo del producto junto con otros mercados de la industria alimenticia constituye importancia en la producción de productos agrícolas favoreciendo a los pequeños agricultores.

Si bien el productor enfrenta una serie de problemas fitosanitarios presentes en su cultivo, tiene suficiente conocimiento para manejar niveles de infección y usos alternativos manejo que no afectan demasiado su economía. *Ralstonia solanacearum* agente causal del moko es una bacteria que causa la muerte o pérdida de materiales vegetales restringiendo la obtención de la fruta. Esta bacteria fue detectada en la zona platanera siendo de fácil diseminación, alta variabilidad genética y fisiológica. La enfermedad demanda un estricto grado de control en los lugares que han sido infectados, lo cual viene causando altos gastos por eliminación del material vegetal infectado y las plantas situadas a su alrededor.

La presencia de esta bacteria en el Litoral, ecuatoriano se convierte en una nueva amenaza a la producción de *Musa* para la que el productor debe prepararse.

1.1.1 Importancia Agronómica y Alimenticia

El banano y plátano son frutas, con grandes participaciones nutricionales, que ayudan a promover una mejor calidad de vida por sus vitaminas, minerales y principios activos. Los cultivares de banano se consumen como fruta fresca o derivados conservados, también se utiliza para la obtención de vinagre, bebidas alcohólicas y harina. Los plátanos se les utiliza como fruta de cocina en un diversidad de propiedades (A.E.B.E , 2013).

El grupo de *Musas* es cultivado en alrededor de 150 países que, en conjunto producen más de 10 millones de toneladas al año. Se considera que hay alrededor de 1000 cultivares de esta fruta en el mundo, repartidas en 50 grupos, los más conocidos están dentro del grupo “Cavendish” y son la base del mercado banano de exportación a nivel mundial (A.E.B.E , 2013).

1.1.2 Exportaciones de Plátano y Banano en el Mundo

Los países con mayor consumo de banano o plátano son Estados Unidos con el 18,9%, seguido Bélgica con el 11,1% y Alemania con el 7,2% luego sigue Rusia (7,1%), de Japón (6,9%), Reino Unido (6,3%), Italia y Francia. Entre los cinco primeros países demandantes de la fruta se registra una demanda del 57,5% de todo el banano comercializado en el mundo (Macas, 2014).

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Establecer el comportamiento de quince cultivares de *Musa spp* y dos cultivares de *Heliconia spp* frente a la inoculación con *R. solanacearum*, agente causal del Moko.

1.2.2 Específicos

- Determinar el tipo de *R. solanacearum* presente en la zona del litoral ecuatoriano (biovar).
- Definir los niveles de resistencia/tolerancia a la bacteria causante del Moko en varios cultivares de *Musa spp* y *Heliconia spp*.

1.3 Hipótesis

La existencia de diferentes niveles de susceptibilidad de los cultivares de *Musa spp* y especies relacionadas a la bacteria causante del Moko (*Ralstonia solanacearum*), facilita el uso de la diversidad intraespecífica en la estrategia de manejo integrado plagas en los cultivos de plátano y banano para reducir la propagación y minimizar su ataque.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1.1 Características del Moko (*Ralstonia solanacearum*)

Agente Causal

La bacteria *R.solanacearum* E.F.Sm es la responsable de la marchitez bacterial en plantas cultivadas para la producción de alimentos y fibras, ornamentales y arvenses, entre otras. Se considera que la bacteria es un organismo aeróbico su rango de temperaturas mínima y máxima para vivir es de 10,35 y 41°C, respectivamente. La bacteria *Pseudomonas solanacearum* E.F.Sm clasificada en la actualidad dentro del género *Ralstonia*, es la responsable de la marchitez bacterial en plantas cultivadas para la producción de alimentos y fibras, ornamentales y arvenses, entre otras (Kelman, 1954).

La bacteria se caracteriza por tener cuatro “Strains” o “Biovars” denominados como mayores, los que se han identificado con las letras: D, B, SFR y H (Cuadro 1). El “Biovar” que posiblemente corresponde al SFR, se puede diseminar a través de especies de insectos de los géneros *Aphis*, *Trigonay* *Polistes* y el tipo B, a través de herramientas utilizadas en práctica de mantenimiento. Sin embargo, los principales vehículos para su diseminación, han sido “hijuelos” provenientes de plantas afectadas y las corrientes de agua, que incluyen desde los pequeños riachuelos y quebradas hasta los grandes ríos.

Cuadro 1 Características de los cuatro “Biovars” de *R. solanacearum*, Raza 2

Strain Biovar	Musáceas afectadas	Presencia	Transmisión brácteas	Sobrevivencia suelos (meses)
D	Heliconia	Baja	Baja	6
B	Bananos (AAA) Bluggoe (ABB)	Positiva o Negativa	Alta	12 – 18
SFR	Bananos (AAA) Plátanos (AAB y ABB)	Positiva	Alta	3 – 6
H	Bluggoe (ABB)	Positiva	Alta	Alta

Fuente: (León, 2007)

2.1.2 Biovar

Este concepto está basado en la reacción de un subgrupo de la especie de bacteria, mediante pruebas bioquímicas (Díaz, 1999). Este sistema de clasificación fue designado por (Hayward, 1991), quien define cuatro biotipos de la bacteria (I, II, III, y IV) en base a propiedades bioquímicas, como la habilidad de oxidar y/o utilizar ciertos azúcares y alcoholes.

2.1.3 Taxonomía de la Bacteria

Según Martínez (2010) la clasificación de *R. solanacearum* es la siguiente:

Dominio: Bacteria

Phylum: Probacteria

Clase: Betaproteobacteria

Orden: Burkholderiales

Familia: Ralstoniaceae

Género: *Ralstonia*

Especie: *Ralstonia solanacearum*

2.1.4 Clasificación Intra Específica

A nivel intra-subespecífico *R. solanacearum*, ha sido clasificada de acuerdo al hospedero, su distribución geográfica, patogenicidad, relaciones epidemiológicas y propiedades fisiológicas; de lo cual se derivan los conceptos de raza y biovar, para fines de clasificación (Hayward, 1991). Sin embargo, no existe una nomenclatura uniforme para esta división, quedando claro solamente que la bacteria tiene una alta variabilidad. A través del tiempo, se han determinado 5 razas, basadas principalmente en la gama de hospederos que afectan (Buddenhagen, 1962), y seis biovars, definidas de acuerdo con la habilidad de utilizar y/u oxidar ciertos azúcares y alcoholes (Hayward, 1991).

2.1.5 Razas

El concepto de raza, se refiere a la especialización patológica de la bacteria al atacar a determinada especie de planta (Buddenhagen, 1962). En el caso de *R. solanacearum*, se conocen cinco razas:

La raza 1, ataca un gran número de plantas, incluyendo papa, tomate, berenjena, tabaco, jengibre, olivo, principalmente solanáceas en general y algunas malezas (Orosco, 1997). La raza 2, ataca musáceas y heliconias. La raza 3 es considerada específica de la papa, pero está asociada a algunas otras solanáceas, particularmente, tomate en ambientes fríos; sin embargo, no es, en otros cultivos de solanáceas, tan virulenta como en la papa (Hayward, 1991).

La presencia, en la China, de otras cepas que diferían de las descritas por (Hayward, 1991), establecieron la existencia de la raza 4, que está documentada infectando jengibre y la raza 5, afectando mora (Orozco, 2004).

2.1.6 Plantas Hospederas

R. solanacearum se caracteriza por ser una bacteria cosmopolita, extremadamente variable, adaptada a gran número de plantas, sobre las más variadas condiciones edafoclimáticas, principalmente en las regiones tropicales y sub-tropicales del mundo (Kelman, 1954) establecen como hospederas de esta bacteria, a más de 187 especies de plantas; y a medida que se han ido ampliando investigaciones al respecto, aumenta este número. Presenta una extensa relación al respecto donde se puede consultar las diferentes especies hospederas de la bacteria. Este hecho guarda una importante significancia para el manejo de la misma (Belalcázar, 1991).

2.1.7 Síntomas y Signos

La raza 2 de *Ralstonia solanacearum* que es la que afecta a las musáceas, presenta varias patologías que parece estar relacionadas con el sistema de infección inicial especialmente el punto de entrada del patógeno en la planta y el medio de transmisión. En general el síntoma visible es el amarillamiento foliar (Belalcázar, 1991).

La bacteria ataca principalmente los haces vasculares; éstos muestran en su interior una decoloración café-rojiza. También afecta al tejido parenquimatoso e indirectamente causa la marchitez por daños, lo que imposibilita el transporte de agua. Dependiendo del tipo de infección, la bacteria se puede extender a toda la planta o localizarse en el raquis (Loaiza, 2007).

Los síntomas se inician en la hoja central o bandera y desciende hacia las hojas de mayor edad, estas se marchitan y se doblan aunque pueden adherirse a la planta Stover (1972). Seguidamente se produce un marchitamiento progresivo a medida que avanza la enfermedad. El marchitamiento se produce como consecuencia del taponamiento de haces vasculares del pseudotallo (Martínez B. L., 2010), causando el crecimiento bacteriano y acumulación de polisacáridos bacteriales; como menciona Sabadell,

(2003). El patógeno se reproduce y disemina dentro de los vasos conductores causando, en consecuencia, el bloqueo del sistema vascular de la planta, dando lugar a los síntomas de amarillamiento y marchitez característico de la enfermedad similar al estrés de la planta causado por sequía (Martínez B. L., 2010).

Si los cortes de tejido vascular se mantienen húmedos, se observan gotas de exudado bacteriano, cuyo color puede variar de amarillo a café-rojizo o negro. Existe evidencia convincente de que la infección se origina a través de las inflorescencias y la raíz (Loaiza, 2007). En colinos pequeños sus hojas, comenzando desde la central o bandera hacia fuera, muestran marchitez, amarillamiento y secamiento, éstos por lo general mueren al final (Loaiza, 2007).

