

Selección temprana de la resistencia a marchitez por *Fusarium* raza 1 en mutantes del cultivar ‘Zanzibar’ (Grupo AAB, *Musa* spp.)

Barbarita Companioni-González^{1*}; Armando Rodríguez-García¹; José de La Caridad Ventura-Martín²; José C. Lorenzo-Feijoo³; Nayanci Portal-González⁴; Ramón Santos-Bermúdez⁴; Rómulo García-Velasco⁵

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; ²Instituto Nacional de Investigaciones en Viandas Tropicales, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba; ³Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez, Ciego de Ávila, Cuba; ⁴Universidad Técnica "Luis Vargas Torres" de Esmeraldas, San Mateo, Esmeraldas, Ecuador; ⁵Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, Tenancingo, Estado de México, México.

***Autor de**

Correspondencia:

Barbarita Companioni-González
bcompanioni2007@gmail.com

Contribución:

Científica

Sección:

Recursos Genéticos y
Mejoramiento

Recibido:

15 Diciembre, 2023

Aceptado:

15 Enero, 2024

Publicado:

16 Abril, 2024

Cita:

Companioni-González B, Rodríguez-García A, Ventura-Martín JdelaC, Lorenzo-Feijoo JC, Portal-González N, Santos-Bermúdez R, García-Velasco R. 2024. Selección temprana de la resistencia a marchitez por *Fusarium* raza 1 en mutantes del cultivar ‘Zanzibar’ (Grupo aab, *Musa* spp.). *Acorbat Revista de Tecnología y Ciencia* 1(1): 5
<https://doi.org/10.62498/ARTC.2405>

RESUMEN

En trabajos previos se desarrolló un método para la diferenciación a nivel foliar de la respuesta de plantas de banano a la marchitez por *Fusarium* raza 1 mediante la utilización de filtrados del cultivo del hongo. El objetivo de este trabajo consistió en realizar la selección temprana de la resistencia a marchitez por *Fusarium* raza 1 en mutantes del cultivar ‘Zanzibar’ (grupo AAB, *Musa* spp.) mediante el método de evaluación mencionado. Los resultados evidenciaron que las plantas de las líneas evaluadas del clon ‘Zanzibar’ irradiado indican ser materiales promisorios para el mejoramiento genético en el cultivo dirigido a la resistencia a esta enfermedad.

Palabras clave: biotecnología, enfermedad, filtrado del hongo, Genética.

ABSTRACT

In previous works, a method was developed for the differentiation at the foliar level of the response of banana plants to *Fusarium* race 1 wilt through the use of culture filtrate the fungus. The objective of this work was to perform early selection for resistance to *Fusarium* wilt race 1 in mutants of the 'Zanzibar' cultivar (group AAB, *Musa* spp.) using the evaluation method mentioned. The results showed that the plants of the evaluated lines of the irradiated 'Zanzibar' clone indicate that they are promising materials for genetic improvement in the crop aimed at resistance to this disease.

Keywords: biotechnology, disease, culture filtrate Genetic.



INTRODUCCIÓN

Los bananos y plátanos (*Musa* spp.) constituyen una importante fuente de alimento para una gran parte de la población mundial. Sin embargo, la producción de las musáceas se encuentra amenazada por la incidencia de enfermedades como la marchitez por *Fusarium*. Esta enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) representa una de las enfermedades más destructivas y de importancia económica en el género *Musa*. El control del patógeno vascular con el uso de agroquímicos resulta costoso y causa serios daños al medio ambiente (FAOSTAT, 2020). Por ello, en los últimos años se ha considerado al mejoramiento genético para la resistencia como la única forma de control efectivo y segura (Saraswathi *et al.*, 2016). En este sentido, la utilización de técnicas biotecnológicas en apoyo al mejoramiento genético para la resistencia a la marchitez por *Fusarium* en banano ha permitido introducir los resultados de la mejora con mayor rapidez; en comparación con los métodos del mejoramiento genético convencional (García *et al.*, 2021). Por otro lado, han permitido aumentar la eficiencia de los programas de mejoramiento genético en el cultivo (Saraswathi *et al.*, 2016). Ventura *et al.* (2015) mediante el uso combinado del cultivo de tejidos y la mutagénesis *in vitro* en ápices meristemáticos del cultivar ‘Zanzíbar’ (grupo AAB) obtuvieron una amplia variabilidad genética en el clon ‘Zanzíbar’ donde seleccionaron 15 mutantes. Las líneas ‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’ resultaron los mejores materiales promisorios para el mejoramiento genético en el cultivo por su alto rendimiento; por la eliminación de los cormos superficiales; por la disminución en la altura; y por el ahijamiento ordenado. El presente trabajo se realizó con el objetivo de realizar la selección temprana de la resistencia a marchitez por *Fusarium* raza 1 en mutantes del cultivar ‘Zanzíbar’ (grupo AAB, *Musa* spp.) obtenidos mediante técnicas biotecnológicas en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Interacción Planta – Patógeno del Centro de Bioplantas de la Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez”, Cuba. En la experimentación se utilizó un aislado de FOC raza 1 (perteneciente al grupo de compatibilidad vegetativa (GCV) [01210] procedente del cepario del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, Cuba. Las líneas evaluadas del clon ‘Zanzíbar’ (grupo AAB) fueron: ‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’. Las cuales fueron obtenidas en el programa de mejoramiento genético de *Musa* spp. que se desarrolló en el Instituto Nacional de Investigaciones en Viandas Tropicales de Santo

