



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

Proyecto de Investigación previo  
a la obtención del título de Ingeniero  
Agrónomo

**Título del proyecto de investigación:**

Capacidad de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en el cultivar  
de banano Gros Michel (Musa AAA).

**AUTOR:**

Figuroa Vasconez Wilfrido Gabriel

**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

Favio Herrera Eguez, PhD.

**QUEVEDO – LOS RÍOS- ECUADOR**

**2020**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **Wilfrido Gabriel Figueroa Vasquez**, declaro que la investigación aquí descrita 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 documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

f. \_\_\_\_\_

Wilfrido Gabriel Figueroa Vasquez

C.C. # 1205301698

## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

El suscrito, **DR. HERRERA EGUEZ FAVIO EDUARDO**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **WILFRIDO GABRIEL FIGUEROA VASCONEZ**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Capacidad de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raza 1 en el cultivar de banano Gros Michel (Musa AAA).**”, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....

Favio Eduardo Herrera Eguez

**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

# REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

URKUND	
Documento	<a href="#">Tesis Figueroa URKUND.doc</a> (D77228082)
Presentado	2020-07-27 12:15 (-05:00)
Presentado por	Favio (fherrerae@uteq.edu.ec)
Recibido	fherrerae.uteq@analysis.orkund.com
	8% de estas 24 páginas, se componen de texto presente en 10 fuentes.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA**  
**PROYECTO DE INVESTIGACION**

**Título:**

Capacidad de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 en el cultivar de banano Gros Michel (Musa AAA)

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Aprobado por:

---

Dr. Víctor Guamán Sarango

**Presidente del tribunal**

---

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

**Miembro del tribunal**

---

Dra. Marisol Rivero Herrada

**Miembro del tribunal**

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2020

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco en primer lugar a Dios porque ha permitido cumplir con todas mis metas planteadas. Agradezco a toda mi familia que ha sido el pilar fundamental para mantenerme firme y llegar hasta este punto. Por otro lado, a la UTEQ, la Facultad de Ciencias Agrarias y todos los docentes que de una manera u otra compartieron sus conocimientos y de esta forma haber podido lograr con este objetivo. También agradezco a mi Director del proyecto de investigación, Dr. Favio Herrera por su aporte a la realización de este proyecto.

Agradezco al INIAP, el Departamento de banano, plátano y otras musáceas, al Departamento de Protección vegetal, al Dr. Antonio Bustamante, al Dr. Danilo Vera y todos sus colaboradores. También agradezco a los compañeros tesisistas Elvis Bustamante, Jimmy Mendieta, Jacinto Pisco y Andy Ramón.

## **DEDICATORIA**

Dedico este presente proyecto de investigación a Dios y a mi familia que ha esta estado siempre allí apoyándome.

También se lo dedico a mi tía, mi tío, mi prima y a mi papa que han sido los pilares fundamentales para mi preparación académica, me han apoyado económica y moralmente para cumplir con mis metas.

**Gabriel Figueroa**

## RESUMEN

El cultivo de banano representa el rubro agrícola de mayor importancia del Ecuador. Hasta el año 1960 la variedad predominante de exportación fue Gros Michel, pero esta fue afectada por el patógeno "*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1" (FOCR1), siendo sustituida por variedades resistentes del subgrupo "Cavendish", sin embargo, estas variedades son susceptibles a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 (FOCR4T). Estos patógenos FOC se caracterizan por comenzar su infección en las raíces, luego obstruyen el xilema, provocando deshidratación y muerte de la planta. Esta investigación se realizó en el Instituto Nacional de investigación Agropecuaria Pichilingue (INIAP), ubicada en el cantón Quevedo, provincia de Los Ríos, y constó de dos fases. La primera fase fue llevada a cabo en invernadero donde se inocularon plántulas de Gros Michel con FOCR1 en distintas partes de la planta y suelo circundante (heridas tanto en raíces, cormo, pseudotallo, peciolo, directamente al suelo y peciolo). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 7 tratamientos y 10 repeticiones. Los parámetros evaluados fueron; nivel de daño (severidad), incidencia, periodo de incubación, número de hojas y altura de planta. Las pruebas estadísticas se realizaron mediante el análisis de varianza (ADEVA) y un análisis de múltiple comparación Tukey al 5%. Los resultados mostraron que el tratamiento más efectivo fue el inoculado mediante una herida en el pseudotallo, presentando una severidad de 1.8, incidencia 100% y un periodo de incubación de 42 días. En altura y número de hojas no se observaron diferencias frente a los testigos, con promedios que van desde 10.4 a 5.13 cm de altura y 3 hasta 1.8 hojas respectivamente. La segunda fase de la investigación se realizó en una plantación establecida con la variedad Gros Michel en un área de 10 400 m<sup>2</sup>, un lote fue utilizado para aplicar el protocolo de OIRSA para la contención de *Fusarium*, y otro lote fue utilizado como testigo. Se realizó una comparación de ambos lotes, y se verificó la eficacia del protocolo de OIRSA para FOCR1, al no registrar la aparición de plantas con síntomas de la enfermedad durante el periodo de evaluación.

**Palabras claves:** Evolución, severidad, contención, Mal de Panamá

## ABSTRACT

Banana cultivation represents the most important agricultural item in Ecuador. Until 1960, the predominant export variety was Gros Michel, but this was affected by the pathogen "*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 "(FOCR1), being replaced by resistant varieties from the " Cavendish " subgroup, however, these varieties are susceptible to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (FOCR4T). These FOC pathogens are characterized by beginning their infection in the roots, then obstructs the xylem, causing dehydration and death of the plant. This research was carried out at the National Institute for Agricultural Research Pichilingue (INIAP), located in the Quevedo canton, Los Ríos province, and consisted of two phases. The first phase was carried out in a greenhouse where Gros Michel seedlings were inoculated with FOCR1 in different parts of the plant and surrounding soil (wounds both in roots, corm, pseudostem, petiole, directly to the ground and petiole). A Completely Random Design (DCA) with 7 treatments and 10 repetitions was used. The evaluated parameters were; damage level (severity), incidence, incubation period, number of leaves and plant height. Statistical tests were performed using the analysis of variance (ADEVA) and a 5% Tukey multiple comparison analysis. The results showed that the most effective treatment was inoculated through a wound in the pseudostem, presenting a severity of 1.8, incidence 100% and an incubation period of 42 days. In height and number of leaves, no differences were observed compared to the controls, with averages ranging from 10.4 to 5.13 cm in height and 3 to 1.8 leaves respectively. The second phase of the research was carried out in a plantation established with the Gros Michel variety in an area of 10,400 m<sup>2</sup>, one lot was used to apply the OIRSA protocol for the containment of *Fusarium*, and another lot was used as a control. A comparison of both batches was made, and the efficacy of the OIRSA protocol for FOCR1 was verified, by not registering the appearance of plants with symptoms of the disease during the evaluation period.

**Keywords:** Evolution, severity, containment, Panama disease.

## ÍNDICE

Declaración de autoría y cesión de derechos .....	ii
Certificación de culminación del proyecto de investigación.....	iii
Reporte de la herramienta de prevención de coincidencia y/o plagio académico.....	iv
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
Código dublin.....	xvi
Introducción.....	1

### CAPITULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.1.2. Formulación del problema.....	4
1.1.3. Sistematización del problema.....	4
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo General.....	6
1.2.2. Específicos.....	6
1.3. Justificación.....	7

### CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco teórico.....	9
2.1.1. Cultivo de banano en el Ecuador.....	9
2.1.2. Importancia del banano en el Ecuador.....	9
2.2. Principales variedades de banano de exportación de Ecuador.....	9
2.2.1. Gros Michel ( <i>Musa acuminata</i> ).....	9
2.2.2. Cavendish ( <i>Musa acuminata</i> ).....	10
2.3. Distribución del banano en el Ecuador.....	10
2.4. Descripción de Marchitez por <i>Fusarium</i> .....	10
2.4.1. Agente Causal.....	10
2.4.2. Taxonomía de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	11
2.4.3. Aspectos fisiológicos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	11
2.5. Características estructurales de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	12
2.6. Ciclo de vida de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	12

2.7.	Medios de diseminación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	13
2.8.	Síntomas de la enfermedad .....	14
2.8.1.	Síntomas externos .....	14
2.8.2.	Síntomas internos.....	15
2.9.	Distribución de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 y raza 4 a nivel mundial ....	16
2.10.	Métodos de detección de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	16
2.10.1.	Selección de especies, lugares de monitoreo y prospección .....	17
2.10.2.	Selección del sitio de detección .....	17
2.10.3.	Protocolo de toma, preparación y envío de muestras de FOC .....	18
2.11.	Detección de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	19
2.11.1.	Medidas de control, erradicación y contención de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	19

### **CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1.	Localización del experimento.....	24
3.2.	Métodos de investigación .....	24
3.2.1.	Método de observación.....	24
3.2.2.	Método deductivo .....	25
3.2.3.	Método experimental .....	25
3.3.	Fuentes de recopilación de información .....	26
3.4.	Metodología experimental (fase 1).....	26
3.4.1.	Material vegetal .....	26
3.4.2.	Diseño experimental . .....	27
3.4.3.	Tratamientos .....	27
3.4.4.	Análisis estadístico .....	28
3.5.	Manejo del experimento (fase 1) .....	29
3.5.1.	Toma de muestras de plantas afectadas por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	29
3.5.2.	Procesamiento de las muestras en el laboratorio .....	29
3.5.3.	Purificación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1.....	30
3.5.4.	Cultivo y multiplicación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 .....	30
3.5.5.	Preparación del inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 .....	30
3.5.6.	Inoculación de las plantas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 .....	31
3.5.7.	Registro de muestras finalizada la evaluación.....	31
3.5.7.1.	Toma y procesamiento de muestras en plántulas de bananos afectadas por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 .....	31
3.6.	Metodología experimental (fase 2).....	32

3.6.1. Material vegetal .....	32
3.6.2. Método de investigación.....	32
3.6.3. Manejo del experimento .....	33
3.6.3.1. Delimitación del área .....	33
3.6.3.2. Puestos de desinfección, definición de ruta de entrada y salida.....	33
3.6.3.3. Erradicación y contención de <i>Fusarium</i> .....	33
3.7. Variables a evaluar (fase 1) .....	34
3.7.1. Evaluación de severidad, incidencia y periodo de incubación de la enfermedad .....	34
3.8.1. Técnica de manejo de la enfermedad.....	36
3.9. Materiales y equipos .....	36

#### **CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. Resultados (fase 1).....	39
4.1.1. Severidad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> raza 1 en plántulas de Gros Michel.....	39
4.1.2. Altura de planta .....	39
4.1.2.1. Número de hojas .....	40
4.1.2.2. Periodo de incubación e incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> raza1 .....	41
4.2. Resultados (fase 2).....	43
4.2.1. Técnica de manejo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cupense</i> raza 1 a partir de un foco infeccioso.....	43
4.3. Discusión .....	44

#### **CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1. Conclusiones .....	47
5.2. Recomendaciones.....	48

#### **CAPITULO VI BIBLIOGRAFÍA**

6.1. Bibliografía .....	50
-------------------------	----

#### **CAPITULO VII ANEXOS**

7.1. Anexos .....	54
-------------------	----

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Áreas de distribución de las zonas bananeras del Ecuador .....	10
Tabla 2. Taxonomía de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	11
Tabla 3. Superficie del sitio de detección que se encuentre atacado por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en banano. ....	17
Tabla 4. Número de inyecciones y volumen total del herbicida (glifosato) a aplicar en las plantas infectadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	22
Tabla 5. Datos edafoclimáticos del área (Quevedo), del presente.....	24
Tabla 6. Métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	27
Tabla 7. Esquema del análisis de varianza del experimento. ....	29
Tabla 8. Escala para la evaluación de severidad provocada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 .....	34
Tabla 9. Equipos y materiales usados en la fase de laboratorio .....	36
Tabla 10. Equipos y materiales usados en la fase de campo .....	37
Tabla 11. Índice de severidad causada por FOCR1 en plántulas de banano Gros Michel..	39
Tabla 12. Promedios de altura (cm), tomadas en plántulas de banano Gros Michel y aplicada la prueba de Tukey.....	40
Tabla 13. Promedios del número de hojas tomadas en la semana 1 y 8 de evaluación.....	40
Tabla 14. Registro de presencia y avance de infección de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 en muestras tomadas en plántulas de banano Gros Michel después de la evaluación de severidad.....	43

## ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1.- Distintas formas estructurales de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> . A) Microconidios, B) Macroconidios, C) Clamidosporas (modificado). ....	12
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> (modificado por el autor).....	13
Figura 3. Vías de diseminación de la enfermedad “Marchitez por <i>Fusarium</i> ” provocada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>cubense</i> .....	14
Figura 4. Síntomas de Amarillamiento (A-B) y malformaciones (C) de las hojas de banano tras la infección con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	14
Figura 5. Abultamientos y aperturas en el pseudotallo del banano causado por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .....	15
Figura 6. Decoloración de tejidos vasculares del xilema causados por el ataque de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en banano .....	15
Figura 7. Países afectados por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 y 4 en banano (modificado por el autor). ....	16
Figura 8. Recorrido de dos diagonales en el sitio de detección de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> en banano .....	18
Figura 9. Protocolo de contención propuesto por OIRSA para <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> , especificando las zonas para la detección, erradicación y contención de la enfermedad. ....	22
Figura 10. Mapeo del lote y delimitación de área donde se aplicó el Plan de Contención para <i>Fusarium</i> frente al lote sin tratar (Lote comparativo). Zona A: color rojo, zona B: color amarillo, y zona C: color verde en el lote 2.....	26
Figura 11. Promedios en días, sobre el periodo de incubación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1, evaluados con diferentes métodos de inoculación en plántulas de banano Gros Michel. ....	41
Figura 12. Promedios del porcentaje de incidencia de la enfermedad “Marchitez por <i>Fusarium</i> ” provocada por FO CR1 en plántulas de banano Gros Michel, evaluados con diferentes métodos de inoculación.....	42

