

## Comportamiento agronómico de somaclones de Gross Michel (AAA) resistentes a *Fusarium oxysporum* var. *cubense* obtenidos con el empleo de la mutagénesis *in vitro*

Idalmis Bermúdez\*, Lidcay Herrera<sup>1</sup>, Pedro Orellana, Novisel Veitía, Carlos Romero, Justo Clavelo, L. García, Mayra Acosta, L. García R, Yeny Padrón. \*Autor para correspondencia

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní Km 5½, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. e-mail: idalbermudez@uclv.edu.cu

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní Km 5½, Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

### RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP) con el objetivo de evaluar el comportamiento agronómico de varios somaclones seleccionados en el laboratorio con posible resistencia o tolerancia al Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* var. *cubense*), razas 1 y 2, en el cultivar susceptible "Gross Michel" (AAA). Se estudió la respuesta de las vitroplantas después de las inoculaciones y reinoculaciones con los aislados del hongo durante cuatro fases de desarrollo. Luego de varios ciclos de selección en viveros con sustrato infectado y en dos zonas a campo abierto con alta incidencia del patógeno, se plantaron en campo 21 selecciones en fases de estudio clonal. Estos se evaluaron durante dos ciclos de cosecha, seleccionándose nueve somaclones que presentaron índices de infección en el campo inferior al 30%. Los somaclones seleccionados como resistentes y con características agronómicas favorables, se micropropagaron y fueron evaluados en estudios replicados, de ellos tres somaclones (IBP 5-61, IBP 5-B e IBP 12) mantuvieron sus características agronómicas y de resistencia muy promisorias.

Palabras clave: *Musa* sp., variación somaclonal

### ABSTRACT

The present work was realized in the Institute of Plant Biotechnology (IBP) with the objective to evaluate the agronomical behavior of several somaclons selected in the laboratory with possible resistance or tolerance to Panama Disease (*Fusarium oxysporum* var. *cubense*), races 1 and 2, from susceptible clone "Gross Michel" (AAA). We studied the answer of the vitroplants after the inoculations and reinoculations with different isolates of fungus during four development cycles. After several cycles of selection in nurseries with contaminated substrate and in two zones of open field with high incidence of the pathogen, selections in the clonal study phase were planted in field 21. These were evaluated during two cycles of harvest, selecting, nine somaclons which presented infection index in the field inferior to 30 %. The somaclons selected as resistant and with favorable agronomic characteristics were micropropagated and evaluated in a yield study, of them three somaclons (IBP 5-61, IBP 5-B and IBP 12) maintained their very promissory agronomic characteristics and resistance.

Key words: *Musa* sp., somaclonal variation

### INTRODUCCIÓN

La producción mundial de plátanos y bananos es bastante difícil en los últimos tiempos, debido a la alta incidencia de hongos, especialmente *Mycosphaerella fijiensis* y *Fusarium oxysporum* var. *cubense* agentes causales de la Sigatoka negra y el Mal de Panamá respectivamente (Perea, 1998).

Según Stover (1962), en Cuba, la enfermedad del Mal de Panamá era predominante en los clones Manzano (Subgrupo Silk) y Gross Michel. Desde entonces, estos clones han sido cada vez más atacados hasta su total desaparición de los mercados (Batlle y Pérez, 1999). Los avances logrados en los últimos años en la lucha contra estas enfermedades se han orientado hacia el

Mejoramiento Genético, con la integración de técnicas biotecnológicas como la inducción de mutaciones, Embriogénesis Somática, Cultivo de Células, Protoplastos y la Ingeniería Genética. Es así como varios grupos de investigadores a nivel mundial realizan esfuerzos para aumentar la variabilidad genética la cual constituye una alternativa de gran importancia para la selección de clones que presenten resistencia a las enfermedades que atacan a las *Musaceas*.

