

Herramientas biotecnológicas para el combate de la raza 4 Tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* en *Musa* spp.

Idalmis Bermúdez-Caraballoso. *Autora para correspondencia

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: idalmis@ibp.co.cu

RESUMEN

El Mal de Panamá causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*Foc*) es una de las enfermedades más nocivas que ataca a las musáceas a nivel mundial. La raza 1 causó una epifitía que destruyó la industria de exportación bananera basada en el cv. 'Gros Michel' (*Musa* AAA) en América, así como la desaparición del cultivo comercial del cv. 'Manzano' (*Musa* AAB) en Cuba. La raza 4 Tropical de *Foc* (TR4) se reconoció por primera vez en 1990 en Taiwán, donde causó serios daños en los estándares para la exportación en los cultivos del subgrupo Cavendish en varios países del Sudeste de Asia. Lo más preocupante es que más del 80% de los cultivares de banano que se producen a nivel mundial son susceptibles a esta raza, por lo que representa una amenaza potencial para los países productores de América Latina y el Caribe donde aún no ha llegado el patógeno. La presente revisión se realizó con el objetivo de presentar las posibles implicaciones de la entrada a Cuba de la raza 4 Tropical de *Foc* y las estrategias para prevenir futuras afectaciones ocasionadas por la enfermedad. Incluye aspectos relacionados con la sintomatología de la enfermedad, mecanismos de infección, complejidad patogénica y dispersión del patógeno así como varias herramientas biotecnológicas para el combate de la enfermedad entre las que se destacan: resistencia varietal, inductores de resistencia y el desarrollo de cultivares tolerantes.

Palabras clave: bananos, enfermedades fúngicas, *Fusarium oxysporum*, plátanos, resistencia varietal

Biotechnological tools against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tropical race 4 in *Musa* spp.

ABSTRACT

Panama disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*Foc*) is one of the most damaging diseases attacking *Musa* worldwide. Race 1 caused an epidemic that destroyed the banana export industry based cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA) in America as well as the disappearance of commercial production of cultivar 'Manzano' (*Musa* AAB) in Cuba. The *Foc* tropical race 4 (TR4) was first recognized in 1990 in Taiwan, causing serious damage to the standards for the export crops sub Cavendish group in several countries in Southeast Asia. Most troubling is that over 80% banana cultivars produced worldwide are susceptible to this race, and thus represents a potential risk for producing countries of Latin America and the Caribbean where threat has not yet reached the pathogen. This review was conducted with the aim of presenting the possible implications of the entry into Cuba of tropical race 4 of Panama disease and strategies to prevent future damages caused by the disease. Include aspects of the symptomatology of the disease, mechanisms of infection, pathogenic complexity and dispersion of the pathogen as well as several biotechnological tools against the disease among which are: varietal resistance, resistance inducers and development of tolerant cultivars.

Key words: bananas, fungi disease, *Fusarium oxysporum*, plantains, varietal resistance

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

SINTOMATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD

AGENTE CAUSAL

Mecanismo de infección

Complejidad patogénica del hongo

Dispersión del patógeno

ESTRATEGIAS PARA EL COMBATE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Foc*

Resistencia varietal en *Musa* spp. a *Foc*

Inductores de resistencia

Herramientas biotecnológicas en el desarrollo de cultivares tolerantes a *Foc* TR4

CONCLUSIONES

INTRODUCCIÓN

La marchitez por *Fusarium* o Mal de Panamá causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) es una de las enfermedades más ampliamente distribuidas e históricamente importantes de los bananos y plátanos a nivel mundial. El patógeno tuvo su origen en el sudeste asiático, aunque la enfermedad había sido reconocida por primera vez en otros lugares, y ha co-evolucionado junto a las musáceas en su centro de origen (Bentley *et al.*, 1998). Se calcula en más de 80 000 ha de cultivo del cultivar 'Gros Michel' (*Musa* AAA) destruidos por la raza 1 entre 1890 y mediados de la década de los cincuenta del pasado siglo, solo en las grandes empresas exportadoras (Ploetz, 2005), lo que determinó su sustitución por cultivares del subgrupo Cavendish (*Musa* AAA).