## TABLA DE ANEXOS

Anexo 1. Evaluación y marcación de las de plantas con síntomas de FOCCR1 en la plantación establecida de Gros Michel en INIAP.....	54
Anexo 2. Sintomatología típica de FOCCR1 en banano presentada en el ensayo evaluado: A y B, síntomas externos. C y D, síntomas internos.....	54
Anexo 3. A, erradicación de plantas de la zona A. B, entrada principal a la plantación de Gros Michel. C, puesto de desinfección para lotes varios. ....	55
Anexo 4. Zona roja del Plan de Contención para <i>Fusarium</i> en 3 y 10 meses respectivamente después de su aplicación. ....	55
Anexo 5. Proceso de preparación del inóculo de <i>Fusarium oxysporum f. sp. cubense</i> raza 1. A, materiales. B, obtención del micelio. C, Conteo en el hemacitómetro. D, solución madre. ....	56
Anexo 6. A, Invernadero. B, establecimiento. C, Etiquetado del ensayo de inoculación de FOCCR1. ....	56
Anexo 7. Inoculación de FOCCR1 en plántulas de Gros Michel (Concentración de $1 \times 10^6$ ). A, directa en suelo. B, en suelo más heridas en raíces. C, herida en cormo. D, herida en pseudotallo. E, herida en peciolo. F, directa en peciolo.....	57

## CÓDIGO DUBLIN

Título:	Capacidad de infección de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> raza 1 en el cultivar de banano Gros Michel (Musa AAA).
Autor:	Figueroa Vasconez Wilfrido Gabriel
Palabras claves:	Evolución, severidad, contención, Mal de Panamá.
Fecha de publicación:	
Editorial:	Quevedo UTEQ 2019
Resumen:	<p>Resumen: El cultivo de banano representa el rubro agrícola de mayor importancia del Ecuador. Hasta el año 1960 la variedad predominante de exportación fue Gros Michel, pero esta fue afectada por el patógeno “<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1” (FOCR1), siendo sustituida por variedades resistentes del subgrupo “Cavendish”, sin embargo, estas variedades son susceptibles a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 4 (FOCR4T). Estos patógenos FOC se caracterizan por comenzar su infección en las raíces, luego obstruyen el xilema, provocando deshidratación y muerte de la planta. Esta investigación se realizó en el Instituto Nacional de investigación Agropecuaria Pichilingue (INIAP), ubicada en el cantón Quevedo, provincia de Los Ríos, y constó de dos fases. La primera fase fue llevada a cabo en invernadero donde se inocularon plántulas de Gros Michel con FOCR1 en distintas partes de la planta y suelo circundante (heridas tanto en raíces, cormo, pseudotallo, peciolo, directamente al suelo y peciolo). Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 7 tratamientos y 10 repeticiones. Los parámetros evaluados fueron; nivel de daño (severidad), incidencia, periodo de incubación, número de hojas y altura de planta. Las pruebas estadísticas se realizaron mediante el análisis de varianza (ADEVA) y un análisis de múltiple comparación Tukey al 5%. Los resultados mostraron que el tratamiento más efectivo fue el inoculado mediante una</p>

	<p>herida en el pseudotallo, presentando una severidad de 1.8, incidencia 100% y un periodo de incubación de 42 días. En altura y número de hojas no se observaron diferencias frente a los testigos, con promedios que van desde 10.4 a 5.13 cm de altura y 3 hasta 1.8 hojas respectivamente. La segunda fase de la investigación se realizó en una plantación establecida con la variedad Gros Michel en un área de 10 400 m<sup>2</sup>, un lote fue utilizado para aplicar el protocolo de OIRSA para la contención de <i>Fusarium</i>, y otro lote fue utilizado como testigo. Se realizó una comparación de ambos lotes, y se verificó la eficacia del protocolo de OIRSA para FOGR1, al no registrar la aparición de plantas con síntomas de la enfermedad durante el periodo de evaluación.</p>
Abstract:	
Descripción:	
URI:	

## INTRODUCCIÓN.

El cultivo de banano de la variedad Gros Michel fue de gran importancia para el Ecuador hasta la década de los 60. En la actualidad esta variedad no se produce a nivel comercial por presentar susceptibilidad a la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*” causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1(FOCR1) (Gonzabay, 2013). FOCR1 fue inicialmente reconocido en Australia en 1874 (De Waele *et al.*,2002). SENASICA (2016), aclara que en el continente Americano fue reportado por primera vez en Panamá en el año 1940, y causó grandes afecciones a más de 50000 ha de cultivo, ocasionando pérdidas de millones de dólares.

En el Ecuador FOCR1 causó una gran epidemia que impactó de forma negativa la industria bananera de exportación y provocó la desaparición de la mayoría de las plantaciones comerciales con la variedad Gros Michel entre los años de 1950 y 1960 (OIRSA, 2017). A pesar de los esfuerzos para mantener la variedad por excelencia de exportación no fue posible encontrar un método de combate químico ni cultural para la enfermedad debido a la agresividad y larga persistencia del hongo en el suelo, razón por la cual esta variedad tuvo que ser sustituida por variedades resistentes como las del subgrupo Cavendish (AAA).

Actualmente existen cuatro razas de *F. oxysporum* pero es *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 (FOCR4T), la que está amenazando en la actualidad la producción de banano, caracterizándose por infectar a todas las clases de bananos incluidos los Cavendish. (SENASICA, 2016). Dita (2014), menciona que esta última raza de *Fusarium* se comporta y presenta sintomatología similar a los de FOCR1. Laines (2018), la infección comienza en las raíces e invade el sistema vascular de la planta, impidiendo su normal alimentación, ocasionando una progresiva deshidratación y provocando la aparición de síntomas como; amarillamiento y marchitamiento de las hojas, y muerte de la planta.

La presente investigación constó de dos fases experimentales para un mejor entendimiento de su comportamiento y estrategia de manejo de la enfermedad ocasionada por FOCR1, la misma que es de gran importancia para los agricultores destinados a este rubro agrícola. La primera fase del proyecto de investigación se realizó con el objetivo de estudiar al patógeno FOCR1, evaluando sus vías de infección mediante el proceso de inoculación en plántulas de banano de ocho semanas de edad

bajo condiciones controladas. Las inoculaciones se realizaron en diferentes partes de la planta y del suelo circundante, de esta manera se determinó cual fue el método infectivo más efectivo del patógeno. La siguiente fase del proyecto se realizó en una plantación de banano de la variedad Gros Michel con un área de 10 400 m<sup>2</sup>, dividido en lotes. En uno de los lotes de banano se efectuó la aplicación del protocolo de contención para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* propuesto por OIRSA en el año 2017, el mismo que fue comparado con un lote testigo (no se aplicó el protocolo), y al final de la evaluación se determinó la efectividad del plan de contención para FOCR1.

**CAPITULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de investigación**

### **1.1.1. Planteamiento del problema**

La enfermedad “Marchitez por *Fusarium*”, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, es considerada una de las enfermedades más destructivas de las plantaciones bananeras. Este patógeno ha coevolucionado a la par con las musáceas, por lo tanto una epidemia de estas características causaría un impacto negativo en la industria bananera del país. Las consecuencias serían devastadoras debido a que la producción bananera es un sector clave en la economía ecuatoriana, ya que genera alrededor de dos millones de empleos directos, además las exportaciones de banano ecuatoriano representan el 2% del PIB general y aproximadamente el 35% del PIB agrícola del país. El banano representa el segundo rubro más exportado después del petróleo, teniendo en cuenta que hasta el año 2018 se exportó más de 300 millones de cajas de banano, por lo tanto una epidemia de estas características puede dar origen a una desestabilización tanto económica como productiva para el país, y por ende pondría en riesgo la seguridad alimentaria del Ecuador. Esta investigación se realizó con la finalidad de generar conocimientos a través del estudio de FOCR1, de acuerdo a su capacidad de infección y estrategias de manejo de la patógeno dentro de las plantaciones, y que de esta manera estos conocimientos generados puedan ser aplicados ante la presencia de la enfermedad en las plantaciones bananeras del país.

### **1.1.2. Formulación del problema**

La agresividad de este patógeno y su persistencia en el suelo la convierten en una enfermedad muy difícil de controlar. Lo que se busca con esta investigación es evaluar a FOCR1 en el cultivar de Gros Michel en cuanto a su comportamiento y estrategia de control, ya que en la actualidad es la enfermedad tiene bajo amenaza a la explotación bananera.

### **1.1.3. Sistematización del problema**

De acuerdo al problema antes descrito se plantean las siguientes interrogantes:

De acuerdo al área de infección ¿cuál de estas presentan síntomas tempranos?

¿Es el plan de contención propuesto por OIRSA efectivo o no para el manejo de FOCR1 bajo nuestras condiciones locales?

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo General**

Evaluar la capacidad de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en el cultivar de banano Gros Michel (Musa AAA).

### **1.2.2. Específicos**

- Determinar la vía de transmisión de FOGR1 de acuerdo a diferentes métodos de inoculación, bajo condiciones controladas.
- Registrar la presencia y evolución de la infección causada por FOGR1 en plántulas de banano Gros Michel inoculadas previamente.
- Aplicar el protocolo de OIRSA para la contención de FOGR1 a partir de un foco infeccioso.

### 1.3. JUSTIFICACIÓN

La producción bananera es un elemento muy importante para la economía del país y las familias ecuatorianas. Pero el cultivo de banano se ha visto afectado por muchos factores, entre ellos las enfermedades. FOC es el causante de la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*”, misma que actualmente tiene bajo amenaza al sector bananero del país. Actualmente existen cuatro razas de *Fusarium* capaces de causar enfermedades en las musáceas, pero todas estas razas se caracterizan por presentar sintomatologías similares. La enfermedad inicia con el amarillamiento de las hojas más viejas, las mismas que se acaman formando una falda alrededor del pseudotallo, luego el amarillamiento avanza a las hojas más jóvenes. Esta infección provoca una deshidratación de la planta debido a un taponamiento de los haces vasculares del xilema dando como resultado final la muerte total del hospedante. Este patógeno una vez establecido en una plantación, se propaga por diversos factores ya sean mecánicos, biológicos o climáticos. FOC puede permanecer viable en el suelo durante décadas gracias a sus estructuras llamadas clamidosporas que son las que le dan la resistencia a este patógeno.

El presente proyecto de investigación es de gran importancia para los productores bananeros del país, ya que aporta con conocimientos sobre el comportamiento del hongo que causa la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*” provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en el cultivar de Gros Michel, e identifica cuál es la vía más rápida de infección de la enfermedad. Además, aporta con conocimientos sobre el manejo del patógeno FOCR1 una vez ocurrida la infección en una plantación de banano, para evitar la diseminación de la enfermedad.

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Marco teórico**

### **2.1.1. Cultivo de banano en el Ecuador**

El banano es el primer producto agro-exportable del Ecuador y se encuentra entre los cuatro principales productos cultivados a nivel mundial, después del arroz, trigo y maíz. El Ecuador goza de condiciones climáticas excepcionales, que junto a la riqueza de su suelo y la calidad de su fruta han permitido que el país se convierta en uno de los principales exportadores de este rubro agrícola (Barzola, 2015).

### **2.1.2. Importancia del banano en el Ecuador**

La importancia del banano en el Ecuador radica en su exportación, la cual representa para el país un 2% del PIB general y alrededor del 35% del PIB agrícola. Además, su importancia también radica en la generación de empleos, ya que provee alrededor de 2.5 millones de fuentes de trabajo, representando un 6% de la población total (Ministerio de Comercio Exterior, 2017). Por otro lado, se afirma que tres de cada diez bananos exportados son provenientes del Ecuador, eso lo convierte en el líder exportador de acuerdo a las estadísticas del año 2018 donde nuestro país exportó alrededor de 344.8 millones de cajas de banano, lo que significó un 6% más que el año anterior (Vistazo, 2019).

## **2.2. Principales variedades de banano de exportación de Ecuador.**

### **2.2.1. Gros Michel (*Musa acuminata*)**

El cultivo de banano Gros Michel es un clon originario de Malasia, y se extendió por todos los trópicos americanos, convirtiéndose en una fruta de gran importancia por sus características de sabor y textura (Caballero, 2011).

Este cultivar fue uno de los principales cultivos de exportación hasta el año 1950, en donde la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*”, acabó con grandes extensiones de este cultivo. Gros Michel fue sustituida por un grupo varietal resistente, Cavendish, que representa actualmente la variedad básica del comercio mundial (Dita, 2014).

### 2.2.2. Cavendish (*Musa acuminata*)

Es una variedad de un tamaño mucho menor que el Gros Michel, menos robusta y más susceptible al estropeo, por lo que requiere de cuidados especiales para su transporte y exportación (FAO, 2016). Los cultivares de este subgrupo son susceptibles a la sequía, a la enfermedad Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*), y actualmente se encuentra bajo amenaza por FOCR4T que afecta a todos los cultivares en general (Caballero, 2011). Esta variedad se encuentra distribuida en toda la zona bananera del país (FAO, 2016).

## 2.3. Distribución del banano en el Ecuador

Según Agrocalidad (2018), en nuestro país el cultivo del banano se encuentra distribuido en todo el Litoral Ecuatoriano, tal y como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Áreas de distribución de las zonas bananeras del Ecuador

Distribución	Lugares
Zona Norte	Provincia de Esmeraldas y Pichincha
Zona Central	Quevedo, La Maná, y Velasco Ibarra.
Zona Subcentral	Pueblo Viejo, Urdaneta, Ventanas y Balzar
Zona Oriental-Milagro	De Naranjito, Milagro hasta Yaguachi
Zona Oriental	Cantón El Triunfo, La Troncal y Santa Ana.
Zona Naranjal	Naranjal, Balao, Machala Ubicada en la provincia de El Oro y comprende los Cantones: Santa Rosa, Arenillas, Guabo, Machala y Pasaje.
Zona Peninsular	Santa Elena, parroquias Cerecita y Zapotal

Fuente: Agrocalidad, 2018.