Domingo, Villa Clara, Cuba (INIVIT). En el cual mediante la utilización de radiaciones ionizantes (rayos gamma) en ápices meristemáticos del clon ‘Zanzíbar’, a partir del cultivo *in vitro* lograron la selección de 15 mutantes. Posteriormente, en condiciones de campo y durante tres ciclos vegetativos seleccionaron las líneas ‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’ como los materiales más avanzados para el mejoramiento genético en el cultivo (Ventura *et al.*, 2015). Como materia vegetal se utilizaron muestras foliares de las líneas ‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’ de ocho a nueve meses de plantadas en el Banco de Germoplasma de Banano del INIVIT. Para evaluar la resistencia y/o susceptibilidad a marchitez por *Fusarium* raza 1 se establecieron seis momentos de evaluación (cada dos meses en el mismo año del desarrollo de la experimentación).

Se realizó la colecta en campo de hojas sanas de mediana edad según la posición en la planta (hojas 3, 4 y 5) de cada línea a evaluar (‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’). En cada hoja se realizaron 18 punteaduras con una aguja estéril en el lado adaxial del limbo de la hoja con 3 cm de separación entre ellas; y en tres posiciones diferentes (distal, medio y proximal). Después del daño, se agregaron 5 μL del filtrado del cultivo del hongo (FC) y 5 μL del medio de cultivo sin el hongo; y concentrado (tratamiento testigo). Las hojas se incubaron durante 48 horas a 28 ± 2 °C, $56 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad luminosa, fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad y 70% de humedad relativa. Transcurridas las 48 horas se midió el área de las lesiones elíptica (mm^2) de las hojas de acuerdo a Companioni *et al.* (2003); y se extrajeron fragmentos de hoja con las lesiones elípticas de (5 x 5 cm) que se colocaron en nitrógeno líquido para los posteriores análisis bioquímicos (Figura 1). Se evaluaron los siguientes indicadores bioquímicos: actividad peroxidasa, niveles de pigmentos clorofílicos (a, b y totales), contenido de fenoles libres y ligados a las paredes celulares, malondialdehído, otros aldehídos y proteínas. Cada tratamiento incluyó tres hojas de plantas diferentes en cada línea evaluada (‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’). Se evaluaron las áreas de la lesión elíptica de 54 punteadura/tratamiento (18 punteadura/hoja) y cada determinación bioquímica implicó a tres muestras independientes (una de cada hoja).

Con las mediciones citadas se evaluó cada planta en las funciones discriminantes descritas por Companioni *et al.* (2005) para conocer si eran clasificadas correctamente. Los resultados obtenidos se compararon mediante la prueba paramétrica t-test para conocer si los resultados de cada función eran estadísticamente diferentes. La probabilidad máxima de cometer error de tipo I fue 0.05. En el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el utilitario *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS para Windows, versión 8).