2.1.8 Distribución Geográfica

El “Moko” junto con el mal de Panamá (*Fusarium oxisporum* f.sp. *cúbense*) son las enfermedades que han ocasionado, a nivel mundial, grandes problemas sociales y económicos. Su importancia se acrecienta, no solo porque afecta a musáceas sino a 24 familias botánicas más. Las plantas afectadas, por lo general, no solo pierden las unidades sino el 100 % de su producción, incrementándose con esto las pérdidas por costo de establecimiento y por el manejo del cultivo y de la enfermedad (León, 2007).

2.1.9 Zonas Afectadas por el Moko en América Latina y el Caribe

La enfermedad del “Moko” en 1840 causó grandes pérdidas en Guyana. A finales del siglo XIX causó pérdidas en Trinidad en casi totalidad del cultivar de plátano. El mismo autor indica que en la década de 1960, un patotipo transmitido por insectos causó devastación de plantaciones de plátano en varios países de Centro América, Colombia y en la Amazonia (Thurston, 1989)

Existen reportes de eliminación de miles de hectáreas en Latinoamérica por efecto del Moko (FAO; CIAT, 2013). La bacteria es un organismo que se encuentra de forma endémica en Centro y Sudamérica y las diversas regiones existiendo reportes de su presencia en los siguientes países como El Salvador, Trinidad, Costa Rica, México, Nicaragua, Panamá, Granada, Belice, Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela, Guatemala, Guyana, Honduras, Perú, Surinam, en 2004, se confirmó la enfermedad en St. James, Jamaica (FAO; CIAT, 2013).



Figura No 1 Distribución de *R. solanacearum* en el mundo FUENTE: (Alvarez, 2013)

2.2 Descripción del Patosistema *Musa spp R. solanacearum*

2.2.1 Características Morfológicas

R. solanacearum es una bacteria Gram negativa, con forma de bastón de 0.5 – 0.7 μm de diámetro x 1.5 - 2.5 μm de largo, aeróbica, móvil, no forma spora ni cápsula, provoca reducción de nitratos y formación de amoniacó. En medio de cultivo líquido, la bacteria de tipo silvestre, es generalmente no móvil y carece de flagelo polar (Agrios, 1995).

In vitro, *R. solanacearum* produce colonias de crecimiento medio, blancas, de márgenes lisos, brillantes, circulares o irregulares. Varias cepas producen un

pigmento castaño (melanina) que se difunde en el medio de cultivo Díaz (1999). En cambio, aquellas variantes virulentas que se desarrollan en medio de cultivo son activamente móviles; las variantes virulentas silvestres tienen aspecto redondeado irregular, de color blanco con el centro tornando a rosa Denny (2001). *R. solanacearum*, no provoca la hidrólisis en almidón, es resistente a la desecación y su desarrollo en medio nutritivo es inhibida por bajas concentraciones de sal (Buddenhagen, 1962).

2.2.2 Síntomas en Hojas

La característica principal de la enfermedad es una clorosis amarillenta de la hoja número uno; seguidamente esta se debilita y se quiebra en la base, a nivel de la unión de la lámina con el peciolo. A medida que avanza la infección presenta bandas amarillas a lo largo del borde, con márgenes oscuros y finalmente la hoja bandera colapsa y las plantas afectadas mueren Martínez (2010). Al hacer cortes transversales de la nervaduras centrales de la hoja se aprecia el bloqueo de los haces vasculares en forma de segmentaciones cuya densidad se puede relacionar a la intensidad de la enfermedad (Martínez B. L., 2010).

2.2.3 Raquis

El raquis del racimo presenta una coloración café rojiza oscura en los haces vasculares (LANREF, 2013).

2.2.4 Pseudotallo

Los haces vasculares del pseudotallo de las plantas afectadas toman generalmente una coloración café clara a café oscura que corresponden a los haces taponados por sustancias poliméricas extracelulares (Martínez, 2004).

2.2.5 Cormo

Las infecciones que ocurren generalmente en las raíces o cormos son evidentes rápidamente en la planta adulta. A nivel del cormo la sintomatología no es visible por estar bajo tierra, sin embargo al hacer un corte transversal en cormos de la planta infectada, revelan bandas de color marrón o negro producto del taponamiento de los haces vasculares por crecimiento bacteriano (Martínez, 2004).

2.3 Epidemiología

2.3.1 Infección y Diseminación de la Bacteria

La bacteria penetra a las plantas a través de aberturas naturales como estomas e hidátodos, sin embargo, la vía más rápida se produce cuando se hacen heridas bien sea en la raíz, cormo o pseudotallo como consecuencia de las labores de cultivo. Los hijuelos son particularmente susceptibles a este tipo de acceso, también puede transmitirse por insectos y en este caso las flores son una puerta de entrada de la bacteria Ordosgoitti (1987); Martínez (2010). Una vez dentro de la planta, la bacteria usa el xilema para transportarse a otras partes de aquella (Ordosgoitti, 1987).

Diversos autores (CUADRO 2) han establecido las condiciones epidemiológicas de diversas cepas de la bacteria, especialmente en lo referente al mecanismo de transmisión y sobrevivencia (Ordosgoitti, 1987).

Cuadro 2. Características de las cepas (D, B, SFR y H) de *Ralstonia solanacearum* Smith.

- B.** Moderadamente transmitida por insectos, causa un rápido marchitamiento en las plantas, es la más virulenta de todas (González, 1987). “Presenta una sobrevivencia en el suelo hasta de 18 meses” (Stover R. , 1972).
- SFR.** Virulenta en bananos, es rápida y fácilmente transmitida por insectos (Hernández, 1993). Raramente sobrevive en el suelo por más de 6 meses” (Stover R. , 1972).
- D.** Afecta a heliconias; presenta poca virulencia en banano, causando distorsión y lento marchitamiento de sus hojas (González, 1987).Sobrevivencia menor a 6 meses en el suelo (Stover R. , 1972).
- H.** Es transmitida por insectos; ataca a plátanos (AAB) y guineos (ABB). Sobrevivencia muy baja” (Stover R. , 1972).
-

2.3.2 Proceso de Infección

Después que la planta es infectada e invadida por la bacteria, esta avanza por el sistema vascular, proceso que está relacionado y es acelerado por las altas temperaturas. La velocidad de movilidad y distribución dentro de la planta depende del tejido vegetal de la especie de planta colonizada. Se conoce por ejemplo que de las plantas de tabaco la bacteria se mueve más rápido cuando afecta al tallo (Ono & Akazawa, 1984).

Cuando la bacteria coloniza completamente el xilema causa degradación de la pared de estos vasos y el parénquima adyacente. Una vez que la bacteria ha colonizado completamente el xilema, degrada la pared celular y el parénquima de los mismos para continuar su invasión de los vasos floemáticos y todo el tejido cortical (CEICDA, 1996). Aparentemente esto provoca producción de ácido indolacético (AIA) que sería lo que provoca la epinastia de las hojas y producción de raíces adventicias en la planta (CEICDA, 1996).

2.3.3 Formas de Diseminación

Una vez que la enfermedad supera las barreras establecidas para prevenir su ataque y penetra a un área en donde crecen y se desarrollan plantas susceptibles de ser afectadas, su proceso de diseminación puede llevarse a cabo a través de diferentes mecanismos, como agua de riego o escorrentía, herramientas, movimiento de semillas, animales etc., entre los cuales el hombre, que por tener en el proceso una responsabilidad directa o indirecta, aparece catalogado como el agente diseminador más importante (Belalcazar, 1967).

2.3.4 Estrategias de Manejo o Control de Moko

2.3.4.1 Genético

El control del Moko mediante variedades resistentes hasta la fecha no es posible, no se conocen clones de banano (AAA) o plátano (AAB y ABB) comestibles, que sean inmunes o con cierto grado de resistencia a la infección de los tejidos (Belalcázar, 1991). La propagación *in vitro* es una herramienta que permite obtener plantas sanas, sin embargo; el costo para producción de la plántulas hace a ésta una práctica no disponible para todos los cultivadores de banano (Lira, 2002).

2.3.4.2 Cultural

El cultivo de musáceas es más bien de carácter perenne, por lo que hay ciertas limitaciones en la aplicación de prácticas culturales como la rotación de cultivos, que es común con cultivos de ciclo corto, Sin embargo, para el manejo cultural de la enfermedad, se han probado diferentes tácticas, tanto de carácter directo al momento del cultivo como el control de malezas, solarización, aireación del suelo en épocas secas, remoción continua de la inflorescencia masculina después de la emisión de la última mano del racimo como indirectas, y el lavado y desinfección de herramientas, cuya prolija

aplicación pudiera minimizar la diseminación de la bacteria en el campo de forma inmediata (Pradhanang, 2003).

2.3.4.3 Físico

Las medidas de carácter físico se pueden aplicar para evitar la proliferación de *R. solanacearum* en plantaciones establecidas, con el fin de erradicarla en plantas muertas por la bacteria. En primer lugar, se recomienda eliminarse matarla con herbicida (Glifosato) y seguidamente cubrir los residuos de la planta eliminada con una cobertura de plástico negro para causar la muerte de las planta y evitar la proliferación de *Ralstonia solanacearum* (Almeida., O. Cabral., & F.R.A., 2005).

2.3.4.4 Químico

Para el caso de enfermedades bacterianas no se conoce productos bactericidas, por lo tanto, el uso de químicos está más bien dirigido a provocar el secamiento rápido de los tejidos y la muerte de las plantas afectadas, al control de posibles vectores con insecticidas y a la desinfección localizada del suelo con desinfectantes del tipo del formaldehido, algunas sales cuaternarias o productos similares. Anteriormente se usaba el bromuro de metilo con estos fines, pero este es un producto que está vetado en la mayoría de países (Ambiente, 2002).