## 2.4. Descripción de Marchitez por *Fusarium*

### 2.4.1. Agente Causal

La Marchitez por *Fusarium* en banano es causada por un hongo denominado *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), considerándose uno de los patógenos más agresivos y

destruictivos de este cultivo. FOC es procedente del Sureste de Asia y ha coevolucionado a la par con las musáceas (Caballero, 2011). La epidemia ha tenido efectos devastadores sobre la economía de muchos países del Caribe, provocando en su efecto ser la primera causa del cambio del uso de tierra de los productores bananeros (SENASICA, 2016).

#### **2.4.2. Taxonomía de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

La clasificación taxonómica de FOC se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Taxonomía de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Taxonomía	
Reino:	Fungi
Filum:	Ascomycota
Clase:	Ascomycetes
Subclase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Nectriaceae
Género:	<i>Fusarium</i>
Especie:	<i>Oxysporum</i>

Fuente: OIRSA, 2017.

#### **2.4.3. Aspectos fisiológicos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 fue reconocido por primera vez en 1874 en Australia (De Waele *et al.*, 2002). En América fue reportada en 1940 en Panamá, causando una gran epidemia en todo el continente, de tal forma que hasta la década de los 60 terminó prácticamente con toda la explotación bananera en ese entonces del reconocido Gros Michel, el mismo que tuvo que ser sustituida por el cultivar Cavendish (SENASICA, 2016). Este patógeno se caracteriza por sus largos periodos de supervivencia en el suelo y residuos vegetales. La esporulación de FOC se da más en suelos de textura fina (francos a franco-arcillosos) por las características que este posee, al poder retener humedad lo que la hace propicia para su reproducción y supervivencia (Caballero, 2011).

## 2.5. Características estructurales de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*

Es un hongo saprobio que vive en el suelo, y se caracteriza por producir distintas formas estructurales. No se pueden diferenciar por su morfología, pero son fisiológicamente diferentes por su capacidad de ocasionar enfermedades en plantas hospedantes específicas (Torres, 2000). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* es un hongo anamorfo del cual no se conoce su fase sexual (telomorfo) (SENASICA, 2016). Sus cepas no pueden distinguirse morfológicamente, y produce estructuras como:

**Microconidios.**- Presentan una forma ovalada y están constituidos por una sola célula, tienen un tamaño de 5 –12  $\mu\text{m}$  de largo, y 2.5 –3.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Román, 2012). Estas estructuras se forman sobre los conidióforos, y predominan en los vasos xilemáticos de las plantas afectadas por FOC (Fig. 1A) (Azkolain, 2016).

**Macroconidios.**- Son ligeramente curvados y relativamente delgados, se presentan de 4 a 8 células con un tamaño de 27 a 46  $\mu\text{m}$  de largo por 3.0 a 4.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Fig. 1B) (Román, 2012).

**Clamidosporas.**- Son generalmente globosas y se forman individualmente o en pares, estas esporas constituyen estructuras de resistencia del hongo, ya que poseen paredes celulares gruesas y su producción es abundante sobre los tejidos infectados en estados avanzados de la enfermedad (Fig. 1C) (SENASICA, 2016).

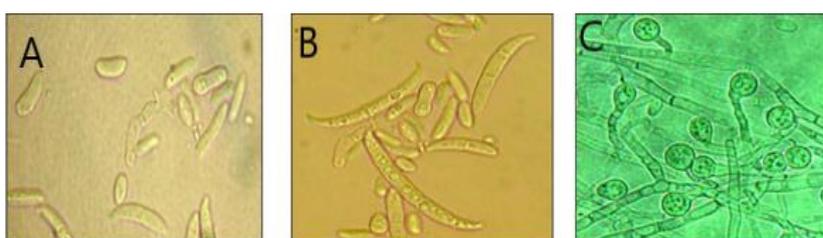


Figura 1.- Distintas formas estructurales de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*. A) Microconidios, B) Macroconidios, C) Clamidosporas (modificado).

Fuente: Dita, 2014

## 2.6. Ciclo de vida de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense*

El ciclo normal de este hongo comienza en el suelo, donde las esporas o clamidosporas son activadas por los exudados producidos por las raíces (Estupiñan & Ossa, 2007).

Una vez activados penetran las raíces terciarias o las principales (si se encuentran expuestas). Posteriormente ingresa al sistema vascular de la planta, específicamente en el pseudotallo, invadiendo los vasos del xilema, produciendo conidios los mismos que son llevados por los haces vasculares provocando su obstrucción, y como consecuencia reduce el paso de agua y nutrientes (SENASICA, 2016). Luego de esto afecta el funcionamiento de la planta, y en estado avanzado forma microconidias y clamidosporas, las mismas que al perecer completamente la planta, retornan al suelo entrando en dormancia durante muchos años (Fig. 2) (Caballero, 2011).

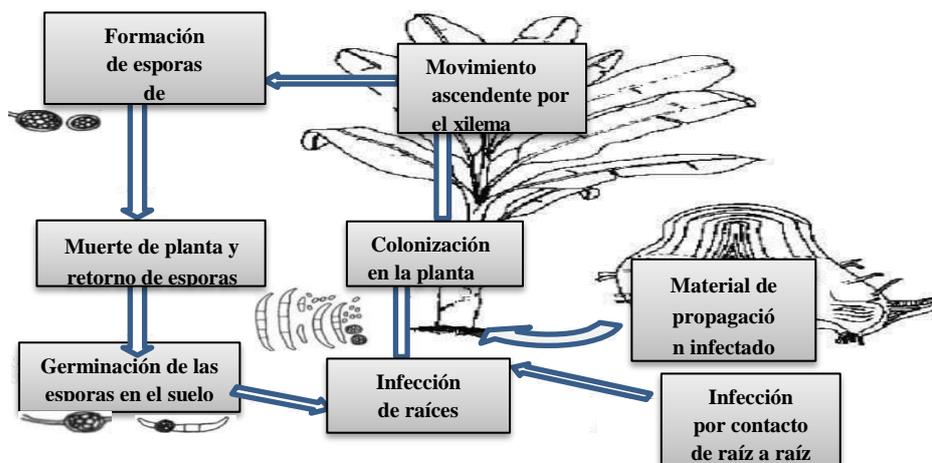


Figura 2. Ciclo de vida de *Fusarium Oxysporum* f. sp. *cubense* (modificado por el autor)  
Fuente: Caballero, 2011

## 2.7. Medios de diseminación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

El principal medio de dispersión de FOC es a través de material de propagación y residuos de bananos infectados por este patógeno, por otro lado también se puede diseminar por herramientas manuales de las labores diarias, suelo contaminado, riego, agua de escorrentía y por vectores biológicos (Lara, 2009).

Dentro de una zona ya infectada por el hongo, este puede moverse a distancias cortas (Román, 2012). Según Caballero (2011), las plantas provenientes de cultivos de tejidos son más susceptibles al ataque del patógeno que de plantas de cormos o hijuelos. Por otro lado este patógeno es capaz de infectar raíces de malezas ajenas al cultivo sin la aparición de síntomas y de esta manera poder sobrevivir durante largos periodos de tiempo (Fig. 3) (Agrocalidad, 2016).

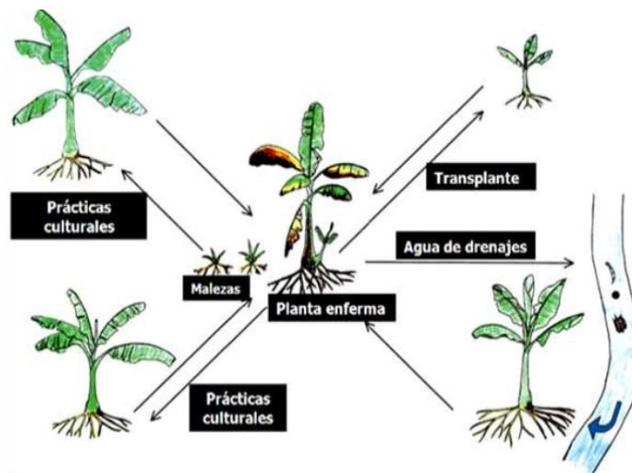


Figura 3. Vías de diseminación de la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*” provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Fuente: Pérez, 2014

## 2.8. Síntomas de la enfermedad

### 2.8.1. Síntomas externos

#### Amarillamiento en las hojas

Los primeros síntomas comienzan con un amarillamiento de las hojas más viejas, empezando en el margen foliar, continuando hacia la nervadura central hasta que finalmente la hoja queda de color café y completamente seca (Fig. 4A-B) (Lara, 2009). Los síntomas paulatinamente aparecen en las hojas más jóvenes y las hojas más nuevas se presentan más cortas, angostas y a veces con clorosis leve (Fig. 4C) (Sánchez *et al.*, 2017).



Figura 4. Síntomas de Amarillamiento (A-B) y malformaciones (C) de las hojas de banano tras la infección con *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Fuente: Sánchez *et al.*, 2017

## **Síntomas provocados en el pseudotallo por *Fusarium oxysporum f. sp. cubense***

La infección de este patógeno puede conllevar al abultamiento en el pseudotallo, se inicia con una herida vertical en la base, la herida se extiende muy rápido y puede llegar hasta la base del pseudopeciolo provocando su colapso. Estas aperturas pueden profundizar el pseudotallo hasta inclusive alcanzar varias capas del tejido (Fig.5) (Sánchez *et al.*, 2017).



Figura 5. Abultamientos y aperturas en el pseudotallo del banano causado por *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*

Fuente: Sánchez *et al.*, 2017

### **2.8.2. Síntomas internos**

#### **Decoloración de tejidos vasculares**

Los síntomas internos a consecuencia del ataque de FOC se caracterizan por una decoloración de los tejidos vasculares en las raíces, el cormo y el pseudotallo. Esta decoloración puede ser amarilla, marrón o café, la misma que avanza hacia los haces vasculares del pseudotallo y algunas veces puede llegar hasta el raquis (Fig. 6) (Luciano, 2013).



Figura 6. Decoloración de tejidos vasculares del xilema causados por el ataque de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* en banano

## 2.9. Distribución de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 y raza 4 a nivel mundial

Los países afectados por la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*” provocada tanto por FOCR1 y FOCR4T se detallan en la Figura 7. FOCR1 se encuentra extendida por todas las áreas agrícolas destinadas a la explotación bananera a nivel mundial (azul). Mientras que FOCR4T (rojo), comenzó su aparición en el continente Asiático, para luego dispersarse al continente Oriental, Africano y actualmente se reportó en el continente Americano, en el país de Colombia.

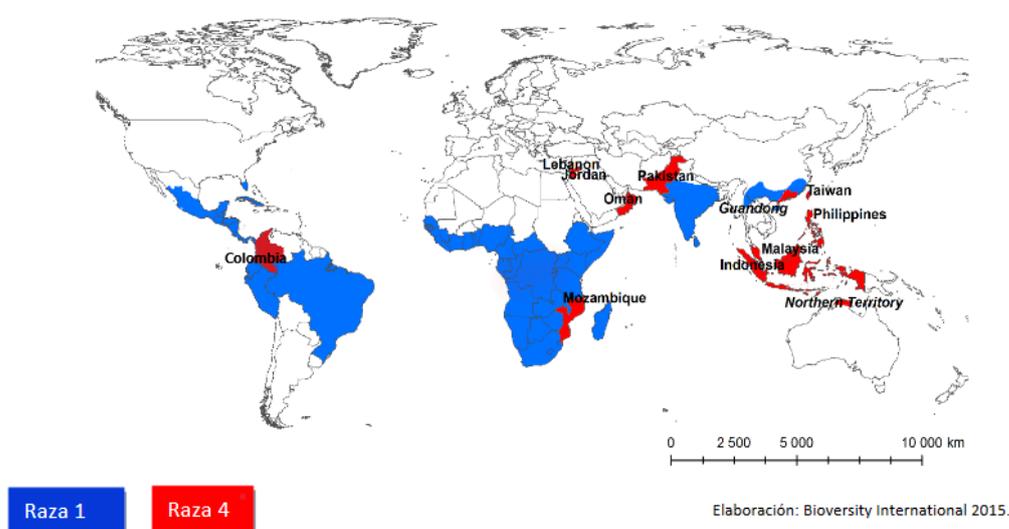


Figura 7. Países afectados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 y 4 en banano (modificado por el autor).

Fuente: Bioversity International, 2015.

## 2.10. Métodos de detección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*

El sistema de vigilancia fitosanitaria que mantiene Agrocalidad a nivel nacional contempla dos estrategias de acción para la detección temprana de plagas:

- La vigilancia activa.- Se orienta a la captura y registro de información de FOC obtenidas a través de prospecciones, monitoreos y verificación de denuncias que se realizan en el campo (Agrocalidad, 2015).
- La vigilancia pasiva.- Corresponde a actividades de recopilación de información fitosanitaria desde otras fuentes de información externas a Agrocalidad, constituidas por

diversas instancias del sector privado y estatal como tesis, artículos científicos, entre otros (Agrocalidad, 2015).

### **2.10.1. Selección de especies, lugares de monitoreo y prospección.**

Dentro de las prospecciones de cultivos en cada provincia se identifican áreas de riesgo y potenciales áreas de peligro de introducción (entrada y establecimiento) de FOC. Se prospecciona y monitorea en las zonas bananeras y plataneras del Ecuador (Agrocalidad, 2015).

El monitoreo se realiza en:

- Áreas en el entorno de los puntos de control.
- Áreas con cultivos establecidos a partir de material de propagación vegetal importado y tránsito
- Áreas relacionadas con lugares de acopio, consumo, almacenamiento, procesamiento o selección de productos agrícolas importados
- Áreas de riesgo correspondientes a vías o rutas internacionales (Agrocalidad, 2015).

### **2.10.2. Selección del sitio de detección**

La selección del sitio de detección consiste en definir el área total que se debe recorrer después de la verificación y existencia de un foco inicial de la enfermedad provocada por FOC dentro de una plantación bananera. La superficie de detección se da en base a la cantidad de área sembrada del cultivo de banano, como se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Superficie del sitio de detección que se encuentre atacado por *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* en banano.