Pérez-Vicente *et al.* (2009), refieren que el primer informe oficial en Cuba sobre la marchitez por *Fusarium* fue en 1910; sin embargo, señalaron que desde el 1915 se informó que el cultivar 'Gros Michel' (AAA) y el 'Manzano' (subgrupo Silk, AAB) se encontraban severamente afectados antes de 1910. Estos investigadores comentaron la existencia de antecedentes de incidencia de la enfermedad en el cultivar 'Manzano' desde finales del siglo XIX.

En aquel momento, la única medida practicada para el control y manejo de la enfermedad consistía en la destrucción de las plantas afectadas y la quema de sus residuos, hasta que comenzó su sustitución paulatina por el cultivar 'Robusta' (subgrupo Cavendish, *Musa* AAA), al que localmente se nombró *Inmune* por su resistencia al Mal de Panamá. A partir de la sustitución del 'Gros Michel' por cultivares del subgrupo Cavendish y el cultivo masivo de cultivares de plátanos AAB, la marchitez por *Foc* perdió su importancia económica en Cuba, y quedó confinada a las pequeñas parcelas de agricultores y jardines de viviendas, donde *Foc* se mantenía sobre plantas de los cultivares 'Burro Criollo' ('Bluggoe', *Musa* ABB) y 'Manzano' (*Musa* AAB).

La confianza en que el Mal de Panamá no afectaría a las cultivares Cavendish fue

descartada a principio de los años 90 (Ploetz, 2004; Ploetz, 2005). Nuevas plantaciones de Cavendish comenzaron a mostrar severas afectaciones en Asia Sur-Oriental, el centro de origen de los bananos. Esta fue la primera vez que el daño a los cultivares de Cavendish fue observado en las zonas tropicales en la ausencia de factores de predisposición (Ploetz, 2006).

Los cultivares del grupo Cavendish eran afectados principalmente en la región este del subtropical (Ploetz, 1990). Por décadas, las pérdidas han ocurrido en Australia subtropical (Nuevo Gales del Sur y Queensland), las Islas Canarias y de Madeira, y Suráfrica (Natal y Transvaal). Se llegó a afirmar que los cultivares Cavendish eran afectados por la enfermedad cuando las plantas eran predisuestas, por bajas temperaturas en el subtropical o por factores edáficos en las zonas tropicales. En suelos fértiles de las zonas tropicales occidentales los Cavendish continuaron bien por más de cuatro décadas después de substituir al 'Gros Michel'. Puesto que muchos de estos suelos estaban infestados con las poblaciones de *Foc* que habían destruido el 'Gros Michel', se pensó que *Foc* era incapaz de transformarse para ser virulento en el grupo Cavendish.

La primera epifitía de *Foc* que afectaba a plantaciones de plátano Cavendish en Taiwán fue divulgada en 1967 y la declinación de la industria comenzó en 1970 (Molina, 2009). Este autor señala, además, que los primeros informes de daños en otros países en Cavendish se originaron en Indonesia y Malasia en 1992, Australia en 1993, en el Sur de China desde 1996 y en Filipinas en 2008.

La raza 4 tropical de *Foc* (TR4) se reconoció por primera vez en 1990 en Taiwán. Causó serios daños en los estándares actuales para la exportación, en los cultivos del subgrupo Cavendish en varios países del Sudeste de Asia. Un brote de la enfermedad fue informado recientemente en Jordania y Mozambique, lo cual resulta una seria amenaza para su propagación hasta América Latina y el Caribe (Butler, 2013). TR4 tiene una amplia tasa de hospederos. Más del 80% de los cultivares de banano que se producen a nivel mundial son susceptibles, incluyendo

el subgrupo de plátano (*Musa* AAB), importantes bananos de cocción AAA y ABB, y diversos tipos AA, AB, AAA, así como los bananos de postre tipo AAB (Ploetz, 2009).

Hasta el momento TR4 no ha sido informada en América, pero se especula que su llegada tendría un impacto comparable a los causados por la raza 1 en la primera mitad del siglo pasado (Dita *et al.*, 2009).