2.3.5 Manejo Integrado de la Enfermedad

Medidas que ayudan a un buen manejo de la enfermedad recomienda el manejo integrado de este tipo de enfermedades, con énfasis en acciones preventivas que es lo más recomendable para el productor y consiste en la aplicación de principios básicos de la fitopatología (Belalcázar, 1991).

Se Recomienda las Siguietes Medidas:

- 1 Seleccionar plantaciones certificadas sanas como fuente de semilla.
- 2 Desinfectar las herramientas para las labores como deshoje, deschante que requieren herramientas cortantes, sobre todo si se sospecha de la presencia de la enfermedad.
- 3 En caso de que la enfermedad se presente, delimitar el área afectada, erradicar plantas enfermas y todas aquellas que estén a su alrededor un área de 5 metros, mediante la inyección del herbicida glifosato (Sotomayor , 2014).

Con este tipo de patógeno, un oportuno diagnóstico en campo es de suma importancia para prevenir su diseminación en forma epidémica.

2.4 Características del Cultivo de *Musáceas*

2.4.1 Taxonomía

El banano es perteneciente al orden Zingiberales, familia Musácea y género *Musa* (Soto, 1985). Las especies más destacadas son: La *Musa acuminata* Colla, que ha dado origen a las variedades comerciales, *Musa balbisiana* Colla y *Musa acuminata* diploide (PRO ECUADOR , 2011).

2.4.2 Morfología de *Musa spp*

Las plantas pueden medir entre 3 y 7 metros de altura, con rizoma corto y tallo que resulta de la unión de las vainas foliares, dando forma cónica y al final como resultado una corona de hojas que emergen enrolladas en forma de cigarros. Miden entre 2 y 4 metros de largo y hasta 1,5 metros de ancho, de coloración verde (Jerez, 2007).

El cuadro 3 agrupa clasificación de las especies de banano y plátano donde se observa que dentro del subgrupo Cavendish se encuentran los clones Dwarf

Cavendish y el Williams (PRO ECUADOR, 2013) que son los principales en la industria bananera del país.

CUADRO 3. CLASIFICACIÓN DE LA ESPECIE BANANO Y PLÁTANO

FAMILIA: MUSÁCEA					
GÉNERO: MUSA					
SECCIÓN: EUMUSA					
Especie	Grupo	Subgrupo	Clones	Otros Nombres	
Musa Acuminata	Diploide AA	Sucrier	Baby banana	Lady'S Finger	
		Gros Michel	Gros Michel	Orito	
	Triploide AAB	Cavendish	Gran Naine	Gran enano	
			Dwarf Cavendish	Cavendish	
			Valery	Robusta	
			Lacatan	Filipino	
			Williams		
		Rojo y Rojo-Verde	Morado		
Musa Balbisiana	Triploide AA	Plátano	Frenh Plantain	Dominico	
			Hom Plantain	Barraganete	
			Dominico Hartón		
			Maqueño		
			Manzano		
			Limeño		
	Triploide ABB	Plátano	Cuatrofilos		
			Pelipita		
	Tetraploide AAAB		FHIA 4		
			FHIA 21		

Fuente: (PRO ECUADOR, 2013)

2.4.3 Panorama del Banano en el Ecuador

El banano y plátano en el país se producen básicamente en la Costa (89% de la producción), algunas regiones de clima tropical o subtropical de la Sierra (10%) y otras del Oriente ecuatoriano (1%). La provincia de Los Ríos participa con el 35% de la producción nacional seguida por el Guayas con 32%, siendo

las principales provincias productoras dentro del país y la región costa (El Agro, 2012).

La productividad a nivel nacional incorporando el resto de provincias es de 1400 cajas de banano por hectárea (Salasar, 2006) Si consideramos solamente las tres principales provincias productoras de la costa, esta productividad es superior, con 2070, 1600 y 1500 cajas/ha, respectivamente para los Ríos, Guayas y El Oro.

Las variedades que el Ecuador oferta para el consumo incluyen: Las pertenecientes al sub grupo Cavendish, de este grupo la superficie está actualmente sembrada con el cultivar Williams, Grand Naine pero también se mantienen otros cultivares que se han venido cultivando desde el inicio de la actividad, aunque en mucha menor escala, tal es el caso del orito o baby banana, y el banano rojo. El banano es una actividad de plantaciones tecnificadas y con estándares internacionales de certificación que se extiende en alrededor de 214,000 ha (A.E.B.E , 2013).

El cantón El Carmen provincia de Manabí se encuentra ubicado en la parte norte de la provincia de Los Ríos, donde el plátano de exportación cultivan Barraganete es el rubro de mayor rédito económico, después de la ganadería, el cacao, entre otros productos de importancia en la zona. Debido a que una buena parte de dicha explotación se ha dedicado a la exportación, la zona se fue dedicando a explotar el cultivar barraganete que ahora ocupa gran parte de la zona productiva, con relativamente pequeñas áreas dedicadas a los cultivares Dominico y Maqueño principalmente para el mercado interno. Se considera que hay alrededor de 70000 has de plátano, que generan una exportación semanal de alrededor de 200 000 cajas en la época lluviosa y entre 100 y 120 mil cajas en la época seca (Vélez, 2009).

2.4.4 *Las Heliconias*

Este grupo de plantas, pertenecen al orden Zingiberales y si bien en su mayoría son silvestres muchas de ellas se usan por su valor ornamental. El

género *Heliconia*, incluido en el complejo *Musa*, fue agrupado en la familia Musaceae, aunque actualmente la mayoría de los taxónomos aceptan que es el único integrante de la familia Heliconiaceae. Se estima que incluye 200-250 especies, aunque debido a su polimorfismo se han descrito unas 450 (Jerez, 2007).

De manera similar a las Musáceas, las heliconias son plantas monocotiledóneas, herbáceas, perennes, con rizoma simpodialmente ramificado (emite brotes o vástagos) y un pseudotallo aéreo, erecto, formado por un eje recubierto por las bases de hojas alternas que se solapan (posición dística) (Jerez, 2007).

El cultivo de heliconias comerciales, demuestra que las enfermedades causadas por patógenos ha aumentado llegando a producir pérdidas hasta de un 30% dependientes del material (Villegas, 2010).

Todos los estudios en investigaciones se orientan a temáticas diversas como inventarios, taxonomía, ecología, distribución y clasificación de heliconias presentes en el país; destaca sin embargo, la carencia de información precisa sobre los patógenos que afectan las especies que se encuentran dentro de este género, provocando pérdidas económicas, incremento en los costos de producción y cierre de mercados internacionales (Villegas, 2010).

2.4.5 La Heliconia Arco Iris (*Heliconia wagneriana*)

Una de las especies más difundida, es originaria de las zonas más calurosas y húmedas de América Central y El Caribe, con brácteas de color crema, rojas y verdes que alcanza 3,5 m heliconia (Otto, 1935). Según (Smith, 1993) se ha logrado aislar la raza 2 de *R. Solanacearum* en el pseudotallo y rizomas de esta especie, donde produce un necrosamiento interno, algunas veces con producción de exudado espeso y sin olor, característico de la bacteria (ICA, 2008).

2.4.6 *Heliconia Latispatha*

H. latispatha es otra especie muy distribuida en América tropical, desde México hasta Ecuador y Venezuela SIB (2013). Esta planta alcanza alrededor de 1.5 a 2.5 m de altura cuyas vainas están imbricadas en las hojas y tiene un rizoma subterráneo simple, envainadas hacia la base. Tiene un peciolo largo (35 a 70 cm de largo) su lámina es más bien rectangular; carecen de pubescencia, es de color verde en ambas superficies mide entre 75 a 120 cm de largo y 18 a 32 cm de ancho, márgenes enteros y nervadura pinnada y paralela (SIB, 2013).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Localización y Duración de la Investigación

La investigación a nivel de campo y Laboratorio se realizó en los laboratorios e invernadero de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el km 1 Quevedo - Vía a Santo Domingo.

Características Agroclimáticas

Altitud de 102 msnm

Temperatura de 25°C

Humedad relativa de 84.50%

Precipitación de 2100 mm/año

Heliofanía (h/año) 919,73 horas luz

Topografía irregular del terreno.

3.1.2 Materiales y Equipos

Material experimental

Equipos

- Autoclave automática vertical
- Cámara de flujo laminar
- Estufa incubadora
- Refrigerador
- Congeladora a -80°C,
- Microscopio Óptico

Piezas y Materiales Menores del Laboratorio e Invernadero

- Etiquetas
- Fundas plásticas
- Machete

- Pala de desfonde
- Fundas plásticas de 12 x20 cm.
- Carreta
- Machete
- Pala

Laboratorio

- Pipeta
- Malla
- Agujas de punta recta
- Asas de inoculación
- Cuchara espátula
- Pinza
- Bisturí
- Mechero
- Placas porta y cubre objetos
- Vasos de precipitación de 250 ml, 1000 ml
- Matraz
- Varilla de vidrio
- Cajas petri de vidrio (70 mm – 90 mm)
- Cajas petri
- Algodón estéril
- Papel filtro
- Equipos

Reactivos y otros

- Agua destilada estéril
- Hipoclorito de Sodio
- Medio de cultivo Agar nutriente
- Alcohol etílico
- Peptona
- Caseína hidrolizada
- Glucosa
- Agar
- 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio

3.1.3 Factor en Estudio

El factor a estudiar es la respuesta de 15 variedades de *Musa* y 2 *Heliconias* a la inoculación con la bacteria *R.solanacearum*.

Cada cultivar de *Musa* y *Heliconias* se constituyó en tratamiento. En el cuadro 4 se presentan los cultivares usados para esta prueba con la caracterización genotípica a la que pertenece.

Cuadro 4. Caracterización y tipo genético de los cultivares usados en este estudio.