Superficie del lote	Superficie del sitio de detección
Menor de 1 ha	Total
De 1 a 5 ha	1 ha
Mayor de 5- 12 ha	2 ha
Mayor de 12- 30	4 ha
Mayor de 30 ha	4 ha

Fuente: Agrocalidad, 2015.

Una vez seleccionado el sitio de monitoreo, se procede a recorrer el lote siguiendo un diseño de acuerdo a la forma de producción de la especie de cultivo. En los lotes de musáceas se realiza el recorrido de dos diagonales (Fig. 8).

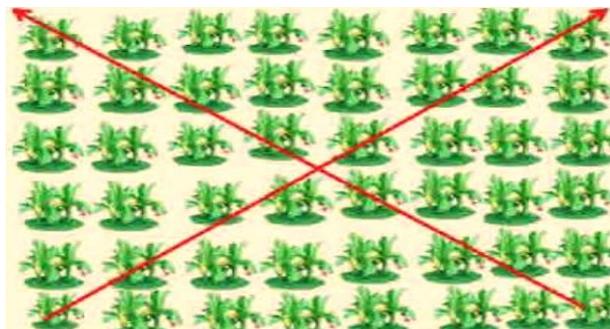


Figura 8. Recorrido de dos diagonales en el sitio de detección de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* en banano

Fuente: Agrocalidad, 2015.

### **2.10.3. Protocolo de toma, preparación y envío de muestras de FOC**

El protocolo diseñado por Agrocalidad (2015) que se utiliza para la toma, preparación y envío de muestras para la confirmación de la presencia o ausencia de FOC se detalla a continuación:

- a) Se debe planificar la ruta de muestreo, haciendo un diagrama del campo y de las rutas de inspección que se seguirán. Esto difiere y se ajusta según el patógeno que se pretende muestrear.
- b) Identificar las plantas de donde se tomarán las muestras basándose en su sintomatología.
- c) El personal deberá de contar con la debida instrucción para llevar a cabo las tareas de contingencia ante la sospecha de plaga cuarentenaria.
- d) Almacenar la muestra de campo y eliminar material sospechoso.
- e) Antes y después del muestreo, desinfectar herramientas con hipoclorito y alcohol, desechar guantes y otros materiales descartables.
- f) Preparar la zona en el campo para la toma de muestra e identificar la parte afectada de cada una de las plantas a muestrear.
- g) Envolver la muestra en papel toalla y depositar en una funda de papel, llenar y colocar la etiqueta correspondiente. Posteriormente guardarla bajo refrigeración entre 4- 8°C.

- h) Para el envío al laboratorio asegurarse de colocar suficientes geles refrigerantes para la conservación de la muestra. Tener cuidado de no maltratar las muestras durante el envío, asegurándose de disponer correctamente las muestras al interior de la caja térmica.

## **2.11. Detección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

Es posible que pase un largo periodo entre la introducción de FOC y la detección de la misma, debido a que el periodo de incubación de este patógeno es largo. Una vez confirmada la plaga se consideran los siguientes pasos:

- Delimitar el área afectada.
- Establecer el área de cuarentena.
- Eliminación del brote.
- Establecimiento de zonas de seguridad (Agrocalidad, 2016).

### **2.11.1. Medidas de control, erradicación y contención de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

El protocolo de control, erradicación y contención de FOC consiste en el uso de medidas de diagnóstico y control que deben ser aplicadas (OIRSA, 2017).

#### **Medidas de control**

El éxito del control depende de muchos factores, es fundamental tener una estrategia donde se debe verificar la viabilidad de la erradicación del brote. A continuación se detalla información útil para el diagnóstico temprano y la adopción de medidas:

- Datos sobre el sitio del brote (propiedad, localización geográfica latitud, longitud, altitud, etc.)
- Mapa y delimitación del área a tratar.
- Detalles del hospedante: variedad, edad, estado de desarrollo. Daños, descripción de síntomas, incidencia y severidad de la plaga.
- Medidas de descontaminación establecidas para las personas, productos y equipos.
- Registro de productos o movimiento de material de propagación hacia o desde el sitio de detección.

- Procedimientos para la destrucción de restos de plantas y desinfección del suelo.
- Riesgos y vías de dispersión,
- Criterios para establecimiento de cuarentena y delimitación del área sujetas a medidas fitosanitarias.

La erradicación de FOC forma parte de una estrategia de control y esta depende de:

- Detección temprana de la plaga.

La eliminación de la musácea infectada.

- La restricción del acceso de personas no autorizadas, animales y equipos al sitio tratado.
- La capacitación del personal sobre procedimientos y buenas prácticas de bioseguridad para toma de muestras, embalaje y transporte de muestras.

### **Erradicación y contención de la plaga**

La contención o erradicación de una plaga cuarentenaria es la aplicación de medidas fitosanitarias para eliminar la misma en un área específica. Dentro de este proceso existen dos acciones que se emplean: 1) acción previa a la confirmación de FOC, 2) acción después de la confirmación del diagnóstico de FOC.

#### **Acción previa a la confirmación de FOC**

1. **Implementación de medidas de cuarentena vegetal:** mientras se realizan los análisis de diagnóstico se implementara procedimientos para minimizar la posibilidad de dispersión de una plaga. Se implantará medidas provisionales de cuarentena sobre la propiedad o área afectada.
2. **Muestreo y análisis:** Deben analizarse todas las plantas de la zona A y plantas aleatorias de la zona B (Fig. 9).
3. **Eliminación de plantas:** cuando haya indicativos fuertes de la plaga se deberá eliminar todas las plantas de la zona A (Fig. 9), y de no ser así al menos todas las que presenten síntomas.
4. **Aplicación de insecticidas:** se debe aplicar insecticidas contra el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), ya que este agente puede dispersar la enfermedad. En caso que el diagnóstico tarde se pueden emplear nuevas aplicaciones de insecticidas para controlar el problema.

5. **Construcción de zanjas:** se deben realizar zanjas de 30x30cm alrededor de las plantas con síntomas con el fin de evitar que el agua de escorrentía disperse la plaga.
6. **Desinfección:** tratar con desinfectantes a base de amonio cuaternario a vehículos, herramientas y objetos en general del área delimitada.
7. **Cercado y controles de acceso:** se debe aislar la zona C (Fig. 9), estableciendo puntos de acceso únicos al área y badenes sanitarios con desinfectantes para calzados y equipos. Se recomienda la adición de un colorante para visualizar el tratamiento aplicado.

### **Acciones después de la confirmación del diagnóstico de FOC.**

Una vez que se confirme la presencia de FOC mediante su análisis, se debe proceder con la implementación de las medidas de erradicación de la plaga, siguiendo las siguientes recomendaciones:

1. **Delimitación de zonas:** la zona A, B y C son consideradas zonas infestadas, por lo tanto todo el personal que entre y salga debe usar ropa y calzados que permitan la desinfección correcta y evitar la dispersión de la plaga hacia el resto de la plantación (Fig.9).
2. **Construcción de cercas y zanjas perimetrales, puestos de desinfección y definición de la ruta de entrada y salida:** este procedimiento hecho en la parte previa del diagnóstico de la plaga, debe seguirse, verificar y corregir problemas eventuales junto con la aplicación de insecticidas.
3. **Eliminación de plantas:** el manejo de las tres zonas consiste en que las plantas de la zona A se deben erradicar por completo mediante cortes y sin dejar ningún tipo de residuo de banano, también eliminar cualquier tipo de hospedante. En la zona B debe aplicarse un herbicida (mediante inyección) para eliminar las plantas de esta zona, esto con el fin de impedir la diseminación del patógeno hacia nuevos hospedantes (Tabla4).
4. A los 21 días después se debe realizar una reaplicación del herbicida a los rebrotes, aplicando el producto en la misma dosis y número de inyecciones como se detallan en la tabla 4.
5. Luego se deben realizar visitas periódicas al sector para verificar la efectividad del trabajo realizado. Dentro de la zona C no se realizará ninguno de los procedimientos, pero estará bajo vigilancia constante (Fig.9).

Tabla 4. Número de inyecciones y volumen total del herbicida (glifosato) a aplicar en las plantas infectadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*.

Tipo de planta	No. de sitios de inyección	Volumen total (ml)
Planta madre	5	50
Pseudotallo cosechado	4	40
Hijos menos de 1 m	2	20
Hijos de más de 1 m	3	30
Hijos de más de 2 m	5	50

Fuente: OIRSA, 2017.

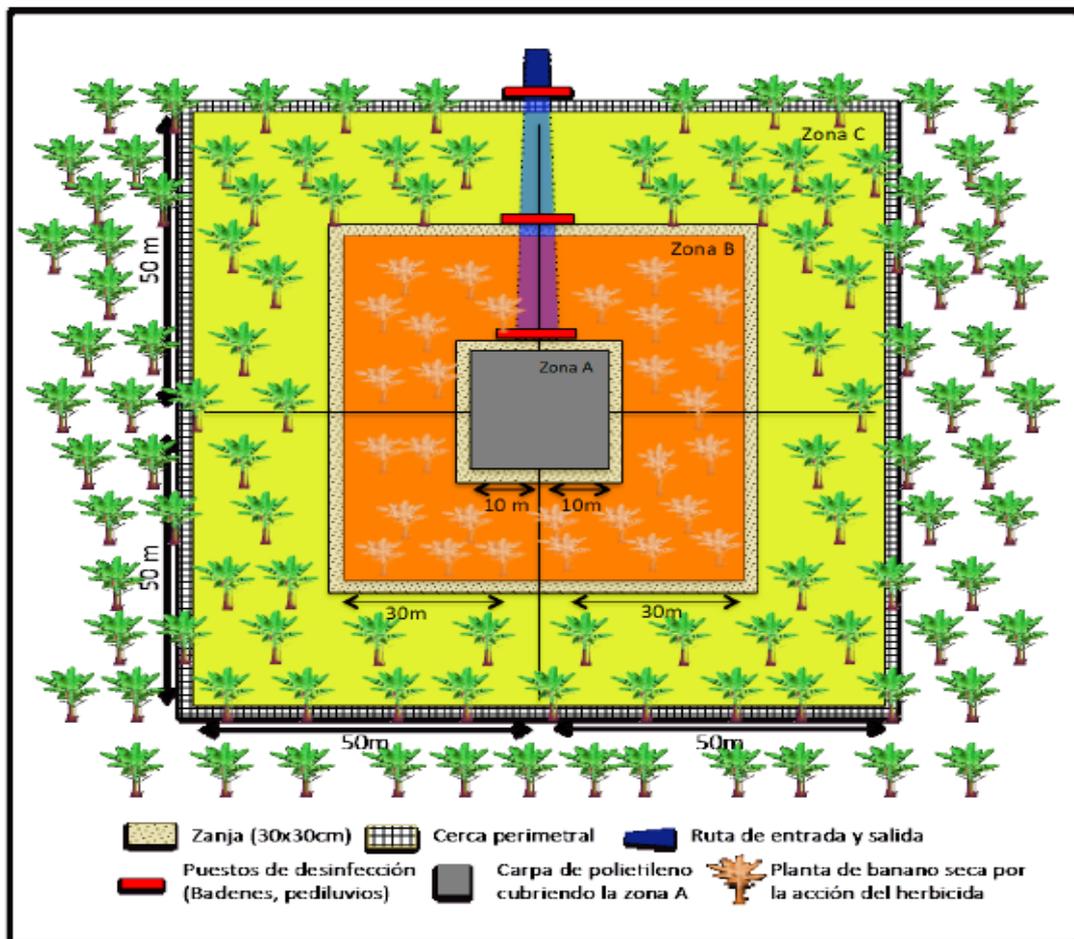


Figura 9. Protocolo de contención propuesto por OIRSA para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense*, especificando las zonas para la detección, erradicación y contención de la enfermedad.

Fuente: OIRSA, 2017.

**CAPÍTULO III**  
**METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización del experimento

La investigación se desarrolló bajo la supervisión del Programa Nacional de Banano, Plátano y otras Musáceas de la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicada en el cantón Quevedo, Km 5 vía Quevedo El Empalme en la provincia de Los Ríos. La Estación Experimental se encuentra a una altitud promedio de 75 m.s.n.m y está posesionada geográficamente en las coordenadas 1° 6' latitud Sur y 79° 25' longitud Occidental. Los datos edafoclimáticos de la zona se encuentran detallados en la tabla 5.

Tabla 5. Datos edafoclimáticos del área (Quevedo), del presente proyecto de investigación

Temperatura media	25.2° C
Precipitación anual	1.551 mm
Humedad relativa	84.33 %
Heliofanía	768,10 horas/luz/año
Textura del suelo	Franco
PH del suelo	5.8
Topografía	Plana

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), 2014

### 3.2. Métodos de investigación

#### 3.2.1. Método de observación

Se utilizó este método como herramienta principal en la recolección de datos en campo y en invernadero, ya que de este dependió la veracidad de los resultados generados.

### 3.2.2. Método deductivo

Se utilizó el método deductivo iniciando como base principal la literatura para la realización del proyecto, a través de este método se pudo determinar la metodología de inoculación más efectiva de acuerdo a su área de infección. Finalmente se pudo establecer la eficacia del protocolo de contención propuesto por OIRSA para el manejo de la enfermedad.