La desaparición del 'Gros Michel' en Centro América debido al Mal de Panamá, es una experiencia a seguir como alerta sobre la amenaza potencial de la TR4. Aunque se reconoce que el *Foc*, particularmente la TR4 es una amenaza real y significativa para la industria bananera, particularmente para el sistema de monocultivo de la industria comercial del Cavendish, la situación es ahora muy diferente comparada con la era del Mal de Panamá. Un punto principal de preocupación es la capacidad del patógeno *Foc* para sobrevivir en el suelo por un largo período de tiempo y la ausencia de un tratamiento efectivo para destruirlo. Hoy en día, contrario a la era de 'Gros Michel', no existen en los países bananeros suficientes áreas nuevas para establecer nuevas plantaciones (OIRSA, 2009).

Por otra parte, con la aparición de la TR4 de *Fusarium*, que es capaz de atacar los cultivares del subgrupo Cavendish representa una seria amenaza para la industria bananera de la región, ya que casi el 100% de las exportaciones se basa en el subgrupo Cavendish. En la actualidad la TR4 de *Foc* con los grupos de compatibilidad vegetativa (VCG 01213-01216), se ha diseminado rápidamente en Asia-Pacífico, con fuerte impacto en la producción de Cavendish; además afecta a genotipos que representan a más del 80% de la producción de musáceas en América Latina y el Caribe. La entrada potencial de este patógeno más algunos factores que determinaron la epifitía de Raza 1 de *Foc* están aún presentes, por lo que su entrada en América puede tener un gran impacto económico y social para la industria de musáceas en la región (Pocasangre y Pérez-Vicente, 2009).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de presentar una revisión de literatura

científica relacionada con la amenaza potencial que representa la entrada a Cuba de la raza 4 tropical de *Foc* y las estrategias para prevenir futuras afectaciones ocasionadas por el patógeno. Incluye varios aspectos relacionados con la sintomatología de la enfermedad, mecanismos de infección, complejidad patogénica y dispersión del patógeno así como varias estrategias para el combate de la enfermedad.

SINTOMATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD

El Mal de Panamá es considerado como una enfermedad clásica de marchitamiento vascular, al causar la disrupción del sistema de translocación de agua, provocar síntomas foliares sistémicos y el colapso final de las plantas afectadas. La infección inicial ocurre cuando el patógeno invade el tejido vascular (xilema) de las plantas a través de las raíces y provoca su decoloración y marchitamiento (Ploetz, 2005).

Los síntomas típicos en las plantas afectadas se caracterizan por presentar externamente una coloración ligeramente amarillenta en las hojas más viejas de la planta, con mayor grado en los márgenes de estas, la cual se convierte en una necrosis. Se puede observar también, el desarrollo de una rajadura longitudinal de la porción más baja de las vainas foliares del pseudotallo. A medida que la enfermedad va aumentando en intensidad, las hojas más jóvenes se tornan también amarillas y mueren. Las hojas colapsan de forma gradual en la unión del pecíolo con el pseudotallo, quedando colgadas a su alrededor en forma de falda. En su interior las plantas afectadas presentan inicialmente síntomas en los vasos del xilema de las raíces y el rizoma, estos se tornan de color café rojizo a marrón a medida que el patógeno se va desarrollando a través de los tejidos, llegando a observarse también en el pseudotallo esta misma decoloración en los vasos afectados. En el caso del fruto, no se han observado síntomas típicos de la enfermedad. Es necesario mencionar que los hijuelos de banano menores de tres meses, no desarrollan síntomas visibles de marchitamiento por *Foc* y este es un factor que ha contribuido a la diseminación del patógeno hacia otras regiones, cuando estos

materiales asintomáticos han sido utilizados como material vegetal de siembra (Sotomayor, 2012).

De acuerdo con Dita *et al.* (2013) no existen diferencias en la sintomatología que ocasionan las diferentes razas de *Foc* en *Musa*. Este es otro problema que se adiciona al no poder distinguir entre las razas 1 y 2 que afectan al 'Gros Michel' (*Musa* AAA), 'Manzano' (*Musa* AAB), 'Pome' (*Musa* AAB), 'Pisang awak' (*Musa* ABB) y 'Bluggoe' (*Musa* ABB) respectivamente, de la raza 4 que afecta además al subgrupo Cavendish (*Musa* AAA) (Pérez Vicente *et al.*, 2014).