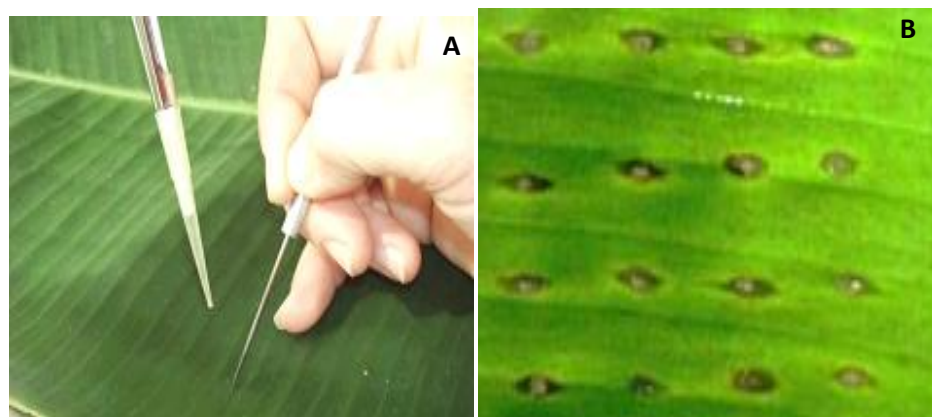


Figura 1. Procedimiento para evaluar la resistencia y/o susceptibilidad a marchitez por *Fusarium* raza 1 en mutantes del cultivar 'Zanzibar' (grupo AAB, *Musa* spp.). A) aplicación del filtrado de cultivo del hongo en el limbo de la hoja; y B) evaluación del área de la lesión, y corte de fragmentos para los análisis bioquímicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de la resistencia a marchitez por *Fusarium* raza 1 GCV [01210] en cada línea evaluada y en cada momento de evaluación según las funciones discriminantes se describen a continuación (Cuadro 1). Después de las 48 horas de la aplicación de los tratamientos descritos, y el posterior análisis bioquímico en las hojas de las líneas del clon 'Zanzibar' se pudo observar que las funciones discriminantes clasificaron como resistente al 93.3% de las plantas evaluadas del mutante 'Z 30' (56 plantas de 60).

Mientras, que en la línea 'Z 13' se clasificaron como resistentes el 91.6% de las plantas evaluadas (55 plantas de 60). Por último, en la línea 'Z 30A' se observó que las funciones discriminantes en este cultivar clasificaron al 96.6% de las plantas como resistente (58 plantas de 60). Los resultados evidenciaron que las líneas seleccionadas del clon 'Zanzibar' irradiado ('Z 13', 'Z 30' y el 'Z 30 A') pueden ser materiales promisorios para el mejoramiento genético en el cultivo, dirigido a la resistencia a FOC raza 1 GCV [01210], donde su resistencia osciló del 91.6 al 96.6%. Sin embargo, no se descarta la necesidad de continuar estudios adicionales en campo para verificar la resistencia en las líneas evaluadas. Por otro lado, aunque se realicen evaluaciones de la resistencia *in vitro*, las plantas supuestamente resistentes deben someterse a estudios en campo (Dita *et al.*, 2018). En este sentido, Saraswathi *et al.* (2016) realizaron la selección de los mutantes de banano del cultivar Rasthali (Silk, AAB) con resistencia

a la raza 1 del GCV [0124/5] de FOC mediante la selección *in vitro*. Para ello, utilizaron como agentes de selección toxina (ácido fusárico), y FC del patógeno.

Cuadro 1. Clasificación en susceptibles o resistentes hecha por las funciones discriminantes en las líneas seleccionadas del clon ‘Zanzíbar’ irradiado.

Momentos de evaluación	Líneas evaluadas	Número total de plantas evaluadas	Número total de plantas potencialmente resistentes según funciones discriminantes
1	‘Z-30’	10	10 (100%)
2	‘Z-30’	10	8 (80%)
3	‘Z-30’	10	9 (90%)
4	‘Z-30’	10	9 (90%)
5	‘Z-30’	10	10 (100%)
6	‘Z-30’	10	10 (100%)
1	‘Z-13’	10	8 (80%)
2	‘Z-13’	10	9 (90%)
3	‘Z-13’	10	9 (90%)
4	‘Z-13’	10	10 (100%)
5	‘Z-13’	10	10 (100%)
6	‘Z-13’	10	9 (90%)
1	‘Z-30A’	10	10 (100%)
2	‘Z-30A’	10	9 (90%)
3	‘Z-30A’	10	9 (90%)
4	‘Z-30A’	10	10 (100%)
5	‘Z-30A’	10	10 (100%)
6	‘Z-30A’	10	10 (100%)