Cultivar No.	Variedad	TIPO GENETICO	GRUPO
1	Vinces	AAB	Banano
2	Barraganete	AAB	Plátano
3	Williams	AAA	Banano
4	Dominico Verde	AAB	Plátano
5	Dominico negro	AAB	Plátano
6	Maqueño verde	AAB	Plátano
7	Orito	AAA	Banano
8	Limeño	AAB	Plátano
9	Cavendish	AAA	Banano
10	Gros Michel	AAA	Banano
11	Curare	AAB	Plátano
12	Maqueño morado	AAB	Plátano
13	Hartón	AAB	Plátano
14	Guineo de jardín	AAA	Banano
15	Filipino	AAA	Banano
16	<i>Heliconia Latispatha</i> *		Sin fruto
17	<i>Heliconia Wagneriana</i> *		Sin fruto

* Se consideraron solamente estas dos especies en función de que son muy frecuentes en sistemas de producción con *Musa* spp, especialmente plátano u orito.

3.1.4 Diseño Experimental

Cada unidad experimental estuvo compuesta de 4 plantas, tres de las cuales se inocularon con el aislamiento bacterial y la cuarta se dejó sin inocular para comparación. Las unidades experimentales se distribuyeron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, en los mesones del umbráculo; esto dio un total de 12 plantas en observación/tratamiento. Teniendo en cuenta la tipología de este estudio, los datos recogidos de las diferentes variables no se sometieron a un análisis de varianza si no que se procesaron mediante técnica de estadística descriptiva USANDO WINDOWS EXEL E INFOSTAT.

3.1.5 Variables

Días a Flacidez de la Hoja (DFH)

Se consideró el periodo entre el momento de la inoculación y la pérdida de turgencia de las hojas.

Amarillamiento Tenue de la Primera Hoja (ATPH).

Se consideró el tiempo hasta cuando la primera hoja pierde el tono verde intenso y se inicia la clorosis.

Días a Clorosis de la 2^{da}. y 3^{era} Hoja (2-3HC)

Al avanzar la infección, el marchitamiento y desecamiento alcanza a las hojas más bajas presentando en sus bordes bandas amarillas con bordes oscuros. Por tanto se registró el tiempo que tarda en presentarse este síntoma a nivel de la segunda y tercera hoja del cultivar.

Días Hasta Amarillamiento Total de la Planta (ATP)

Se registró el tiempo que tardaron las plantas al amarillamiento total, momento cuando el bloqueo de vasos por la bacteria *R. solanacearum* es casi total.

Días Hasta la Muerte de Planta (MP)

Se registró el número de días requeridos para la muerte de las plantas. Esto se manifestó por un colapso y necrosamiento total de la planta.

3.1.6 Manejo del Experimento

3.1.6.1 Fase de Campo

Obtención del Material Vegetal Para Inocular:

En este tipo de estudio, una dificultad que se presenta usualmente es la obtención de plantas uniformes de todos los cultivares a probarse. En este caso se procedió a recolectar hijuelos de los cultivares disponibles en ensayos en marcha en el cantón La Maná y en la finca experimental La María, ambos bajo la conducción del Convenio UTEQ-Bioversity International.



Figura No2 Colinos seleccionados para inoculación

Los hijuelos previamente se limpiaron completamente de residuos de chanta y tierra vegetal. Seguidamente se sumergieron en una suspensión de Vitavax (15g) por 5 minutos. Seguidamente, se sembraron en fundas plásticas negras de 20 x 10 cm llenamos de tierra negra sin desinfectar. A las dos semanas se añadió 5g de fertilizante completo (10- 30 - 10).

Las plantas se dejaron a la intemperie en un área aislada de vivero, donde recibían agua de lluvia. A los 2 meses y medio de edad cuando las plantas tenían entre cuatro y cinco hojas se las trasladó al invernadero en el campus de la Universidad. Allí se inoculación con la bacteria *R. solanacearum* en condiciones controladas de aislamiento.



Figura No 3 Plantas afectadas por *R. solanacearum* en condiciones controladas.

Fase de Laboratorio

3.1.7 Aislamiento de *Ralstonia solanacearum*

Para obtener colonias de la bacteria *R. solanacearum* se visitó el lugar donde se han detectado planta con la enfermedad del Moko en el Cantón El Carmen con todas las precauciones pertinentes (aislamiento y desinfección de zapatos y herramientas) se colectaron muestras de pseudotallo y cormo de plantas que presentaban marchitez y se trasladaron al laboratorio en recipientes herméticos. Seguidamente, se procedió a obtener colonias puras por los siguientes procedimientos:

(a) Fragmentos de la sección del pseudotallo tallo infectado se desinfectaron con una solución de cloro al 1 % y se enjuagaron en tres pases de agua destilada estéril. Seguidamente, se colocaron 4 fragmentos (0,5cm) de tejido de la parte interna de las muestras, en cajas Petri conteniendo agar nutriente. Transcurriendo las 24 horas, de aquellas muestras que dieron lugar a crecimiento bacteriano similares a *R. solanacearum* , se hicieron estriados en placa de Agar nutriente.

(b) Fragmentos del pseudotallo con síntomas de pudrición se maceraron en una caja Petri; se realizó estriado en placa de agar con una alícuota del producto de esta maceración.

(c) Se realizó un corte transversal de un hijuelo que tenía la hoja “bandera” muerta obteniéndose un exudado bacteriano, que se usó directamente para hacer un estriado en placa de agar.

De las colonias obtenidas, se hicieron repiques sucesivos en placas petri con agar nutriente, para obtener cultivos puros de la bacteria, transfiriendo, aquellas que presentaban características suficientes de pureza a otra placa de agar y a viales con agua destilada para mantenerlas hasta su utilización.

3.1.8 Caracterización Bioquímica de la Bacteria

El proceso de caracterización a nivel de laboratorio, comprende todo un proceso encaminado al muestreo, aislamiento, descripción e identificación de las cepas bacterianas. Con este propósito se consideraron características, morfológicas fisiológicas, químicas y patológicas, siguiendo procedimientos estandarizados (Denny, 2001).

3.1.9 Tinción Diferencial

La reacción de Gram es una prueba que ayuda a caracterizar un cultivo bacteriano. Se basa en variaciones en el espesor de la pared celular de las bacterias y su capacidad para retener el colorante cristal violeta. Es una prueba ampliamente usada en microbiología para caracterizar bacterias. Las colonias obtenidas en el presente estudio se sometieron al procedimiento standard (Schaad, 2013).

- 1 Se realizó un frotis colocando una muestra de la bacteria sobre una gota de agua, se mezcló y dispersó cubriendo con una capa muy fina un área de aproximadamente 1,5cm² de un cubre objeto: seguidamente se flameó tres veces sobre la llama de un mechero de alcohol para secar y fijar el frotis:

- 2 Se inundó el frotis con una solución de cristal violeta durante 30 segundos.
- 3 Se lavó el frotis con agua destilada aplicada en chorro con una pizeta:
- 4 Se volvió a inundar el frotis con el reactivo de Lugol durante un minuto.
- 5 Se Lavó y aclaro con agua como en el 3 punto
- 6 Se Lavó con una solución de alcohol-cetona durante 30 segundos.
- 7 Se repitió el lavado como en el 3 punto
- 8 Se aplicó contra teñido con una solución de safranina durante 30 segundos.
- 9 Se aclaró con agua aplicando un chorrito con pizeta hasta que ya no salga más color.
- 10 Se secó al ambiente previo a la observación al microscopio.

3.1.10 Solubilidad en Hidróxido de Potasio (KOH)

Según RYU GRAM, (1938), citados por Smith, (1896) y Yabuuchi*etal*(1995), la solubilidad del KOH sirve para confirmar la caracterización de Gram, y se basa en que las paredes de las bacterias Gram (-) al disolverse por la acción del KOH (Hidróxido de Potasio) liberan el material citoplásmico y el DNA que es un compuesto muy viscoso (SAGARPA, 2014).

Para la reacción en KOH, se colocó una muestra de la colonia bacteriana obtenida en el laboratorio, sobre un portaobjetos: a ella se le añadió una gota de una solución de Hidróxido de potasio al 3 %, procediendo a mezclar por unos 20segundos. Finalmente se observó si la mezcla se tornaba viscosa (reacción positiva) por la formación de un filamento bacteriano observado al levantar el asa con la mezcla.

3.1.11 Prueba Pectinolítica

Con el fin de establecer que se disponía del aislamientos de *R.solanacearum*, se usó la prueba pectinolítica en papa, según procedimiento. Para el efecto, se usaron papas que se lavaron con abundante agua, seguidamente se desinfectaron con una solución de hipoclorito al 1 % y se enjuagaron con agua

destilada estéril, finalmente se la cortaron en rodajas de 7 mm de espesor aproximadamente.

En la cámara de aislamiento se colocaron las rodajas en caja Petri adecuada como cámara húmeda (con papel absorbente, y agua destilada en la base), sobre un vidrio porta objeto para evitar que la rodaja entre en contacto con el agua destilada estéril que se añadió a la caja. Usando un asa bacteriológica se recogió una porción del crecimiento bacteriano obtenido de las diferentes muestras de tejido, y se la colocó en el centro de cada rodaja. Se incluyó un testigo absoluto (solo una gota de agua destilada estéril sobre la rodaja). Esta prueba se evaluó durante 2 días (Manzano, 2013).

3.1.12 Cultivo en Medio Selectivo

Se empleó a un medio nutritivo específico para el crecimiento de bacterias fitopatógenas, desarrollado por (Kelman, 1954).

Solución madre del reactivo TZC: 0.5 g de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio (TZC) se disolvió en 50mL de agua destilada estéril. La solución se colocó en una botella ámbar a prueba de luz y se mantuvo en refrigeración.

Medio base: El medio basal, está constituido por los siguientes ingredientes: (Kelman A. , 1954).