### 3.2.3. Método experimental

El presente proyecto de investigación constó de dos fases experimentales, las mismas que se detallan a continuación:

- **Fase 1.-** Se trabajó con plántulas de banano, las mismas que fueron inoculadas con una suspensión de conidias de FOGR1 en una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml según los siguientes métodos de infección, directamente en el suelo, suelo con heridas en las raíces, herida en el corno, herida en el pseudotallo, herida en la hoja (peciolo) y directamente en la hoja (peciolo) (Anexo 7). Los parámetros evaluados fueron; severidad, incidencia, periodo de incubación, altura de planta y número de hojas. Esta fase se realizó bajo condiciones controladas (invernadero), durante un periodo de ocho semanas. Luego de terminada la evaluación sobre la inoculación antes detallada, se registraron todos los tratamientos para verificar la presencia y avance de FOGR1.
- **Fase 2.-** Esta fase se realizó en una plantación establecida de Gros Michel de un área de 10 400 m<sup>2</sup>, dividida en 6 lotes, donde al principio de la investigación se evidenció la presencia de un foco infeccioso (una planta enferma) de FOGR1 en el lote 5 y 2 (Fig. 10). En el lote 2 se aplicó el protocolo de contención para FOC propuesto por OIRSA del año 2017, el mismo que fue evaluado frente al lote 5, donde no se aplicó el protocolo (testigo). La evaluación se realizó mensualmente por un periodo de 10 meses. La metodología usada en esta fase para la generación de los resultados se basó en una evaluación comparativa y descriptiva, en donde la finalidad fue determinar la efectividad del protocolo antes descrito para el manejo de FOGR1 en la plantación de Gros Michel.

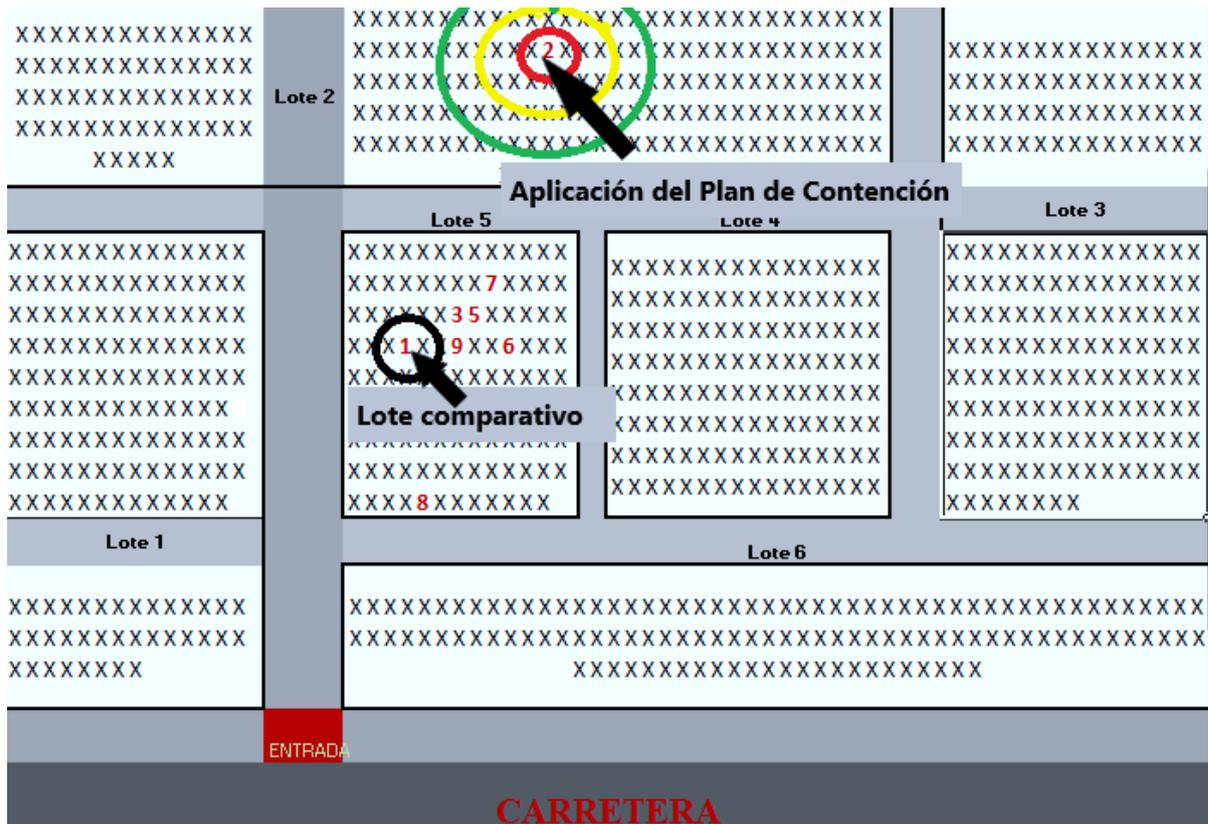


Figura 10. Mapeo del lote y delimitación de área donde se aplicó el Plan de Contención para *Fusarium* frente al lote sin tratar (Lote comparativo). Zona A: color rojo, zona B: color amarillo, y zona C: color verde en el lote 2.

### 3.3. Fuentes de recopilación de información

La principal fuente de recopilación de información fue la observación directa sobre los ensayos realizados tanto en campo como en invernadero, todo esto complementado con libros, revistas, fichas técnicas y artículos científicos publicados en internet.

### 3.4. Metodología experimental (fase 1).

#### 3.4.1. Material vegetal

Se utilizó vitroplantas de banano Gros Michel, las cuales fueron proporcionadas por el Departamento de Biotecnología de la EET-Pichilingue, las mismas que fueron trasplantadas en fundas que contenían suelo previamente solarizado y cada funda contenía 1 kg de sustrato. Las plántulas de banano se adecuaron en un invernadero hasta

que estas tuvieron ocho semanas de edad para la realización de la presente investigación (Anexo 6).

El manejo agronómico que se realizó a las plántulas hasta la culminación del ensayo fue el siguiente: el riego se realizó pasando un día donde se aplicaba aproximadamente 500 ml de agua potable, y con respecto a la fertilización se realizó una única aplicación de 10 gr aproximadamente por plántula y esta fue efectuada a las cuatro semanas después de la inoculación con FOGR1.

### 3.4.2. Diseño experimental

El Diseño experimental que se empleó en esta fase de la investigación fue un Diseño Completamente al Azar (DCA), con un total de 7 tratamientos y 10 repeticiones. Cada planta se consideró una unidad experimental en cada una de las repeticiones. Las plantas fueron inoculadas con una suspensión líquida (preparación de suspensión se detalla en la sección 3.5.5) de FOGR1, bajo diferentes métodos de infección, excepto el tratamiento testigo que fue inoculado con agua destilada estéril (Tabla 6). Luego de realizada la inoculación se les dio las mismas condiciones para su estudio.

Tabla 6. Métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 aplicados en plántulas de banano Gros Michel.

Tratamientos	Método de inoculación con FOGR1
T1	Directamente al suelo
T2	Suelo más heridas en raíces
T3	Heridas en el cormo
T4	Heridas en el Pseudotallo
T5	Heridas en las hojas
T6	Directamente en las hojas (sin heridas)
T7	Testigo

### 3.4.3. Tratamientos

Los tratamientos de la presente investigación fueron inoculados con una solución líquida de FOGR1 en una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml (preparación de la solución de FOGR1 se detalla en la sección 1.5.5), a excepción de las plantas testigos que fueron inoculadas

con agua destilada estéril. Las inoculaciones se efectuaron en diferentes partes de las plántulas de banano Gros Michel con la ayuda de una micropipeta calibrada. Las heridas realizadas en las plántulas de banano fueron laterales y se realizaron con un bisturí n°10 previamente esterilizado, excepto las heridas que se realizaron en las raíces, las mismas que se provocaron con un cuchillo de cocina previamente flameado. Las inoculaciones en las plantas y en el suelo se realizaron según se detalla a continuación:

- 1) **Directa al suelo.-** Con una micropipeta se inoculó 5 ml de la suspensión de esporas de FOGR1 directamente al sustrato.
- 2) **Suelo más herida en raíces.-** Se procedió con un cuchillo de cocina previamente flameado a hacer cortes de 7 cm de profundidad en el suelo, después de esto se aplicó los 5ml del inóculo al sustrato con la micropipeta descrita en el tratamiento anterior.
- 3) **En el cormo.-** Se practicó una herida de tipo lateral con un bisturí en la base del cormo, y posterior se aplicó 5 µL de la suspensión.
- 4) **En pseudotallo.-** Se hizo una herida a 5 cm de altura desde la base del sustrato aplicando la misma cantidad de la solución de FOGR1 antes descrita.
- 5) **Hojas con heridas.-** Se realizó una incisión en el peciolo de la hoja 2 (a 2 cm desde la base de apertura de la hoja) donde se colocó el inóculo de FOGR1 en una dosis de 5 µL de la suspensión.
- 6) **Directa a las hojas.-** En la segunda hoja de la planta de banano se aplicó los 5 µL del inóculo sobre la hoja específicamente en el peciolo (Anexo. 7).
- 7) **Testigo.-** En este tratamiento se procedió a realizar heridas similares a los antes descritos, inoculando agua destilada estéril en las dosis respectivas.

Las heridas que se realizaron en el cormo, pseudotallo y hojas tuvieron una medida de aproximadamente 1.5 x 1.5 x 0.6 cm en longitud, ancho y altura respectivamente, las mismas que fueron limpiadas antes del corte con agua destilada estéril, y una vez realizada la inoculación se cubrieron las heridas con parafilm quedando listas para su posterior evaluación.

#### **3.4.4. Análisis estadístico**

Se utilizó un Análisis de Varianza (ADEVA) para determinar si existe significancia estadística entre los tratamientos en estudio, y además se realizó una prueba de Tukey al

5 % para constatar las diferencias entre los tratamientos (Tabla. 7). Para la realización de los análisis estadísticos se empleó el software estadístico Infostat, (2019).

Tabla 7. Esquema del análisis de varianza del experimento.

<b>ADEVA</b>		
<b>Fuente de variación</b>		Grados de libertad
<b>Tratamiento</b>	7 – 1	6
<b>Error experimental</b>	70 – 7	63
<b>Total</b>	70 – 1	69

Elaborado: Autor

### **3.5. Manejo del experimento (fase 1)**

#### **3.5.1. Toma de muestras de plantas afectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

Se identificaron dos plantas de banano en la plantación establecida del cultivar Gros Michel (AAA) con síntomas externos e internos producidos por el hongo FOGR1, en la Estación Experimental INIAP. Se recolectó dos muestras de cada una de las plantas afectadas con FOGR1, las mismas que fueron tomadas en el pseudotallo a una altura de 1 m desde la base del suelo. Las muestras fueron almacenadas en un enfriador en fundas de papel con la identificación respectiva para posteriormente ser llevadas al laboratorio de Fitopatología de INIAP. El proceso de toma de muestra se realizó con la finalidad de obtener las estructuras del hongo FOGR1, para posteriormente ser usadas para las inoculaciones respectivas dentro de la investigación.

#### **3.5.2. Procesamiento de las muestras en el laboratorio**

Se realizó una disección del material asintomático, seccionando trozos de 2 – 3 mm, luego fueron desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% y sumergidos en tres lavados con agua destilada estéril, luego se pasó cada muestra por papel absorbente previamente esterilizado, para retirar el exceso de humedad. Una vez terminado este proceso, se depositó las secciones en cajas Petri, conteniendo PDA con

antibiótico (cloranfenicol en dosis de 0.05 gr/l). Las cajas Petri se sellaron con Parafilm, se rotularon y se dejaron reposar sobre un mesón dentro del laboratorio por cuatro días a una temperatura de 27 °C, para obtener el crecimiento y reproducción de las estructuras del hongo.

### **3.5.3. Purificación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

La purificación de FOCCR1 se realizó a los cuatro días después de la siembra de las muestras vegetales, donde una vez obtenido el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en la caja Petri, se procedió a traspasar las hifas del micelio del hongo FOCCR1 hacia las nuevas cajas que contenían medio de cultivo PDA con antibiótico (cloranfenicol), donde se obtuvieron colonias del patógeno totalmente purificadas, es decir, libres de otro tipo de organismo que no sea el evaluado en la investigación .

### **3.5.4. Cultivo y multiplicación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

El cultivo y multiplicación de FOCCR1 consistió en diseccionar pequeños fragmentos del micelio del hongo de las colonias puras a nuevas cajas Petri que contenían el medio de cultivo PDA más un antibiótico (cloranfenicol, en dosis de 0,05 gr por litro de medio de cultivo PDA), luego cada caja fue rotulada, registrada y sellada con parafilm. Las cajas donde se colocaron los fragmentos de FOCCR1 se dejaron reposar dentro del laboratorio de Fitopatología de INIAP sobre un mesón a temperatura ambiente por dos semanas, para obtener el crecimiento y esporulación de las colonias de FOCCR1.

### **3.5.5. Preparación del inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

Para la preparación del inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1, se utilizó una metodología propuesta por Lara (2009), la misma que se detalla a continuación:

- a) De las cajas de dos semanas de crecimiento y esporulación de FOCCR1, se procedió a inocular 5 ml de agua destilada estéril en la caja con la colonia de FOCCR1, la misma

que se removió suavemente con una espátula previamente flameada. Terminado este proceso, el micelio fue filtrado a través de una gasa estéril, y posteriormente colocado en un Erlenmeyers, para luego ser completado con agua destilada estéril en una cantidad total de 100 ml de suspensión.

- b) Una vez obtenido el medio se determinó la concentración de fragmentos de micelio  $\text{ml}^{-1}$  mediante el conteo en cámara de Neubauer en un microscopio óptico (aumento 10x).
- c) Finalmente se ajustó la suspensión de fragmentos de micelio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 con agua destilada estéril en una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml (Anexo 5).

### **3.5.6. Inoculación de las plantas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

Para las inoculaciones realizadas en las plántulas de banano Gros Michel se empleó una metodología, la misma que se detalla en la sección 3.4.3.

### **3.5.7. Registro de muestras finalizada la evaluación**

Al término del ensayo y la evaluación de índice de daño (severidad) provocada por FOCR1, se procedió a registrar los tratamientos inoculados con FOCR1 y el testigo, para constatar la presencia y evolución del patógeno dentro de las plántulas de banano Gros Michel, donde se aplicó el siguiente protocolo.