Siguiendo la línea del uso de los métodos de mejoramiento a través de técnicas biotecnológicas, en este trabajo se realizó el estudio en condiciones de campo del comportamiento

agronómico y ante la enfermedad en somaclones de Gross Michel resistentes al Mal de Panamá obtenidos con el uso de agentes mutagénicos físicos.

## MATERIALES Y METODOS

El procedimiento general para la introducción del material vegetal en el laboratorio fue el descrito por Orellana *et al.* (1991). Los brotes obtenidos para la inducción de yemas adventicias se colocaron en un medio MS modificado con dosis de 6 Bencil aminopurina (6 BAP) 20 mg.l<sup>-1</sup> y ácido indolacético (AIA) 0.65 mg.l<sup>-1</sup>. Las yemas adventicias fueron irradiadas con dosis de 25 Gy de radiaciones Gamma, fuente <sup>60</sup>Co. Se obtuvo una población de 5 000 vitroplantas, las que fueron inoculadas, siguiendo la metodología de Herrera *et al.* (1999). Una vez concluido este proceso, las vitroplantas se plantaron en canteros que contenía suelo orgánico infectado con restos de plantas enfermas por *F. oxysporum* var. *cubense*. Después de 60 días las vitroplantas que no presentaron síntomas de amarillamiento foliar, fueron reinoculadas y a los seis meses, se trasplantaron a un campo infectado por el patógeno, para evaluar la incidencia de la enfermedad. Se seleccionaron 21 somaclones que fueron multiplicados *in vitro* hasta obtener 100 individuos de cada uno y así conformar una línea clonal. Con cada

una se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente hasta la fase de cantero. Para la selección en cantero y en campo sobre cada línea clonal, se estableció como criterio del nivel de resistencia, la siguiente escala propuesta por Hwang (1991) y Modificada por los autores (Tabla 1). De los somaclones que clasificaron hasta el grado 3 de la escala en canteros, se trasplantaron 60 plantas sanas a la Estación Experimental de Remedios sobre suelo Ferralítico Rojo Típico bajo condiciones de infección natural para su estudio en la fase clonal, donde se evaluó su comportamiento agronómico y ante la enfermedad a nivel de campo. Posteriormente los estudios replicados se llevaron a cabo en las Empresas de cultivos Varios de "Quemado de Guines" y "La Cuba" de Ciego de Ávila. Se evaluaron los componentes más importantes del rendimiento como fueron: el peso del racimo, número de manos por racimo así como el número de dedos por racimo y otros caracteres cualitativos importantes como el ciclo de crecimiento, altura de la planta, diámetro del pseudotallo, resistencia al desgrane de los dedos maduros, según el Descriptor INIBAP (1996).

El procesamiento estadístico de los datos en las diferentes variables analizadas consistió en un análisis de varianza de clasificación simple, denominado ONEWAY.

Tabla 1, Escala propuesta por Hwang (1991) y modificada por los autores para la evaluación de la incidencia de *F. oxysporum* var. *cubense* en cantero y en condiciones de campo.

Valor de escala	Rango de infección (%)	Grado de Resistencia
1	0 - 10	Altamente Resistente (AR)
2	11 - 20	Resistente (R)
3	21 - 30	Medianamente Resistente (MR)
4	31 - 40	Medianamente Susceptible (MS)
5	41 - 50	Susceptible (S)
6	+ 50	Altamente Susceptible (AS)

Tabla 2, Porcentajes de infección de los somaclones de Gross Michel (AAA) seleccionados en condiciones de campo frente a *Fusarium oxysporum* var. *cubense*.