Dextrosa.....	5 g
Peptona.....	5 g
Ácido Casamínico (Caseína hidrolizada).....	0.5 g
Agar.....	9 g
Agua destilada.....	500 ml

Preparación: Una vez disueltos los ingredientes, el medio se esterilizó en autoclave (1Atm de presión y 121^oC) por 15min. Se dejó enfriar y se mantuvo refrigerado hasta su utilización.

Al momento de realizar la siembra de las colonias bacterianas, se diluyó el medio basal y se le añadió, 2,5 mL de la solución madre de TZC para dar una concentración final de 0.005% de este reactivo. Se agitó con movimiento circular y se dispensó en platos, alícuotas de aproximadamente 20mL/plato. Se dejó solidificar y se mantuvieron invertidos por un mínimo de 6 y máximo 24 horas para conseguir secar la superficie del medio. Finalmente se estrió la colonia bacteriana en la superficie del plato y se incubó a temperatura ambiente por 24 horas.

3.1.13 Inoculación

Para la inoculación de las plántulas, se usaron 2 ml de una suspensión de *R. solanacearum* 2,0x10⁵ UFC/ ml la suspensión se inyectó en el pseudotallo de las plantas. Luego de probar diferentes agujas, finalmente se usó una jeringuilla de 10cm, equipada con una aguja hipodérmica de 3 cm, No.120 como se muestra en la figura 4. Las plántulas se mantuvieron en incubación en el mismo umbráculo.



Figura 4 Inoculación de las plántulas de *Musa spp* en la base del pseudotallo

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Aislamiento

De todas las muestras de tejido colectadas se pudo aislar colonias bacterianas blanco mate o blanco con centro rojizo cuyas características corresponden a la descripción de *R. Solanacearum* (Denny TP, 2001). La fuente de donde más fácilmente se pudo aislar fue del exudado bacteriano del pseudotallo, de donde se obtuvieron aislamientos con muy poca contaminación que sirvieron para las pruebas subsiguientes.



Figura No 5 Síntomas de tejido infectado con *R. Solanacearum*.



Figura No 6 Características *in vitro* de *R. Solanacearum* aislamiento de tejidos con síntomas de Moko

4.1.2 Caracterización del cultivo bacteriano

Tinción de Gram

Una vez realizada la tinción de Gram con la colonia bacteriana, se observó al microscopio con aumento de 100X (inmersión en aceite) observándose que solamente había bacterias tipo bacilo de color rojizo, es decir la colonia era Gram negativa.

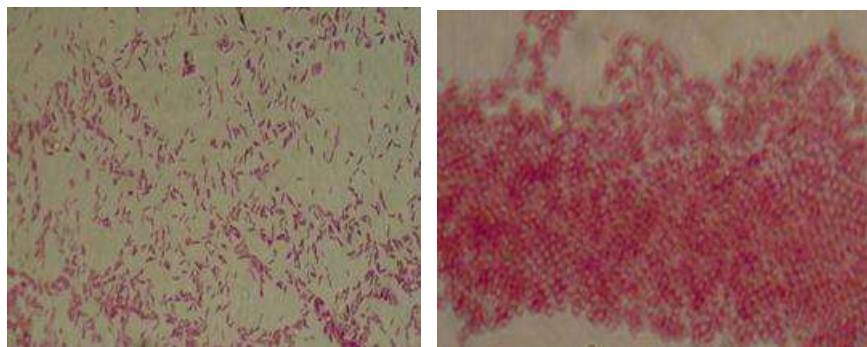


Figura 7 Resultado de la tinción de Gram aplicada a las bacterias recuperadas de tejido inoculado de *Musa* spp (100X inmersión en aceite)

4.1.3 Reacción de viscosidad

Al separar el asa del portaobjetos con la colonia bacteriana, esta formaba delgados filamentos, indicativo de reacción de viscosidad (solubilidad positiva) como se muestra en la figura 8 esta reacción se corresponde también con las bacterias Gram negativa.



Figura 8 Reacción de *R. solanacearum* en la prueba de viscosidad con KOH

4.1.4 Prueba Pectinolítica

Las colonias bacterianas de *R.solanacearum* aisladas de plátano degradaron el tejido de papa (*Solanum tuberosum*) (fig 10), y alrededor del tejido descompuesto se observa oxidación marrón oscuro producto del taponamiento de los vasos. Este mismo tipo de descomposición se observó en el corno del Plátano como se aprecia en la (fig.11).



Figura No 9 Reacción del tejido de papa inoculado con *R. Solanacearum*.



Figura No 10 Aspecto de la lesión causada por *R. Solanacearum* en corno de *Musa spp*

4.1.5 Crecimiento en Medio Diferencial TZC (2,3,5 Cloreto de Trifeniltetrazólio)

De las 19 colonias inoculadas en este medio, catorce dieron colonias blanco-mate, elevadas y fluídas; cuatro dieron una tonalidad rojo intenso en el centro con un borde blanco-mate y una colonia se presentó blanca con un centro rojo claro (Figura 12).



Figura No 11. Crecimiento de *R.solanacearum* en medio diferencial TZC

4.1.5 Patogenicidad

Esta prueba se realizó al inocular los cultivares de *Musa* y Heliconias para observar su reacción a la bacteria. Para la inoculación se seleccionó el aislamiento MM1 cuyas características coincidían en su totalidad con lo que indica la literatura para *R. Solanacearum* de *Musa spp.* Los resultados de la inoculación fueron positivos en todos los casos como se reseña más adelante. De cada cultivar se realizaron cultivos para recuperar la bacteria y se sometieron a las pruebas de Gram, reacción de viscosidad y la prueba Pectinolítica.

Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 3, donde se aprecia que todas las colonias recuperadas corresponden a la misma con que se inocularon las plantas.

Cuadro 5 Resultados de pruebas bioquímicas aplicadas a aislamientos bacterianos de los diferentes cultivares inoculados con *R. solanacearum*

CULTIVARES	Reacción KOH	Prueba Pectinolítica	Tinción de Gram
1 Vinces	VISCOSA	Positiva	Negativa
2 Barraganete	VISCOSA	Positiva	Negativa
3 Williams	VISCOSA	Positiva	Negativa
4 Dominico verde	VISCOSA	Positiva	Negativa
5 Dominico negro	VISCOSA	Positiva	Negativa
6 Maqueño verde	VISCOSA	Positiva	Negativa
7 Orito	VISCOSA	Positiva	Negativa
8 Limeño	VISCOSA	Positiva	Negativa
9 Cavendish	VISCOSA	Positiva	Negativa
10 Gros Michel	VISCOSA	Positiva	Negativa
11 Curare	VISCOSA	Positiva	Negativa
12 Maqueño morado	VISCOSA	Positiva	Negativa
13 Hartón	VISCOSA	Positiva	Negativa
14 Guineo de jardín	VISCOSA	Positiva	Negativa
15Filipino	VISCOSA	Positiva	Negativa
16 Heliconia wagneriana	VISCOSA	Positiva	Negativa
17 Heliconia latispatha	VISCOSA	Positiva	Negativa

4.1.6 Resistencia/Tolerancia de los Cultivares *Musa spp* y *Heliconia* al Moko (*R.solanacearum*) del Plátano y Banano en Función de los Síntomas Presentes en los Cultivares.

La figura 12 muestra la respuesta de los cultivares del grupo plátano en el (Barraganete, Curare, Dominico negro, Dominico verde, Hartón, Limeño, Maqueño morado y Maqueño verde) a la inoculación de la bacteria *R.solanacearum*.

En este grupo AAB se evaluaron ocho cultivares, cuatro de los cuales (Hartón, Curare, Limeño y Barraganete) llegaron a la etapa de muerte en menos de 25 días. Si bien todos presentaron un período de incubación similar (8-12 días), el

Barraganete se mostró más susceptible, luego de 8 días desde la inoculación ya presentó los síntomas iniciales y en diez días más las plantas estaban muertas. Los demás cultivos Limeño, Curaré y Hartón- llegaron a la etapa final a los 21, 24 y 32 días respectivamente.

Respecto a los otros cuatro, los dos maqueños y los dos dominicos, solo alcanzaron el estadio 2 a 3 de hojas entre los 20 y 30 días, permaneciendo ahí hasta el fin del experimento. En este grupo se destaca el maqueño morado con un período de infección de 21 días y luego de 10 días más, los síntomas avanzan hasta presencia de 2-3 hojas cloróticas (nivel 3), donde permaneció hasta el fin del experimento.