#### **3.5.7.1. Toma y procesamiento de muestras en plántulas de bananos afectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

Se tomaron 5 plantas al azar por cada tratamiento inoculado con FOCR1 más el testigo. Se colectó entre 3 a 4 muestras de tejido vegetal por repetición, estas fueron tomadas en raíces, cormos, pseudotallos y peciolos (únicamente a los tratamientos con inoculación en hojas). Se realizaron cortes transversales de  $1 \text{ cm}^2$  para cada una de las muestras, recolectando un total de 120 muestras, las mismas que fueron puestas en papel absorbente, guardadas en fundas de papel con su respectiva identificación y colocadas

dentro del enfriador para posteriormente ser llevadas al laboratorio de Fitopatología del INIAP.

### **Procesamiento en el laboratorio**

El proceso de las muestras vegetales se llevó a cabo dentro de la cámara de aislamiento donde se diseccionaron las muestras en fragmentos de 2-3 mm, las mismas que se sumergieron en hipoclorito al 2.5 % por un minuto, luego pasaron por tres lavados con agua destilada estéril, se colocaron en el papel absorbente estéril para retirar el exceso de humedad y se colocaron dentro de las cajas Petri que contenían el medio PDA + antibiótico, se pusieron 4 a 5 fragmentos de la muestra por caja. Cuando las cajas estuvieron listas se sellaron con parafilm, se rotularon y se pusieron sobre una superficie (mesón) a temperatura ambiente dentro del laboratorio por algunos días hasta verificar el crecimiento del patógeno.

## **3.6. Metodología experimental (fase 2).**

### **3.6.1. Material vegetal**

El material vegetal utilizado en esta fase del proyecto de investigación fueron plantas adultas de banano Gros Michel, las cuales se encontraban dentro de la Estación Experimental INIAP, establecidas en un área 10 400 m<sup>2</sup>.

### **3.6.2. Método de investigación**

La metodología utilizada en esta fase de investigación fue un método descriptivo y comparativo, que consistió en recolectar datos de dos lotes de bananos, con el propósito de determinar la eficacia del protocolo de OIRSA para la contención de FOGR1, a partir de un foco inicial infeccioso, el mismo que fue aplicado en el lote 2, mientras que el lote 5 fue utilizado como testigo, es decir que no se aplicó el protocolo descrito (Fig. 10). Cabe recalcar que en ambos lotes evaluados existió la presencia de un foco inicial infectivo de FOGR1 (una planta enferma por cada lote en evaluación) de forma natural. Una vez aplicado el plan de contención se evaluó mensualmente durante un periodo de 10 meses, recolectando datos sobre la aparición de nuevas plantas enfermas en ambos lotes (Anexo 1).

### **3.6.3. Manejo del experimento**

#### **3.6.3.1. Delimitación del área**

Se empleó un protocolo propuesto por OIRSA en el año 2017 llamado “Plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*”. La delimitación del área se procedió a realizar una vez localizado el foco inicial infeccioso de FOC dentro del área estudiada y a partir de un foco infeccioso. El proceso consistió en la delimitación de tres áreas denominadas: zona A, zona B y zona C. La zona A constó con un radio de 5 m a la redonda, la zona B tuvo un radio de 15 m y la zona C con un radio de 30 m desde el foco inicial. Para delimitar el área se utilizó cinta de señalización y se identificó cada zona por su respectivo color (Fig. 10).

#### **3.6.3.2. Puestos de desinfección, definición de ruta de entrada y salida**

Para esta actividad se procedió a establecer una sola ruta de entrada y salida a la plantación de banano, donde solo se podía entrar caminando. El primer puesto de desinfección se estableció en la entrada de la plantación de Gros Michel, donde se colocó dos recipientes que contenían hipoclorito de sodio en una dilución 1:5 de agua para la desinfección del calzado. Adicionalmente se empleó otro puesto de desinfección en la entrada del lote 2 (Anexo 3 B y C). La solución de hipoclorito de sodio se reponía en los recipientes cada vez que se ingresaba a la plantación, en dosis de 500 ml por recipiente.

#### **3.6.3.3. Erradicación y contención de *Fusarium***

En la zona A se procedió a inyectar Glifosato a una dosis de 20 cc por planta. Las dosis fueron aplicadas en el pseudotallo circundante. El proceso de inyección de las plantas en la zona A consistió en empezar inyectado las plantas de la parte externa y terminando con la planta cero (planta con infección inicial). En la zona B y C desde el momento de la aplicación del protocolo se restringió la realización de algún tipo de actividad agrícola, y se mantuvo en observación constante. Luego de la inyección a los 30 días se erradicó la planta cero, que fue cortada y puesta sobre plástico donde se le aplicó cal agrícola para evitar la diseminación por algún vector. Terminado este proceso se dejó tapada con el mismo plástico dentro de la misma zona (Anexo 3 A). Adicionalmente se informó a los demás Departamentos de la Estación Experimental sobre la realización del proyecto y la

restricción del acceso a la plantación de banano. Las labores que se realizaron dentro de este ensayo con respecto al deshoje y limpieza del área fueron efectuadas de la siguiente manera: el deshoje se practicó mensualmente, el control de maleza se realizó con motoguadaña cada tres meses, y las labores se realizaron exclusivamente por el autor del presente proyecto de investigación y un colaborador (Sr, Milton Carranza) del Departamento de banano, plátano y otras musáceas. Estas labores fueron realizadas en toda la plantación, a excepción del área de delimitación (zona A, B y C) (Fig. 10).

Todas las actividades se realizaron con las medidas de precaución necesarias, como: no tener contacto con las plantas enfermas con FOCR1 (plantas marcadas), y también se realizaba la desinfección respectiva de herramientas y el calzado con hipoclorito de sodio, todo esto para evitar que el resultado final de la investigación se viera afectado.

### **3.7. Variables a evaluar (fase 1)**

#### **3.7.1. Evaluación de severidad, incidencia y periodo de incubación de la enfermedad**

La evaluación de severidad de la enfermedad se determinó de acuerdo al grado de daño e infección expresados en los síntomas externos de las plántulas de banano provocados por FOCR1, la misma que se realizó semanalmente por un periodo de ocho semanas, todo esto bajo la escala de severidad propuesta por Orjeda (1998) (Tabla 8).

Tabla 8. Escala para la evaluación de severidad provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1

Escala	Síntomas externos
1	Ausencia de síntomas
2	Amarillamiento de hojas viejas (hojas inferiores)
3	Amarillamiento de hojas bajas (hojas en la parte media)
4	Amarillamiento de hojas jóvenes (hojas superiores)
5	Severo amarillamiento en toda la planta
6	Muerte de la planta

Fuente: Orjeda 1998

La incidencia de la enfermedad provocada por FOCR1 se evaluó de acuerdo a la cantidad de plantas que presentaron sintomatologías externas, y se expresó en porcentaje. La evaluación de incidencia se realizó al final del ensayo, y se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia} = \frac{n^{\circ} \text{ de plantas enfermas}}{n^{\circ} \text{ de plantas totales}} \times 100$$

El periodo de incubación se determinó desde la aparición de la primera planta con síntomas externos típicos de FOCR1. La evaluación se realizó hasta el término del ensayo, o hasta obtener el 100% de plantas enfermas en cada uno de los tratamientos. Además se evaluó variables de altura y número de hojas. La altura de planta se midió con una regla desde la base del sustrato hasta la apertura de la hoja bandera, mientras que el número de hojas se determinó con el conteo del total de hojas en cada una de las plántulas. Los datos de ambas variables fueron registrados en la primera y última semana de evaluación.

### **3.7.2. Presencia y avance de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1**

Una vez terminada la evaluación de severidad de FOCR1 se tomaron 5 plantas al azar más el testigo de cada uno de los tratamientos. Los mismos que pasaron por el proceso de toma y procesamiento de muestra en el laboratorio de Fitopatología del INIAP, como se detalla en las secciones 3.5.1 y 3.5.2.

La toma de muestra que se realizó en los tratamientos directamente al suelo, suelo más herida en raíces, herida en cormo y herida en pseudotallo se colectaron muestras de suelo, raíz, cormo y pseudotallo. Mientras que para los tratamientos de herida en hoja (peciolo) y directamente en la hoja (peciolo) se colectaron muestras tanto de suelo, raíces, cormo, pseudotallo y peciolo.

La presencia de la enfermedad en las plántulas se evaluó de acuerdo a la aparición de las colonias de FOCR1 en las muestras procesadas en el laboratorio. La evolución se evaluó teniendo como base la presencia de las colonias de FOC en las muestras procesadas, entonces se procedió a verificar de acuerdo al área de inoculación hasta donde FOCR1 había sido capaz de avanzar con la infección dentro de las plántulas de banano.

### 3.8. Variable a evaluar (fase 2)

#### 3.8.1. Técnica de manejo de la enfermedad

La técnica de manejo de la enfermedad fue empleada bajo el protocolo de OIRSA del año 2017, donde lo que se buscó fue corroborar que la medida de contención en campo fuese capaz de contener la diseminación de FOGR1 dentro de la plantación de banano.

Dentro de esta variable se realizó una comparación entre dos lotes de banano Gros Michel. En ambos lotes existía la presencia de un foco infeccioso inicial (planta enferma) de la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*”. En el lote 2 se aplicó el plan de contención propuesto por OIRSA, mientras que en el lote 5 fue utilizado como testigo. Luego de este proceso se evaluaron los dos lotes mensualmente durante un periodo de 10 meses, registrando la presencia de nuevas plantas enfermas.

Lo que se buscó dentro de esta variable fue determinar si el protocolo de OIRSA era eficaz o no para la contención de la enfermedad.

### 3.9. Materiales y equipos

Los materiales y equipos utilizados en la presente investigación se detallan en la tabla 9 y 10.

Tabla 9. Equipos y materiales usados en la fase de laboratorio

Materiales y equipos		
Materiales	Equipos	Otros
Cajas Petri	Esterilizador	Micropipeta
Erlenmeyer	Autoclave	Hemacitómetro
Cuchillo	Balanzas	Puntas
Bisturí	Cámara de aislamiento	Celular
Guantes	Microscopio trinocular	Algodón
Mascarilla	Incubadora	Alcohol
Placas portaobjetos	Horno de conservación	Cloro
placas cubreobjetos	Destilador de agua	Agua
Pinzas		
Tubos de ensayo		

Fuente: Autor.

Tabla 10. Equipos y materiales usados en la fase de campo

---

Materiales y equipos		
Materiales	Equipos	Otros
Botas	Bomba CP3	Cal agrícola
Cuchillo, podones	Guadaña	Celular
Overol, guantes y lentes	Vehículo	Glifosato
Machete		Cloro

---

Fuente: Autor.

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Resultados (fase 1)

### 4.1.1. Severidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en plántulas de Gros Michel.

En la tabla 11 se presentan los promedios de índice de severidad (sintomatología externa) causadas por la infección de FOCR1 en plántulas de 8 semanas de edad. El análisis de varianza (ADEVA) mostró significancia estadística con un coeficiente de variación (CV) de 19.26 %.

Los tratamientos que obtuvieron mayor índice de severidad fueron: herida en pseudotallo, herida en raíces, directa al suelo y herida en cormo, con promedios que van de 1.8 hasta 1.55, mostrando diferencia estadística frente demás tratamientos, herida en peciolo, directa en peciolo y el testigo, que obtuvieron índices promedios desde 1.15 a 1.

Tabla 11. Índice de severidad causada por FOCR1 en plántulas de banano Gros Michel

Tratamientos	Medias		
T4	Inoc. herida en pseudotallo	1.8	a
T2	Inoc. suelo/herida en raíces	1.75	a
T1	Inoc. directa al suelo	1.57	a
T3	Inoc. herida en cormo	1.55	a
T5	Inoc. herida en peciolo	1.15	b
T6	Inoc. directa en peciolo	1.0	b
T7	Testigo	1.0	b
Promedio		1.40	
C.V (%)		19.26	

\*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### 4.1.2. Altura de planta

En la tabla 12 se muestran los promedios sobre las diferencias de alturas tomadas en la semana 1 y 8 de evaluación. Efectuado el análisis de varianza se observó significancia estadística con un coeficiente de variación de 40.49 %.

Los tratamientos herida en peciolo y herida en raíces, alcanzaron los mayores promedios de altura, con 10.4 y 9.8 cm, respectivamente, y a su vez mostraron igualdad

estadística frente a los demás tratamientos, a excepción de, herida en pseudotallo que alcanzó un promedio de 5.13 cm de altura.

Tabla 12. Promedios de altura (cm), tomadas en plántulas de banano Gros Michel y aplicada la prueba de Tukey.

Tratamientos		Medias		
T5	Inoc. herida en peciolo	10.4	a	
T2	Inoc. suelo/ herida en raíces	9.8	a	
T1	Inoc. directa al suelo	7.99	a	b
T6	Inoc. directa en peciolo	7.89	a	b
T7	Testigo	7.82	a	b
T3	Inoc. herida en cormo	7.56	a	b
T4	Inoc. Herida en pseudotallo	5.13		b
Promedio		8.08		
C.V (%)		40.49		

\*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

#### 4.1.2.1. Número de hojas

En la tabla 13, se muestran los promedios correspondientes a la evaluación realizada al número de hojas tomadas en la semana 1 y 8 a cada uno de los tratamientos inoculados con FOCR1 y el testigo. Efectuado el ADEVA se mostró significancia estadística entre los tratamientos con un CV= 29.19 %.

El tratamiento que obtuvo un mayor en número de hojas fue, directa en peciolo, con un promedio de 3 hojas, y a su vez mostró igualdad estadística frente a los demás tratamientos, a excepción del tratamiento, herida en pseudotallo que alcanzó un, promedio de 1.8 hojas.