Los brotes individuales de los mutantes de banano obtenidos después del tercer o cuarto subcultivo fueron transferidos al medio de cultivo de multiplicación, suplementado con diferentes concentraciones de la toxina (ácido fusárico comercial) (Sigma Aldrich, EE. UU.) (0.0125; 0.025; 0.0375; 0.05 y 0.0625 mM); y a las concentraciones de 3; 4; 5; 6; 7 y 8% del FC del patógeno. Además, añadieron el regulador de crecimiento. Después de tres semanas observaron el 50% de supervivencia de los explantes en la concentración de 0.050 mM de la toxina; y 7% con el FC del hongo. En concentraciones superiores observaron una rápida disminución en el crecimiento de los brotes de los mutantes de banano. A los tres meses siguientes, los mutantes seleccionados fueron transferidos para realizar las pruebas en macetas, en condiciones controladas mediante la inoculación al sustrato con una suspensión de esporas de 12×10^9 conidios mL⁻¹ del hongo. Posterior a los seis meses del proceso de evaluación de la resistencia obtuvieron tres mutantes putativos resistentes a la raza 1

de FOC. Los cuales fueron multiplicado *in vitro* de forma masiva para continuar otros estudios en la interacción. Es importante señalar que para el establecimiento de sistemas de selección de la resistencia constituye una prioridad la determinación de una concentración correcta del FC del patógeno o toxina; así como la determinación de la expresión de la actividad fitotóxica diferencial entre variedades. Ambos aspectos incrementan las posibilidades de obtener líneas estables de plantas con resistencia a las enfermedades (Portal *et al.* 2021). Como se puede mostrar, aunque se realicen selecciones *in vitro* las plantas supuestamente resistentes deben someterse a estudios en campo. Por otra parte, se evidencia la reducción del tiempo necesario de respuesta para conocer si una planta es resistente o susceptible (48 horas). Por último, permite evaluar un número importante de muestras en condiciones de laboratorio, y de esta manera acelerar los programas de mejoramiento genético a esta enfermedad. Lo cual evidencia el potencial de la biotecnología en el campo del mejoramiento genético en el cultivo.

CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que las líneas seleccionadas del clon ‘Zanzíbar’ irradiado (‘Z 13’, ‘Z 30’ y el ‘Z 30 A’) pueden ser materiales promisorios para el mejoramiento genético en el cultivo, dirigido a la resistencia a FOC raza 1 GCV [01210] donde su resistencia osciló del 91.6 al 96.6%. Sin embargo, no se descarta la necesidad de continuar estudios adicionales en campo para verificar la resistencia al patógeno raza 1.

REFERENCIAS

1. Companioni B, Arzola M, Rodríguez Y, Mosqueda M, Pérez MC, Borrás O, Lorenzo JC, Santos R. 2003. Use of *in vitro* culture-derived *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 filtrates for rapid and non-destructive differentiation of field-grown banana resistant from susceptible clones. *Euphytica* 130:341–347. <https://doi.org/10.1023/A:1023027604627>
2. Companioni B, Mora N, Díaz L, Pérez A, Arzola M, Espinosa P, Hernández M, Ventura J, Pérez MC, Santos R, Lorenzo JC. 2005. Identification of discriminant factors alter treatment of resistant and susceptible banana leaves with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* culture filtrates. *Plant Breeding* 124: 79–85. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00997.x>
3. Dita M, Barquero M, Heck D, Mizubuti ESG, Staver CP. 2018. *Fusarium* wilt of banana: Current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in Plant Science* 9: 1468. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01468>

4. FAOSTAT. 2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
5. García R, Portal N, Santos R, Rodríguez A, Companioni B. 2021. Mejoramiento genético para la resistencia a marchitez por *Fusarium* en banano. Revista Mexicana de Fitopatología 39 (1): 122-146. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2008-2>.
6. Portal N, Soler A, Ribadeneira C, Solano J, Portieles R, Herrera L, Companioni B, Borrás O, Santos R. 2021. Phytotoxic metabolites produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 2. Frontiers in Microbiology 12: 1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.629395>
7. Saraswathi M, Kannan G, Uma S, Thangavelu R, Backiyarani S. 2016. Improvement of banana cv. Rasthali (Silk, AAB) against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (VCG 0124/5) through induced mutagenesis: Determination of LD50 specific to mutagen, explants, toxins and *in vitro* and *in vivo* screening for *Fusarium* wilt resistance. Indian Journal of Experimental Biology 54: 345-353. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27319054/>
8. Ventura JC, López J, Rodríguez S, Medero V, González L, Ventura V, Vázquez D, Torres M, Montano N, Gálvez J, Valdés M, Triana O. 2015. Obtención de mutantes de porta bajo por irradiaciones en el cultivar ‘Zanzíbar’ (*Musa* spp, grupo AAB). Revista Agricultura Tropical 1 (1): 39-50.