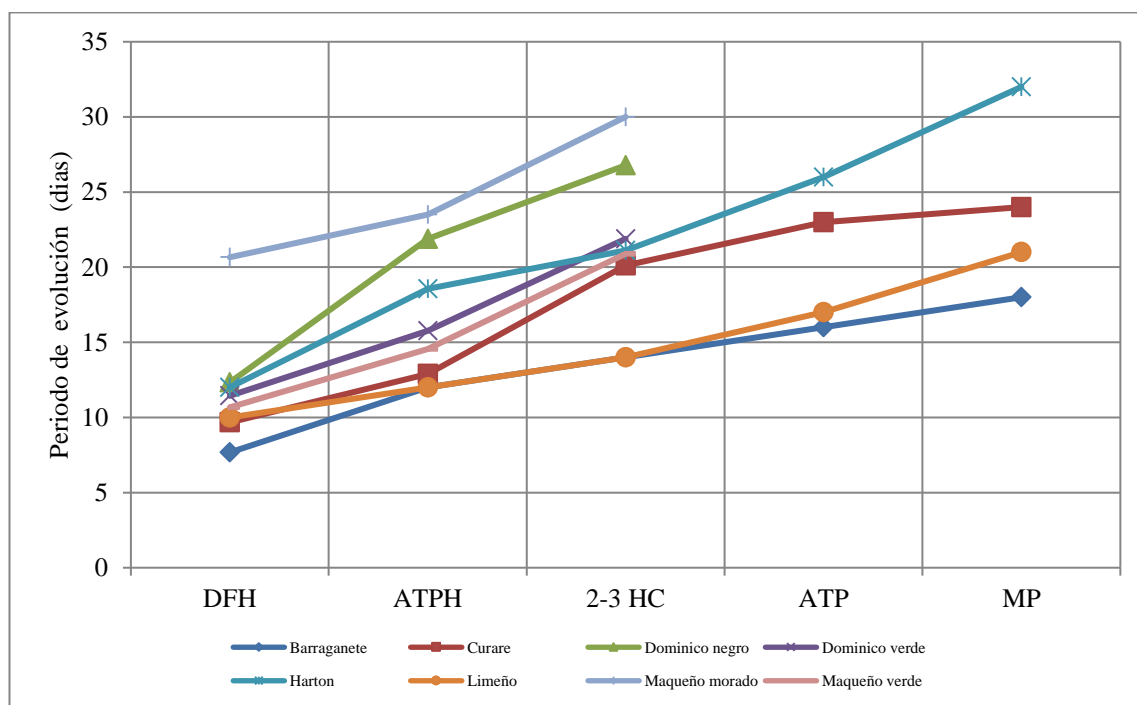


Figura 12. Evolución de la infección en días, por *R. Solanacearum* en cultivares del grupo plátano DFH Días a la flacidez de hoja, ATPH Amarillamiento tenue de la primera hoja, 2-3HC 2-3 Hojas cloróticas, ATP Amarillamiento total de la planta, MP Muerte de planta.

La figura 13, muestra el grupo de los bananos (Cavenish, Filipino, Gros Michel, Guineo jardín, Orito, Vincés y Williams)

Estimando que el Guineo de jardín y el Gros Michel presentaron un periodo de incubación (días después de la inoculación a flacidez de las hojas-) bastante corto (10 y 12 días) y en un periodo igual atravesaron toda la gama de síntomas hasta llegar a la muerte de las plantas.

En el extremo opuesto se ubicó el cultivar Vines, cuyo periodo de incubación fue el más largo con 22 días; luego la enfermedad evolucionó hasta el tercer estadio (2, 3 hojas cloróticas) donde permaneció hasta el término de la evaluación presente estudio (50 días).

Los cultivares “Cavendish”, Orito y Williams tuvieron un comportamiento similar al Vines, pues aunque permitieron un ligeramente mayor y más rápido avance de la enfermedad, ésta solo llegó al tercer estadio (2/3 Hojas Cloróticas). Dentro de este grupo, también se encontró al Filipino, aunque en este caso la enfermedad avanzó al estadio 4, con amarillamiento total de la planta a los 38 días de la inoculación.

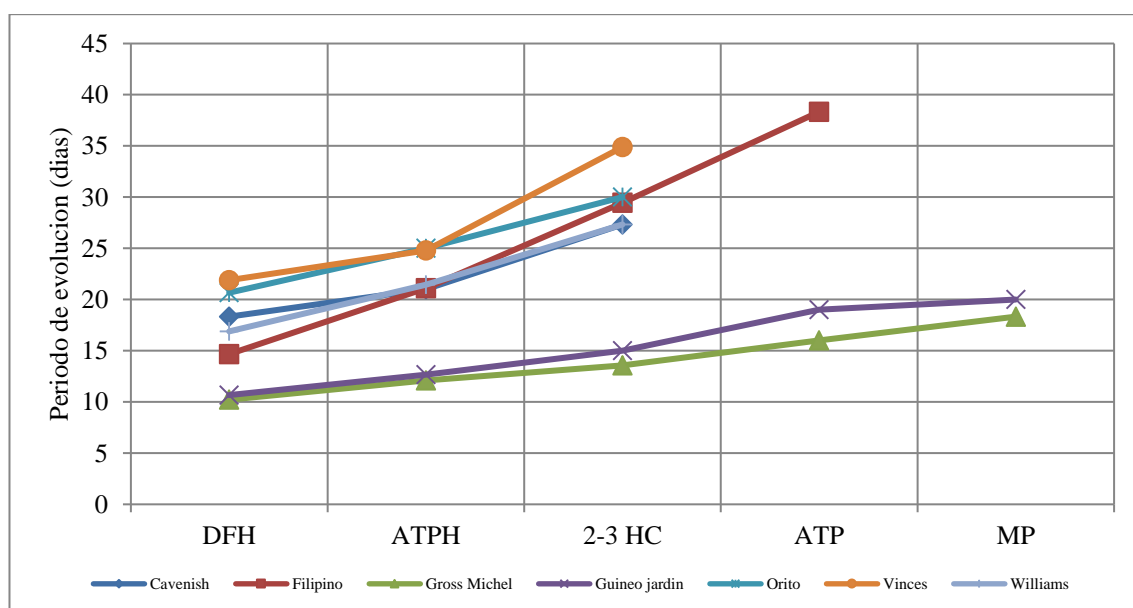


Figura 13 Evolución de la infección en días, por *R. Solanacearum* en cultivares del grupo banano DFH Días a la flacidez de hoja, ATPH Amarillamiento tenue de la primera hoja, 2-3HC 2-3 Hojas cloróticas, ATP Amarillamiento total de la planta, MP Muerte de planta.

La figura 14 muestra la respuesta de los cultivares (*Heliconia Wagneriana* y *H. latispata*) a la inoculación de la bacteria *R.solanacearum*.

Entre las dos variedades de *Heliconia* evaluadas en este estudio, también se presentaron los dos tipos de reacción: por un lado, la variedad *H. Wagneriana* presentó un período de incubación corto, (10 días) y se apreció una evolución sostenida creciente a medida que pasaban los días y a los 20 días desde la inoculación las plantas colapsaron por muerte celular. Por el contrario, *H. latispatha* presentó síntomas iniciales de reacción a la inoculación apenas a los 17 días, los que progresaron al segundo estadio con síntomas de amarillamiento en la primera hoja; de ahí en adelante no se observó la enfermedad.

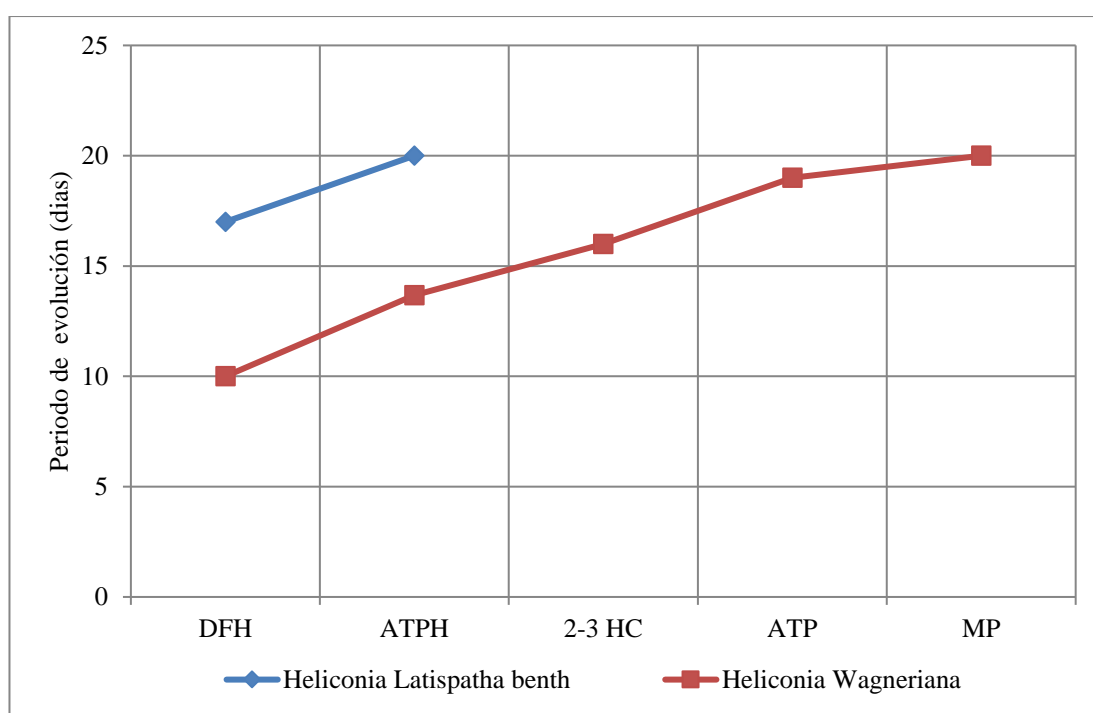


Figura 14 Evolución de la infección en días, causados por *R. Solanacearum* en cultivares de *Heliconia* spp DFH Días a la flacidez de hoja, ATPH Amarillamiento tenue de la primera hoja, 2-3HC 2-3 Hojas cloróticas, ATP Amarillamiento total de la planta, MP Muerte de planta.

En la figura 15 se resume la respuesta de los cultivares a la inoculación de *R. Solanacearum* en base a la cual se proponen los niveles de resistencia/susceptibilidad a tenerse en consideración para el manejo de la enfermedad. El lapso que demoró la bacteria en matar a la totalidad de las plantas de Gross Michel y Barraganete y *H. wagneriana* fue establecido como criterio para establecer los niveles de susceptibilidad de los cultivares evaluados. Estos tres cultivares se consideraron como muy susceptibles. Bajo

este criterio, en el grado opuesto de la escala tenemos a *H. latispatha* como resistente, pues apenas llegó a presentar el primer síntoma, indicando reacción positiva a la inoculación, pero sin que la enfermedad progrese. El cultivar Filipino se ubica más del lado de los susceptibles aunque se hace una distinción (Medianamente susceptible) considerando que ninguna planta se murió en el período del ensayo. Seguidamente se presenta un grupo de cultivares integrados por los dos maqueños, los dos dominicos del grupo de los platanos; el Vines, Orito, Cavendish y Williams cuya reacción a la enfermedad llegó solamente al nivel de presentar clorosis en la segunda y tercera hoja por lo que se ubican en la categoría de tolerantes o medianamente resistentes.