Código	% de plantas enfermas en campo	Grado de resistencia
IBP 5 - 42	0.2	AR
IBP 5 - 6	2.5	AR
IBP 5 - 61	3.0	AR
IBP 5 - B	3.2	AR
IBP 12	3.2	AR
IBP 13 - A	3.3	AR
IBP 5 - 66	4.0	AR
IBP 5-5	5.5	AR
IBP 13 - B	12.5	R
Gros Michel	43.0	S

Para determinar los grupos homogéneos y/o significativamente diferentes, a un nivel de 5%, se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan o la prueba no paramétrica de comparación de medias Dunnett' C a través del paquete estadístico SPSS/PC ver 9.00 para Windows, según correspondiera.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el trabajo se partió de 5000 vitroplantas, que fueron sometidas a un riguroso proceso de selección frente al patógeno. Las mismas mostraron diferentes respuestas tanto a nivel de cantero como en el campo en el primer y segundo ciclo de selección.

Como resultado final del proceso, al evaluar las 21 líneas seleccionadas en un campo de infección natural, nueve de ellas alcanzaron categorías de resistencia según la escala utilizada (Tabla 1) de las cuales ocho presentaron el grado uno en la escala (AR) y una con el grado 2 (R). Los controles alcanzaron niveles de infección superiores al 40%, lo cual evidenció el nivel de infección del patógeno en el suelo y la resistencia en los somaclones seleccionados (Tabla 2).

En los últimos años se han obtenido, utilizando las técnicas de la inducción de mutaciones en banano y plátano varios somaclones resistentes al Marchitamiento por *Fusarium* (Hwang, 1991).

Tabla 3, Comparación de los caracteres agronómicos entre los somaclones resistentes a *F. oxysporum* var. *cubense* derivados del cultivar Gross Michel obtenidos con el empleo de la mutagénesis *in vitro*.

Somaclón	Ciclo De Crec. (meses)	Altura de la planta (cm)	Diámetro del Pseudotallo (cm)	Peso del Racimo (Kg)	Número de manos/ racimo	Número de Dedos / racimo
IBP13-A	16.8	332.5 c	55.10 cd	14.02 ab	7.8 bcd	108.2 abc
IBP13-B	16.5	343.4 bc	58.15 bcd	10.42 b	8.5 abc	108.4 abc
IBP 5-6	17.0	368.5 abc	62.30 abc	11.84 b	8.8 abc	119.6 a
IBP 5-5	18.0	370.6 ab	59.30 bcd	13.57 ab	9.0 ab	113.4 ab
IBP5-66	18.0	387.5 a	63.40 ab	14.52 ab	9.3 a	117.2 ab
IBP5-61	15.0	353.5 abc	54.50 cd	15.89 a	9.0 ab	116.4 ab
IBP5-42	15.5	335.7 bc	53.40 d	10.88 b	7.5 d	100.0 c
IBP 5-B	17.0	343.3 bc	59.20 bcd	17.05 a	9.0 ab	120.5 a
IBP 12	17.0	336.0 bc	59.95 bcd	16.82 a	8.6 abc	114.0 ab
G. Michel	17.0	359.0 abc	67.60 a	16.92 a	8.9 ab	103.5 bc
EE	-	±3.76	±0.85	±0.41	±0.13	±1.50

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan o Dunnett' C para  $p < 0.05$ .



Figura 1, Afectaciones en el pseudotallo ocasionada por *Fusarium oxysporum* var. *cubense* en el cultivar Gross Michel. (De izquierda a derecha Control y somaclón IBP 5-61).

En cuanto a los caracteres agronómicos evaluados en los somaclones del cultivar Gross Michel (Tabla 3) se destacaron por su comportamiento agronómico superior al control el somaclón IBP 5-61 por presentar un ciclo vegetativo más precoz (15 meses) que la variedad donante, logró además una maduración del racimo muy uniforme; y solo alcanzó un 3% de infección por el patógeno (Figura 1). Otro somaclón con características promisorias fue el IBP 5-B que logró un ciclo vegetativo similar al control de Gross Michel, un buen peso del racimo y un mayor número de dedos/racimo, siendo estos de mayor tamaño y resistencia mantenida en condiciones de campo, con solo un 3.2% de infección por el patógeno. En el caso del somaclon IBP-12, este logró características similares al testigo en cuanto al peso del racimo y el número de manos/racimo, pero desarrolló un mayor número de dedos/racimo y estos fueron más largos; y alcanzó un 3.2% de infección por el patógeno en condiciones de campo.