Tabla 13. Promedios del número de hojas tomadas en la semana 1 y 8 de evaluación

Tratamientos		Medias		
T6	Inoc. directa en peciolo	3.0	a	
T7	Testigo	2.8	a	b
T1	Inoc. directa al suelo	2.7	a	b
T5	Inoc. herida en peciolo	2.6	a	b
T2	Inoc. suelo/herida en raíces	2.6	a	b
T3	Inoc. herida en cormo	2.1	a	b
T4	Inoc. herida en pseudotallo	1.8		b
Promedio		2.51		
C.V (%)		29.19		

\*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

#### 4.1.2.2. Periodo de incubación e incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* raza 1

Los promedios en cuanto al periodo de incubación de FOCR1 causada por la infección del patógeno en estudio se muestran en la figura 11, donde se puede observar que los tratamientos que mostraron un periodo más corto fueron: heridas en raíces y herida en pseudotallo, con 42 días promedios, siendo superiores numéricamente a los demás tratamientos. El tratamiento, directo al suelo y herida en cormo, alcanzaron promedios de 49 días, además el tratamiento, herida en peciolo, tuvo un periodo de incubación de 56 días, mientras que el directo en la hoja y el testigo se mantuvieron en 0 al no presentar ninguna planta con síntomas externos de la enfermedad.

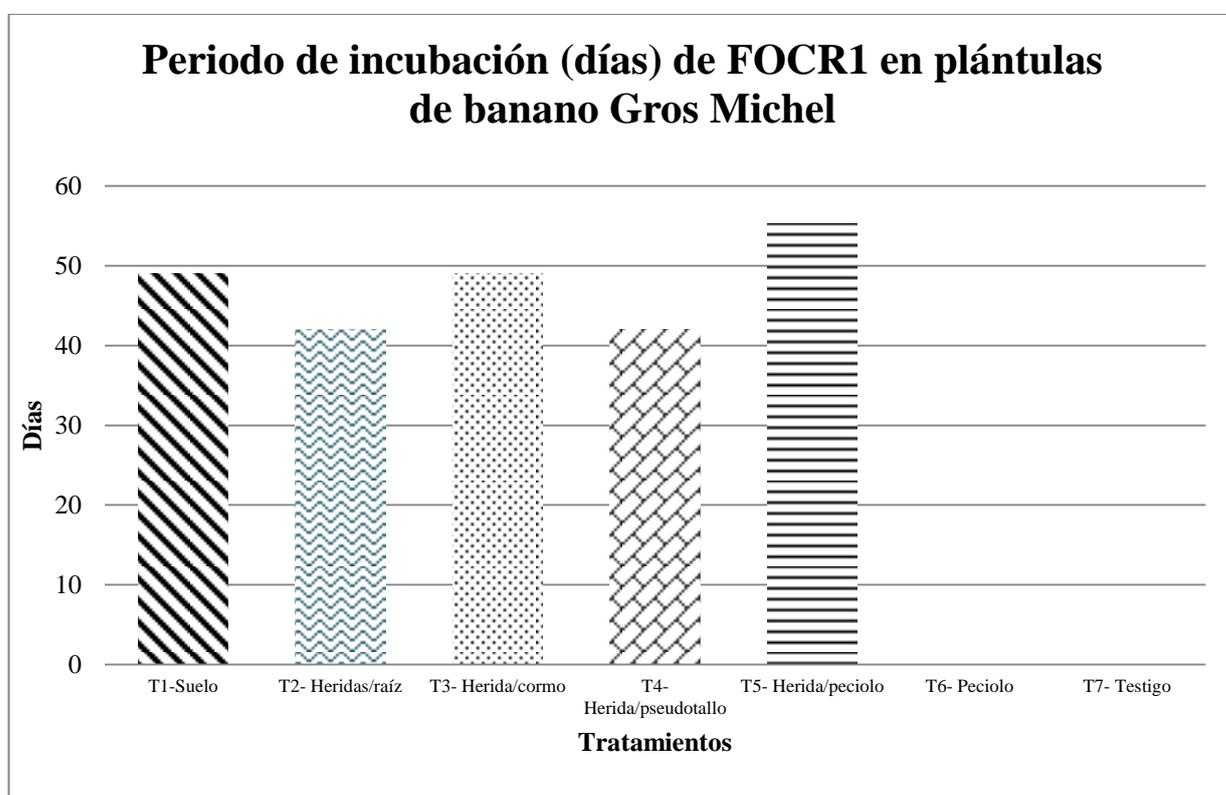


Figura 11. Promedios en días, sobre el periodo de incubación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* raza 1, evaluados con diferentes métodos de inoculación en plántulas de banano Gros Michel.

En la figura 12 se muestran los promedios de incidencia representados en porcentaje, donde el tratamiento, heridas en raíces, herida en cormo y herida en pseudotallo tuvieron una incidencia del 100%, siendo a su vez numéricamente superiores a los demás tratamientos que obtuvieron los promedios siguientes: directa en suelo con un

90% y herida en peciolo con un 50%, mientras que los tratamientos: herida en peciolo y el testigo, al no presentar ninguna planta con síntomas externos visibles se mantuvieron en 0%.

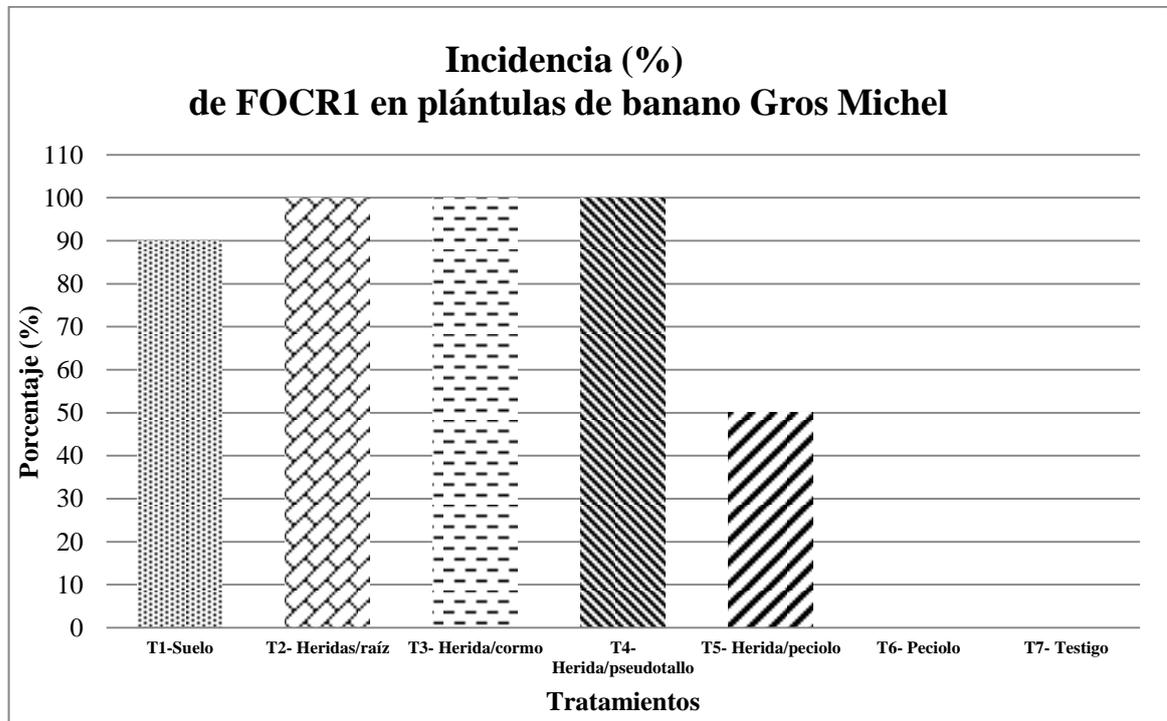


Figura 12. Promedios del porcentaje de incidencia de la enfermedad “Marchitez por *Fusarium*” provocada por FOCR1 en plántulas de banano Gros Michel, evaluados con diferentes métodos de inoculación.

#### 4.1.5. Registro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en plántulas de Gros Michel

En la tabla 14, se muestran los resultados sobre el registro de avance y presencia de FOCR1 realizados después de la última semana de evaluación de severidad, donde se puede observar que todos los tratamientos presentaron signos de la enfermedad excepto el tratamiento directo en la hoja, en donde el patógeno en estudio estuvo ausente al momento del registro de las muestras. Por otro lado, el tratamiento que obtuvo mayor avance de la enfermedad fue heridas en raíces, en el cual se evidenció que el patógeno avanzó desde la raíz hacia al cormo y pseudotallo. En los tratamientos, directo al suelo y herida en cormo, la infección avanzó desde la raíz hacia el cormo y del cormo hacia el pseudotallo, respectivamente. Además en los tratamientos, herida en pseudotallo y herida en hoja, el patógeno solo infectó en el área de inoculación.

Tabla 14. Registro de presencia y avance de infección de *Fusarium oxysporum* f. sp.  *cubense* raza 1 en muestras tomadas en plántulas de banano Gros Michel después de la evaluación de severidad.

Tratamientos	Área de inoculación			
	Raíz	Cormo	Pseudotallo	Pecíolo
T1	X	X		
T2	X	X	X	
T3		X	X	
T4			X	
T5				X
T6				
T7				

## 4.2. Resultados (fase 2)

### 4.2.1. Técnica de manejo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 a partir de un foco infeccioso.

Los resultados del plan de contención para FOCR1 que se aplicó en el lote 2, y que a su vez fue comparado con un lote testigo, se describen a continuación: El protocolo fue aplicado el 10 de octubre del 2018, donde en un principio se pudo evidenciar la presencia de un foco inicial infeccioso de FOCR1 en ambos lotes. Los resultados muestran que desde el mes de noviembre hasta la culminación del ensayo no se registró ninguna planta con síntomas típicos de la enfermedad en el lote 2. Lo contrario ocurrió en el lote testigo, donde en los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero se registraron tres, dos, una y una planta enferma respectivamente. Desde el mes de marzo hasta el final de la evaluación no se registró ninguna planta con síntomas típicos de la enfermedad, a excepción del mes de mayo donde se registró una nueva planta con síntomas de FOCR1. Después de la aplicación del plan de contención para FOCR1 (mes de octubre) hasta el término del ensayo se registraron un total de 8 plantas enfermas en el lote testigo durante todo el periodo de evaluación.

### 4.3. Discusión

Según Lara (2009), en su estudio realizó inoculaciones radiculares en plántulas de banano Gros Michel de 12 semanas de edad con una solución de FOCCR1 a una concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml, buscando determinar el grado de patogenicidad de FOC en las vitroplantas antes descritas. Estas plántulas al ser evaluadas presentaron los primeros síntomas de la enfermedad en la cuarta semana después de la inoculación, incrementándose en la quinta y sexta. Esos resultados difieren con los presentados en la primera fase de esta investigación, donde los primeros síntomas visibles de la enfermedad se presentaron en la semana cinco, y se incrementaron en las semanas posteriores, por lo tanto la diferencia pudo haberse dado, ya que el autor antes mencionado, luego de la primera inoculación, realizó una reinoculación a los 15 días a las plántulas de Gros Michel con el patógeno FOCCR1, lo que pudo haber aumentado la infección de FOCCR1, y por ende haber provocado la manifestación de síntomas de la enfermedad en la cuarta semana.

El nivel de daño (severidad) en las plántulas de bananos producidos por FOCCR1 en las distintas áreas vegetales varió, en donde el tratamiento T4 (herida en pseudotallo) mostró un nivel de daño mayor que los demás, mientras que los tratamientos T5 (herida en peciolo) y T6 (directa en peciolo) obtuvieron los promedios de severidad más bajos. Esto pudo haber ocurrido debido a que FOCCR1 se caracteriza por moverse ascendentemente a través de los haces vasculares del xilema, concentrando su infección en el pseudotallo donde ocurre el taponamiento de los haces vasculares, y por consiguiente provoca la deshidratación y muerte de la planta (Caballero, 2011).

Según Lara (2009), en su trabajo de investigación citado anteriormente, no se observaron diferencias estadísticas en las variables altura de planta y número de hojas con respecto a las inoculaciones radiculares realizadas con FOCCR1 frente a los testigos, obteniendo similitud con los resultados presentados en este proyecto de investigación, donde los tratamientos: directo al suelo y heridas en raíces no muestran diferencias estadísticas frente al tratamiento testigo. El tratamiento herida en pseudotallo, obtuvo los promedios más bajos con respecto a las variables altura de planta y número de hojas, mostrando inferioridad numérica frente a los demás tratamientos inoculados con FOCCR1 y al testigo. Esto debió haber ocurrido debido a que la inoculación hecha directamente en el

pseudotallo pudo haber acelerado la infección de FOCCR1, afectando la emisión foliar y su crecimiento. De acuerdo a Darce (2013), la concentración de la infección de FOCCR1 se desarrolla en el pseudotallo, donde provoca el taponamiento del xilema, reduciendo el paso de nutrientes y afectando su normal alimentación.

El control de patógenos del suelo es complejo, aún más cuando producen estructuras de resistencia, como lo hace FOCCR1 al producir las clamidosporas que le permiten sobrevivir por largos periodos de tiempo en el suelo. Se han desarrollado diferentes prácticas de manejo para controlar este patógeno, incluido el uso de químicos, pero FOCCR1 ha desarrollado resistencia (Zapata *et al.*, 2019). En la segunda fase de la presente investigación se empleó un protocolo propuesto por OIRSA en el año 2017 para la contención de “Marchitez por *Fusarium*” a partir de un foco inicial infeccioso de la enfermedad, el cual se basa en la delimitación, puesto de desinfección, ruta de entrada y salida, y erradicación de plantas enfermas. Este protocolo fue aplicado dentro de un lote de banano (lote 2) a raíz de un foco inicial infeccioso, el mismo que fue comparado con un lote testigo (lote 5), donde en el lote 2 no se registró ninguna planta con síntomas típicos de la enfermedad durante todo el periodo de evaluación, mostrando a su vez que el protocolo antes descrito fue efectivo al momento de controlar y contener la diseminación de la enfermedad, mientras que en el lote testigo si se evidenció la presencia de plantas enfermas provocadas por FOCCR1, obteniendo un total de 8 plantas con síntomas de la enfermedad hasta la culminación del ensayo. Al final de la evaluación en el lote testigo, los últimos tres meses la enfermedad se detuvo, y no se registraron plantas enfermas. Esto pudo haber ocurrido ya que de acuerdo a Caballero (2011), FOC se desarrolla bajo condiciones húmedas, y por otro lado, Moya (2006), manifiesta que los meses de mayor humedad son de diciembre a mayo, mientras que el resto del año la humedad es de menor intensidad, entonces la falta de humedad en los meses de junio, julio y agosto pudo haber frenado la diseminación de FOCCR1. Otra causa que pudo haber inferido en que la enfermedad se detuviera en los últimos tres meses de evaluación, es mediante el control de malezas, ya que de acuerdo a Azkolain (2016), FOC puede infectar las raíces de las malezas, ayudando a su dispersión y actuando como hospederas del patógeno, por lo tanto al controlar las malezas se redujo las fuentes de inóculo de la enfermedad, lo que pudo haber detenido temporalmente la diseminación de FOCCR1.

**CAPITULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones

- La vía de infección más efectiva de FOGR1 fue con la inoculación en el pseudotallo, presentando un nivel de severidad de 1.8, un periodo de incubación de 42 días y una incidencia del 100%.
- El tratamiento inoculado directamente en la hoja permaneció sano y sin presentar ningún tipo de sintomatología externa, mostrando un promedio de 1, respecto al nivel de daño provocado por FOGR1.
- Se evidenció la presencia de FOGR1 tanto en suelo, raíces, cormo, pseudotallo y peciolo con herida, excepto en el T6 (directa en peciolo) donde estuvo ausente.
- La mayor evolución de la infección de FOGR1 ocurrió en el tratamiento 2 (Inoculación en heridas en raíces), la misma que avanzó infectando las raíces, cormo y pseudotallo.
- La técnica de manejo propuesta por OIRSA para la contención de FOC empleada en uno de los lotes del cultivar de Gros Michel de la Estación Experimental Tropical Pichilingue fue efectiva, ya que no se registraron plantas enfermas durante todo el periodo de evaluación, mientras que en el lote testigo se encontraron un total de 8 plantas con síntomas típicos de FOGR1 hasta el término del ensayo.

## 5.2. Recomendaciones

- Continuar con la investigación sobre FOGR1, ya que hay muchas áreas, con respecto a su capacidad de infección donde se puede explorar e investigar para un mejor estudio y entendimiento de este patógeno.
- Evaluar la infección de FOGR1 en otras zonas del país, para determinar la agresividad del patógeno en cuanto corresponde a las condiciones agroclimáticas.
- Realizar una evaluación con un apropiado diseño experimental, para confirmar si se presenta el mismo resultado encontrado en esta investigación, con respecto a la aplicación del plan de contención de OIRSA.
- Extender el periodo de evaluación sobre el plan de contención, para evidenciar si este es fiable a largo plazo.
- Esta investigación podría tener aplicación para el manejo de FOGR4T, ya que ambas razas se caracterizan por presentar sintomatología similares, y aunque esta última raza se encuentra ausente en el Ecuador, se deben adoptar medidas preventivas en las bananeras para evitar o disminuir la posibilidad de ingreso del patógeno FOGR4T en las plantaciones del país, comenzando con los puestos de desinfección y la definición de una sola ruta de entrada y salida a la plantación.

**CAPITULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## 6.1. Bibliografía

- Agrocalidad. (2015). Instructivo de toma de muestra para el laboratorio de biología molecular- diagnóstico vegetal. Agrocalidad. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/tra4.pdf>.
- Agrocalidad. (2016). Plan Nacional de Contingencia para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc R4T). Agrocalidad. Obtenido de <http://web.agrocalidad.gob.ec/documentos/dvf/5aiiplandecontingenciacompletoc.pdf>.
- Agrocalidad. (2018). Manual de aplicabilidad de buenas prácticas agrícolas en banano. Pág. 5-6. Agrocalidad. Obtenido de <http://web.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/Manuales-de-aplicabilidad-de-BPA-para-Banano.pdf>.
- Azkolain, O. J. (2016). Biofumigación y Biosolarización para el manejo del mal de Panamá en la Platanera de Canarias. Canarias.
- Barzola, C. F. (2015). Estudio de la fertilización complementaria a base de extractos de algas marinas en el cultivo de banano (*Musa AAA*). Guayaquil.
- Caballero, H. Á. (2011). Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el biocontrol del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA) (Doctoral dissertation).
- Darce, R. A. (2013). Evaluación de la agresividad de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza I causante de la enfermedad Mal de Panamá en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero (Doctoral dissertation).
- De Waele, D., Carlier, J., y Escalant, J. V. (2002). Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas

foliares causadas por *Mycosphaerella* y nematodos (Vol. 6). Bioversity International.

Dita, M. A. (2014). La marchitez por *Fusarium* de las musáceas: Historia. Síntoma, importancia económica, estado actual de la raza tropical 4 y acciones regionales para la prevención de su entrada en las Américas. Obtenido de [http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/02\\_M\\_Dita\\_Taller\\_Changuinola\\_2014\\_a.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/02_M_Dita_Taller_Changuinola_2014_a.pdf).

Estupiñán, R. H., y Ossa, C. J. (2007). Efecto del agente causal de la marchitez vascular de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) el hongo *Fusarium oxysporum* schlecht, sobre algunas solanáceas y otras especies cultivadas afectadas por formas especiales del microorganismo.

FAO. (2016). Luchar contra la marchitez por *Fusarium* del banano. Crisis de la cadena alimentaria | Sistema de prevención de emergencias (FCC-EMPRES). Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-i5874s.pdf>.

Gonzabay, R. (2017). Cultivo del banano en el Ecuador. Revista Afese, 58(58).

Jeri, R., y Carlos, H. (2012). Consideraciones epidemiológicas para el manejo de la marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) del banano en la región central del Perú. Turrialba.

Laines, A. (2018). Banano ecuatoriano aún libre del mal de Panamá. Periódico El comercio. Pág. 1-1.

Lara, F. D. (2009). Aislamientos y pruebas in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) en banano. Obtenido de <http://www.sidalc.net/repdoc/A5224E/A5224E.pdf>.

Lara, F. D. (2009). Uso de bacterias endofíticas para el control biológico del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) en el cultivar Gros Michel (AAA) (Doctoral dissertation, CATIE).

- Luciano, M. (2013). Mal de Panamá *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4. México: LANREF - CP. Ficha Técnica No. 2.
- Ministerio de Comercio Exterior. (2017). Informe sobre el sector bananero ecuatoriano. Obtenido de <https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-esp%C3%B1ol-04dic17.pdf>.
- Moya, R. (2006). Climas del Ecuador. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología–INAMHI, 1-10.
- OIRSA. (2017). Plan de Contingencia ante un brote de la raza 4 Tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El Salvador.
- Pérez, V. L. (2014). Plan de contingencia para la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*: Factores críticos para América Latina y Caribe. Instituto de investigaciones de sanidad vegetal (INISAV).
- Sánchez, M., Carr, C., Alfaro, F., Villalta, R., Sandoval, J., & Guzmán, M. (2017). Mdarcearchitez por *Fusarium* o mal de Panamá del banano y otras musáceas. Sección de Fitoprotección, Dirección de Investigaciones CORBANA. Hoja divulgativa, (11-2017)
- SENASICA. (2016). Fusariosis de las musáceas (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 Tropical) (FocR4T). Última actualización, enero de 2019. Ficha Técnica No.2.29p
- Torres, G. A. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. Agronomía colombiana. Ficha Técnica vol. 7.
- Vistazo. (2019). Fuerte presencia mundial del banano ecuatoriano. Revista Vistazo. Pág. 1-1.

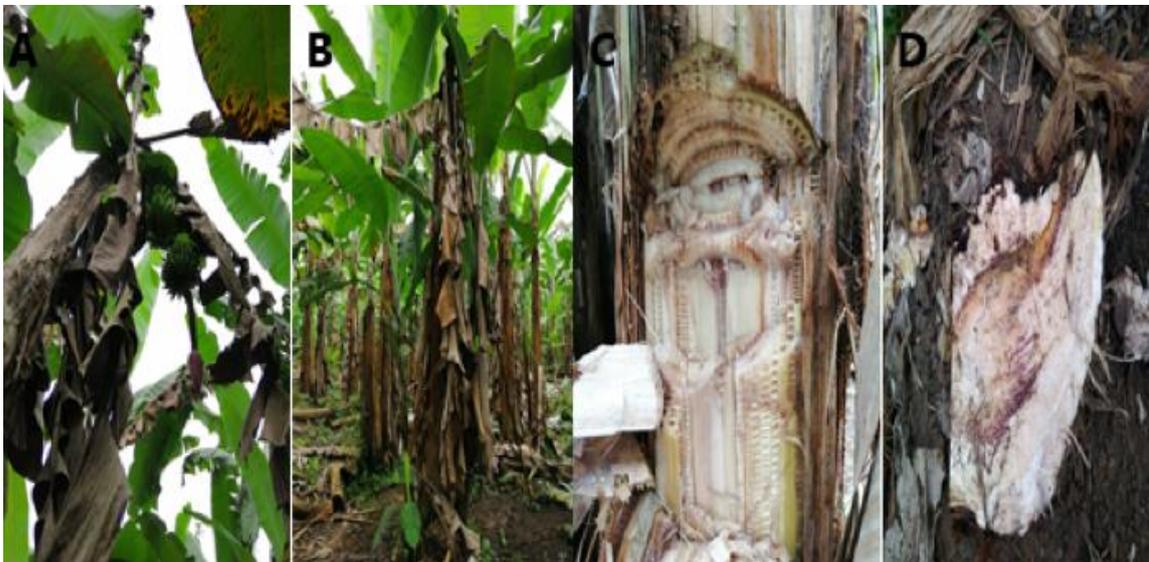
**CAPITULO VII**  
**ANEXOS**

## 1.1. Anexos

### Evidencias de la fase de campo



Anexo 1. Evaluación y marcación de las de plantas con síntomas de FOCR1 en la plantación establecida de Gros Michel en INIAP.



Anexo 2. Sintomatología típica de FOCR1 en banano presentada en el ensayo evaluado: A y B, síntomas externos. C y D, síntomas internos.

### Aplicación del Plan de contención de *Fusarium* bajo el protocolo de OIRSA



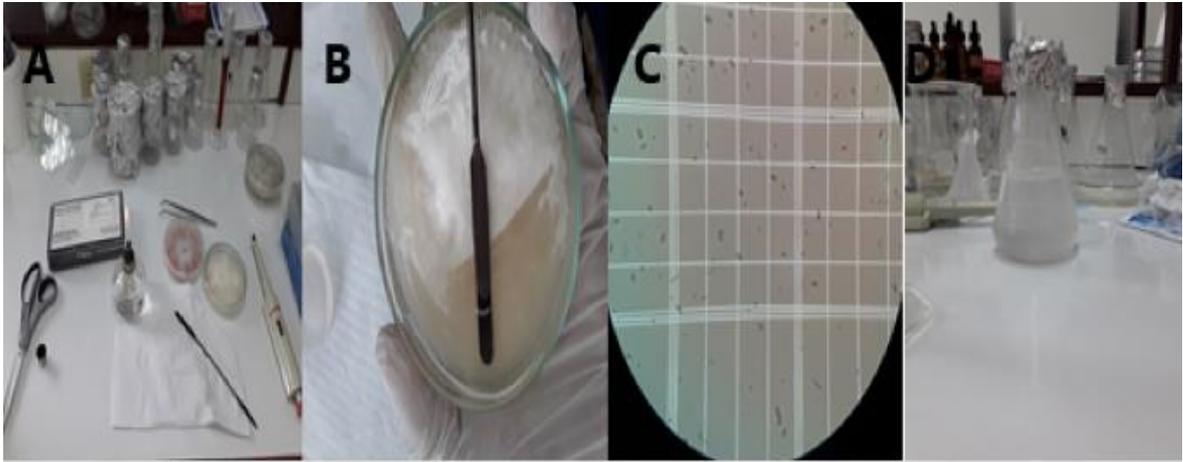
Anexo 3. A, erradicación de plantas de la zona A. B, entrada principal a la plantación de Gros Michel. C, puesto de desinfección para lotes varios.



Anexo 4. Zona roja del Plan de Contención para *Fusarium* en 3 y 10 meses respectivamente después de su aplicación.

## Fase de Laboratorio e invernadero

### Fase de laboratorio

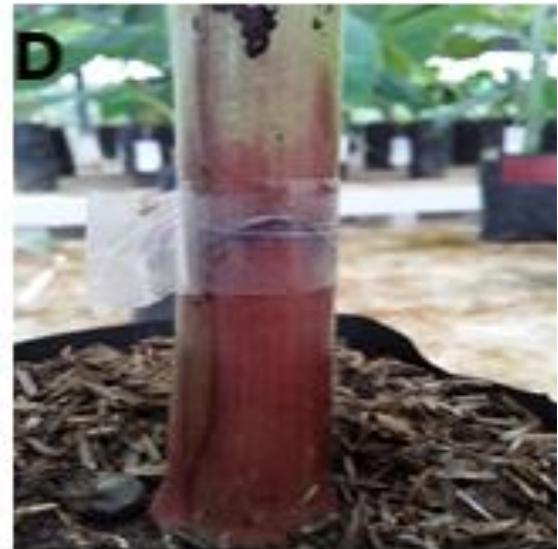


Anexo 5. Proceso de preparación del inóculo de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* raza 1. A, materiales. B, obtención del micelio. C, Conteo en el hemacitómetro. D, solución madre.

### Fase de invernadero



Anexo 6. A, Invernadero. B, establecimiento. C, Etiquetado del ensayo de inoculación de FOCR1.



Anexo 7. Inoculación de FOCR1 en plántulas de Gros Michel (Concentración de  $1 \times 10^6$ ). A, directa en suelo. B, en suelo más heridas en raíces. C, herida en corno. D, herida en pseudotallo. E, herida en peciolo. F, directa en peciolo.