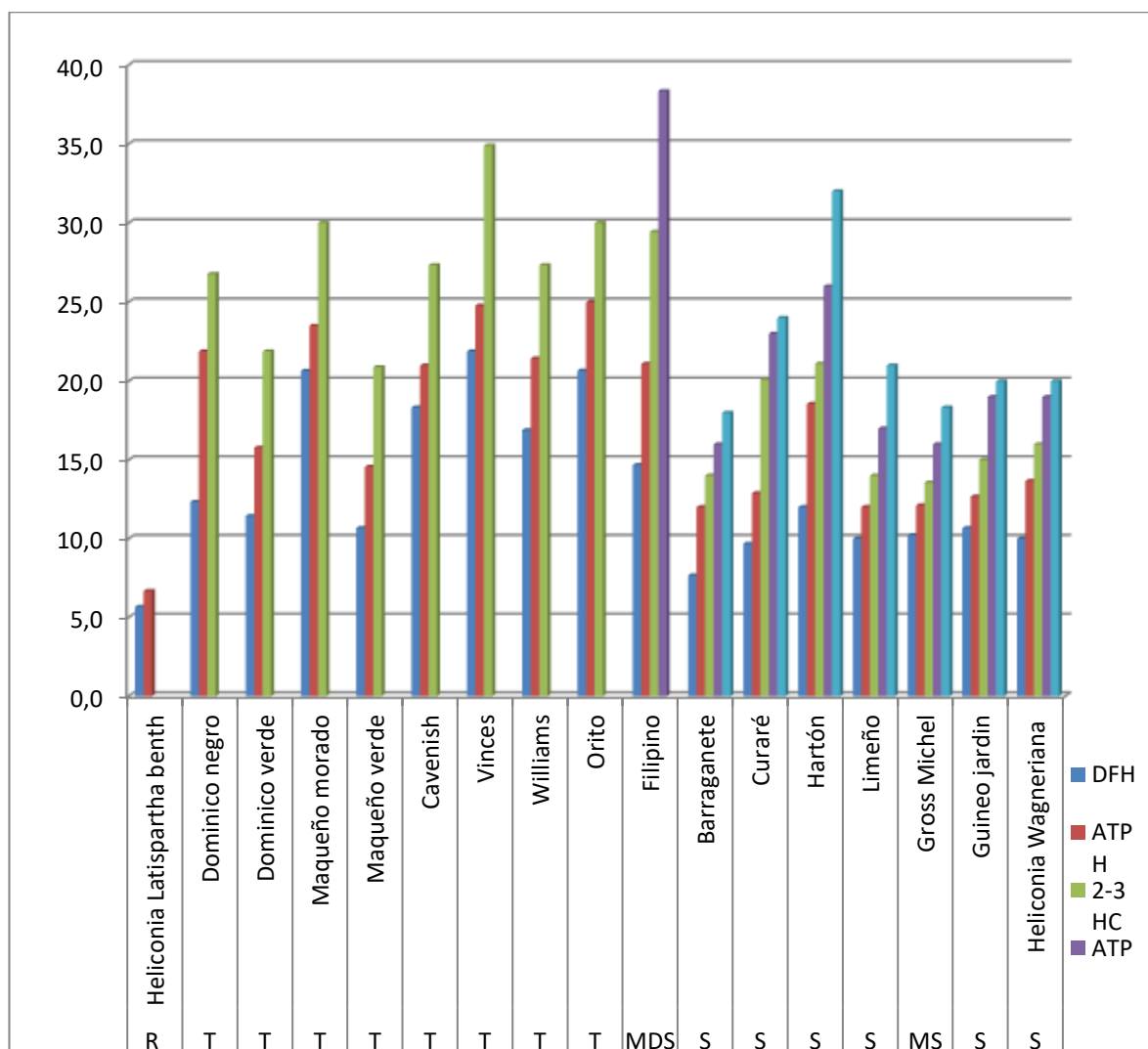


Figura 15 Caracterización para resistencia y evolución de la infección en días, de *R. Solanacearum* en cultivares de plátano, banano y *Heliconia* spp. (DFH= Días a la flacidez de hoja; ATPH = Amarillamiento tenue de la primera hoja, 2-3HC 2-3 Hojas cloróticas, (ATP) Amarillamiento total de la planta, MP Muerte de planta) (R = Resistente; T = tolerante; MDS; Medianamente susceptible S = Susceptible; MS = Muy susceptible).

4.2 DISCUSION

En las regiones donde se cultivan el banano, y plátano ambos se han convertido en monocultivos de un solo tipo de material y su producción es continua a lo largo del año. Consecuentemente, el riesgo de que un patógeno selectivo por su especificidad, altamente virulento y de fácil diseminación, es muy alto para el productor. La creciente introducción de *R. solanacearum*, causante de la enfermedad conocida como Moko a la zona platanera en El Carmen (Provincia de Manabí) enfrenta a toda la cadena productora de esta musácea a la grave amenaza de esta enfermedad y se deberán implementar todas las tácticas de control de que se disponga para reducir su impacto.

La bacteria fue fácilmente aislada de las muestras de tejido en plátano colectadas en la plantación donde fue reportada inicialmente. Su crecimiento *in vitro* así como las pruebas bioquímicas evaluadas relacionan a las cepas aisladas con el grupo de *R. solanacearum*, confirmando que estas pruebas son una herramienta simple efectiva para la selección y clasificación de este grupo de bacterias igual a lo presentado por (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008).

Las pruebas de patogenicidad indicaron que las cepas obtenidas presentaron capacidad patogénica en plantas de banano y plátano igual a los presentado por (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008), sus síntomas observados en las plantas inoculadas fueron los característicos de la infección por *R. solanacearum* en musáceas y coinciden con los de (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008). Los síntomas de flacidez, borde clorótico, amarillamiento de follaje y la muerte de las plantas fueron iguales en las plantas de plátano y banano evaluadas por (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008).

La bacteria generó los primeros síntomas en las plantas inoculadas caracterizados por la flacidez de las hojas, alrededor de los diez días después de realizar la inoculación para los cultivares más susceptibles de acuerdo a lo que afirma (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008). Síntomas más avanzados de la enfermedad como amarillamiento y clorosis de cuatro o más hojas se

presentaron entre los **12 y 25** días después de la inoculación y la muerte de las plantas se observó desde los **18** días a partir de la inoculación, variando aparentemente, en función de los diferentes tipos de musáceas igual a lo presentado en la investigación de (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008).

Posterior a las pruebas de patogenicidad el re aislamiento de la bacteria del tejido afectado en las plantas inoculadas fue efectivo y se realizó con éxito a partir de tejido de cormo y de pseudotallo con síntomas de la enfermedad coincidiendo con lo de (Obregón, Rodríguez, & Salazar, 2008).

Se procedió con el re aislamiento de la bacteria a partir del tejido enfermo las plantas de cada cultivar inoculado en medio semi selectivo **TZC** para el análisis de pruebas bioquímicas coincidiendo con lo indicado por (Denny, 2001). Muestras de las cepas se colocaron en agua destilada estéril en capsulas eppendorf y mantenidas en congelación.

Este proyecto de investigación ha logrado identificar varios cultivares de Musa con nivel de tolerancia a la bacteria del grupo plátano Dominico negro, Dominico verde, Maqueño morado y Maqueño, los cultivares Cavenish Orito, Vinces y Williams hechos que coinciden con (Silva, 2000) del grupo banano y el grupo *H. latisparta* entre los que se cuenta el cultivar Williams, que es la base de la actividad bananera del país. Por otro lado, deja en evidencia la alta susceptibilidad del plátano barraganete, lo que torna urgente tomar medidas que contengan el avance de esta devastadora enfermedad.

De los dos cultivares de Heliconia probados, queda claro que *H. wagneriana* es muy susceptible, corroborado lo encontrado mientras que el popular bijao, *H. latisparta* tiene alto nivel de tolerancia a la bacteria.

CAPITULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se determinó que el tipo de bacteria causante de la sintomatología del Moko en plataneras en la zona de El Carmen es *R. solanacearum* raza 2, similar a la que se encuentra presente en otros países productores de banano y plátano.
- Los cultivares evaluados presentaron todo un rango de respuesta a la inoculación: *H. latispata* puede considerarse resistente a la bacteria; Los cultivares Dominico negro, Dominico verde, Maqueño morado y Maqueño verde del grupo plátano, así como los cultivares Cavendish Orito, Vincés y Williams del grupo banano muestran tolerancia a la inoculación de la bacteria *R. solanacearum*.
- El cultivo Barraganete, junto con los cultivares Limeño, Curaré y Hartón son muy susceptibles a la virulencia de la bacteria.

5.2 Recomendaciones

- Continuar Investigando los cultivares que presentaron nivel de resistencia con el fin de establecer si la bacteria muere como resultado de la oposición de la planta a la infección, o estos se convierten en portadores asintomáticos.
- Realizar pruebas de resistencia con otras plantas de *Heliconia* (platanillos silvestres) y arvenses presentes en la zona problema, por sus implicaciones en el manejo y diseminación de la bacteria.
- Considerando la emergencia que plantea la presencia del Moko en el país con los resultados aquí obtenidos se puede sugerir las siguientes recomendaciones de manejo.
- Considerando la condición de monocultivo del plátano barraganete y la alta susceptibilidad establecida en este trabajo, se recomienda tomar medidas para evitar la propagación de una epidemia.