El resto de los somaclones lograron niveles de infección por el patógeno bajos, pero no presentaron caracteres de rendimiento y ciclo de desarrollo favorables. Fueron casos distintivos los somaclones IBP 5-42 y el IBP 5-6 que alcanzaron los valores de infección más bajos, pero tenían los menores valores en cuanto al peso del racimo. Los somaclones IBP 5-66, IBP 13-A, IBP 13-B y el IBP 5-5 lograron una maduración con desgrane prematuro de los dedos que los convirtió en indeseables para la producción. Sobre esto último es importante destacar que plantas con alta resistencia no siempre tienen un buen comportamiento agrícola y de rendimiento.

Resultados similares a los nuestros obtuvieron Hwang *et al.* (1991) quienes lograron varios somaclones que eran altamente resistentes a *F. oxysporum*, pero todos fueron variantes morfológicas con combinación de caracteres agronómicos inferiores a la variedad original. La frecuencia de adaptantes se reporta muy superior a la de mutantes en el orden de 100 a 1000 veces (Meins, 1983 citado por Pérez, 1998). Por lo que

en la práctica muy pocas plantas han llegado a tener valor comercial (van den Bulk, 1991; Remotti, 1998).

## CONCLUSIONES

A través de este trabajo se hacen evidentes las posibilidades de la utilización de la mejora por mutaciones empleando las técnicas biotecnológicas en plátanos y bananos, existiendo en la actualidad tres somaclones (IBP 5-61, IBP 12, IBP 5-B) que han manifestado resistencia a *Fusarium oxysporum* y buen comportamiento agronómico en el cultivar Gross Michel; teniendo este resultado un gran valor práctico.

## REFERENCIAS

- Battle, A y Pérez LV (1999) Grupos de compatibilidad vegetativa de las poblaciones de *F. oxysporum* Schlecht f. *sp. cubense* (E. F. Smith) and Hans. presentes en Cuba. INFOMUSA 8(1): 22-23
- Herrera, HI, Bermúdez IC, Orellana PP, Acosta MS, Veitia NR, García LR, Romero CQ y García LR (1999) Mejora para la resistencia al Mal de Panamá en los clones de banano "Manzano" y "Gross Michel" mediante el cultivo de tejidos y la mutagénesis *in vitro*. Centro Agrícola 26 (3): 23-25
- Hwang SC (1991) Somaclonal resistance in Cavendish Banana to *Fusarium* wilt. Plant. Prot. Bull. (Taiwan) 33: 124-132
- Orellana PP, Pérez JN, Agramonte DP, Gómez RK, Jiménez EG (1991) La micropropagación del plátano a escala comercial en Cuba. ACEVIC. Boletín Científico 3 (3): 29-38
- Perea D. M (1998) Consideraciones biotecnológicas para el mejoramiento en *Musáceas*. En: Giraldo CM, Belalcázar CS, Cayón SD, Botero IR (Eds) Memorias del Seminario Internacional sobre producción de Plátano, pp. 63-70. Armenia, Quindío, Colombia
- Pérez J. P (1998) Variación Somaclonal. En: Pérez JP (Ed) Propagación y Mejora genética de Plantas por Biotecnología, pp 105-121
- Remotti P. C (1998) Somaclonal Variation and *in vitro* selection for Crop Improvement. En: Mohan JS, Brar DS, Ahloowalia BS (Eds) Somaclonal Variation and *in vitro* selection for Crop Improvement. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, pp 169-201
- Stover R.H (1962) Fusarial wilt (Panama disease) of bananas and other *Musa* species. Phytopathological Paper 4. CMI. 117 pp.
- van den bulk R.W (1991) Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding. Euphytica 56: 269-285