Se sugiere considerar (a) erradicación de plantas a lo largo de áreas foco y (b) siembra de cultivares con resistencia o cambio de cultivo.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1 LITERATURA CITADA

- A.E.B.E . (2013). La industria bananera Ecuatoriana, Asociación de exportadores de banano del Ecuador. Guayaquil.
- Agrios. (1995). Fitopatología. 2 ed. México, Limusa.
- Almeida., A. S., O. Cabral., J. T., & F.R.A., I. (2005). Avaliacao da solarizacao do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*.
- Alvarez, E. (2013). Centro internacional de agricultura tropical Estado de arte y opciones de manejo del moko. (V. E. Renjifo, Ed.) 11.
- Ambiente, D. N. (2002). Proceso de eliminación del Bromuro de metilo en Uruguay. Comisión Técnica Gubernamental de Ozono. Uruguay.
- Belalcázar. (1991). El cultivo del plátano en el trópico. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA ed.). (C.S.L, Ed.) Colombia, Cali: Feriva.
- Belalcázar. (1991). El cultivo del plátano en el trópico. Instituto Colombiano Agropecuario, C.S.L. Obtenido de http://www.researchgate.net/publication/266855079_Bacterial_wilt_disease_of_banana
- Belalcazar, C. G. (1967). Reconocimientos de hospedante a *Pseudomonas solanacearum* Fitotecnia Latinoamericana.
- Buddenhagen. (1962). Designation of races in *Pseudomonas solanacearum* ; Kelman, A; Sequeiro, L.
- CEICDA. (1996). Taller de fitopatología tropical. 1era Ed. México. COLPOS. 307-311. Centro de Enseñanza, Investigación y Capacitación para el Desarrollo Agropecuario.
- Delgado, M. E. (2014). First report of Moko disease caused by *Ralstonia solanacearum* race 2 in plantain (*Musa AAB*) in Ecuador. New Disease Reports 30, 23. [<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.030.023>].
- Denny TP. (2001). Gram- negativa bacteria. In Shaad, NW; Jones, JB; Chum, w. (eds). 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Hayward, AC., 151, 173. Estados Unidos.
- Denny, T. P. (2001). Gram negative bacteria. en: Schaad, N.W.; Jones, J.B.; Chun, W.(eds.). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society (APS). USA.

- Díaz, B. (1999). Manejo de *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith con enmiendas y microorganismos antagonistas en tomate Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica.
- El Agro. (2012). El banano en el Ecuador y el mundo. El Agro.
- FAO; CIAT. (2013). Estado del arte y opciones de manejo del Moko y la Sigatoka negra en América Latina y el Caribe. (V. E. Renjifo, Ed.) Recuperado el 3 de 7 de 2015, de <http://www.fao.org/3/a-as124s.pdf>
- González, P. M. (1987). Enfermedades del cultivo de banano. Programa de Comunicación Agrícola. Asociación Bananera Nacional. San José, Costa Rica.
- Hayward, A. (1991). Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*.
- ICA. (10 de 04 de 2008). Enfermedades limitantes de la producción de *heliconias* los departamentos de Caldas, Risaralda y Quindío. Recuperado el 7 de 3 de 2008, de <http://www.ica.gov.co/getattachment/aa2dac85-d693-4382-879f-95e5d7790c18/Publicacion-13.aspx>
- Jerez, E. (2007). El cultivo de las *heliconias*. Cultivos Tropicales, 28(1). (I. N. Cuba, Ed.) Cuba.
- Kelman. (1954). The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas* to colony appearance on a tetrazolium medium Phytopathology.
- Kelman, A. (1954). The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium (Vols. 44, 693- 695).
- LANREF. (2013). Ficha Técnica Moko del plátano *Ralstonia solanacearum* raza 2., Laboratorio Nacional de Referencia Epidemiológica Fitosanitaria. Recuperado el 2 de 5 de 2015, de www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento...
- León, M. (2007). Control de plagas y enfermedades en los cultivos, enfermedades en el tallo y pseudotallo. Primera. Grupo latinos editores Ltda.
- Lira, S. R. (2002). Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora (*Larrea tridentata* (D.C.) Coville). Sociedad mexicana de fitopatología. Revista Mexicana de Fitopatología.

- Loaiza, A. J. (2007). Estudio de la epidemiología del Moko del banano (*R.solanacearum*) en la finca toro pinto ii y servicios realizados en comunidades aledañas, tiquisate, escuintla, república de Guatemala. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_1529.pdf
- Macas, A. G. (2014). Cinco países concentran el 69,5% de la exportación de banano. Revista el Agro.
- Manzano, Q. A. (2013). "IDENTIFICACIÓN DE LOS CAUSALES DE ENFERMEDADES BACTERIANAS EN BANANO (*Musa AAA*) EN ZONAS PRODUCTORAS SELECCIONADAS DEL ECUADOR". GUAYAQUIL – ECUADOR.
- Martínez. (2004). Manejo de la enfermedad del Moko o ereke en el cultivo del platano para la Orinoquia colombiana. Corpoica regionaldos. <http://turipana.org.co/manejo,enfermedades,moko.Htm>. (F. A.G y Garcia, Ed.)
- Martínez, B. L. (2 de 4 de 2010). Sistema Nacional de Vigencia Epidemiologica Fitosanitaria SINAVEF. Obtenido de http://www.researchgate.net/publication/266855079_Bacterial_wilt_disease_of_banana
- Obregón, B. M., Rodríguez, G. P., & Salazar, Y. M. (2008). HOSPEDANTES DE *Ralstonia solanacearum* EN PLANTACIONES DE BANANO Y PLÁTANO EN COLOMBIA. scielo.
- Ono, K., & Akazawa, H. H. (1984). Ecological studies on the bacterial wilt of tobacco, caused by *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith. V. The movement of the pathogen in tobacco plants. Bulletin of the Okayama TobaccoExperiment Station.
- Ordosgoitti. (1987). Enfermedades de las musáceas en Venezuela. FONAIAP. Divulga.
- Orosco. (1997). Colonização de raízes de planta daninhas por *Ralstonia solanacearu in vitro* e e casa de ve etação. esis MSc.Brasilia , DF, Brasil, Universidad de Brasília.
- Orozco, M. E. (2004). Colonización de raíces de malezas por *Ralstonia solanacearum*, biovares 1, 2 y 3. In Métodos moleculares para diagnóstico de patógenos y mejoramiento para resistencia en vegetales. Guatemala.
- Otto, G. P. (1935). Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI),Universidad de Panama. Ciudad de la Luz.

- Pradhanang. (2003). Effects of plant essential oil on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *PlantDisease*, 87 (4): 423-427. (P. M., M. Momol, & S. Olson, Edits.)
- PRO ECUADOR . (2011). ANÁLISIS SECTORIAL DE BANANO. Recuperado el 2015, de <http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2011/09/PROEC-AS2011-BANANO.pdf>
- PRO ECUADOR. (2013). ANÁLISIS DEL SECTOR BANANO. Recuperado el 1 de 06 de 2015, de http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/09/PROEC_AS2013_BANANO.pdf
- SAGARPA. (6 de 2014). PROTOCOLO DE DIAGNOSTICO *RASALTONIA SOLANACEARUM* (SMITH, 1896) YABUUCHI ET AL 1995. Recuperado el 6 de 5 de 2015, de www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento...
- Salasar, C. (2006). www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/.../CAPITULO%201.doc. Dspace la espol.
- Schaad, N. W. (2013). Evaluation of an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* for biological control of bacterial wilt of potato. *American Potato Journal*. (H. y. Prescott, Ed.) <http://dx.doi.org/10.1007/BF02854051>.
- SIB, C. d. (2013). *Heliconia latispatha*. Recuperado el 9 de 2 de 2015, de <http://www.biodiversidad.co/fichas/656>
- Silva, d. (Jueves de Junio de 2000). Evaluación de *Musa* spp. Para resistencia a la enfermedad de Moko (*R.solanacearum* raza 2). (20, Ed.) INFOMUSA.
- Smith, T. E. (1993). Studies on the host range of *Bacterium solanacearum*.
- Soto, M. (1985). Banano cultivo y comercialización. San José, Costa Rica .
- Sotomayor , H. (5 de 3 de 2014). Programa Nacional de Banano, Plátano y otras Musáceas. (R. D. Antonio Bustamante González, Ed.) Conosca y evite la enfermedad del Moko de las Musáceas.
- Stover. (1972). Banana plantain and abaca disease Commonwealth Mycological Institute, R.H. Recuperado el 15 de 2 de 2, de http://www.researchgate.net/publication/266855079_Bacterial_wilt_disease_of_banana

- Stover, R. (1972). Banana plantain and abaca disease Commonwealth Mycological Institute. Surrey England.
- Thurston. (1989). Enfermedades de cultivos en el trópico. Galindo JJ, trad. Centro Agronómico. Costa Rica.
- Vélez, L. (2009). Ecuador Platano. Recuperado el 4 de 2 de 2015, de <http://ecuadorplatano.blogspot.com/2009/12/el-carmen-manabi-ecuador.html>
- Villegas. (2010). Enfermedades limitantes de la producción de *heliconias*. (U. Nelly, Patricia, R. J. Alarcón, & J. R. Galindo, Edits.) Recuperado el 8 de 2 de 2015, de <http://www.ica.gov.co/getattachment/aa2dac85-d693-4382-879f-95e5d7790c18/Publicacion-13.aspx>

CAPITULO VII

ANEXOS



Anexo:7.1 Aislamiento de *R.solanacearum* en medio de agar nutriente.



Anexo: 7.2 Síntomas de *R. solanacearum* en hijuelos.



Anexo:7.3 Establecimiento de los cultivares de musáceas Heliconias en e invernadero



Anexo:7.4 Síntomas de *R. solanacearum* en *H. Wagneriana*



Anexo:7.5 Síntoma amarillamiento total de la planta en la variedad Barraganete



Anexo:7.6 Síntoma flacidez de hojas

Anexo: 7.8 Síntoma Amarillamiento tenue de la primera hoja