AGENTE CAUSAL

Mecanismo de infección

Las esporas de *Foc* pueden persistir en el suelo por largos períodos de tiempo, germinar y crecer en las raíces de las plantas hospederas. La infección inicial ocurre en los pelos radicales procedentes de la raíz más larga y vía cortex llega hasta los vasos del xilema (Ploetz, 2005). El micelio se ramifica y produce microconidios, los cuales germinan y penetran a través de las perforaciones del xilema, invaden los vasos cercanos y prosiguen con la infección. La planta produce geles y tilosa como un mecanismo de defensa para prevenir la infección, entran al rizoma, lo cual provoca un bloqueo y déficit en el suministro de agua a las hojas y tallos de la planta (Swarupa *et al.*, 2014).

Complejidad patogénica del hongo

La variabilidad de las poblaciones de *Foc* ha sido diferenciada en base a su patogenicidad (han sido descritas tres razas de *Foc* que afectan *Musa* spp.), grupos de compatibilidad vegetativa (21 VCGs) y patrones de RFLP (nueve linajes o familias de VCG). La raza 1 afecta al 'Gros Michel' y 'Manzano', la raza 2, ataca más intensamente el 'Bluggoe' y la raza 4 afecta al Subgrupo Cavendish, así como también a muchos otros cultivares susceptibles y resistentes a las razas 1 y 2.

Los aislados tropicales, Cavendish-competentes pertenecen al grupo de compatibilidad vegetativa 01213-01216, los

cuales fueron originalmente identificados en Taiwán y son ahora también conocidos en Australia (Territorio del Norte), las islas en Indonesia (Halmahera, Irian Jaya, Java, Sulawesi y Sumatra), y en Malasia peninsular (Ploetz, 2005).

El rol que juegan los VCG 01213-01216 en las epifitias en Taiwán no ha sido bien determinado ya que otros tres grupos existen allí, VCGs 0120-01215, 0121, y 0123. Sin embargo, el clima tropical en Taiwán y la importancia de la enfermedad en los Cavendish sugieren que VCG 01213-01216 pueda ser el más significativo. Una revisión más cercana sobre la situación respecto a la resistencia que se ha desarrollado en Taiwán en las variantes somaclonales del 'Cavendish Gigante', obtenidas por cultivo de tejidos denominadas GCTCVs. Hasta la fecha, no se sabe qué VCGs predomina en el Cavendish en Taiwán, o qué VCGs impacta a las variantes somaclonales GCTCVs (Ploetz, 2006).

Las poblaciones del patógeno en Cuba corresponden a los GCV 01210 pertenecientes a la raza 1 y están presentes en 'Manzano' y 'Gros Michel', y los GCV 0124, 0124-0125 y 0128, corresponden a la raza 2 (Batle y Pérez, 2001) y están presentes en 'Burro Criollo' (*Musa* ABB), 'FHIA 03' (*Musa* AABB) y 'Pisang Awak' (*Musa* ABB).

En un estudio reciente desarrollado en China por Fang (2013), se informa sobre el ordenamiento y análisis del genoma del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en las razas 1 y TR4. Este investigador informa del análisis comparativo de la genómica de estas dos razas de *Foc* con el *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*) y el ensayo de una lista de genes caracterizando la diferencia entre *Foc* raza 1 y *Foc* raza 4, lo cual muestra una asociación potencial con patogenicidad cultivar-específica que puede ser la base del amplio rango de hospederos de la raza 4. Se indica que en un futuro cercano se investigarán los perfiles de la expresión del transcriptoma de *Foc* raza 1 y *Foc* raza 4 antes y después de infectar las variedades de tipo Cavendish, para descubrir la base genética de la especificidad del hospedero (formas especiales) y de la especificidad del cultivar (razas patogénicas) de *Foc*.

Dispersión del patógeno

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* puede ser diseminado a grandes distancias a través de rizomas e hijuelos infectados, cuando son utilizados como material vegetal de siembra para el establecimiento de nuevas plantaciones. Los hijuelos infectados a menudo no exhiben síntomas de marchitamiento, son asintomáticos. De esta manera, el uso de plántulas propagadas por cultivo de tejidos provenientes de una fuente certificada, garantizará el uso de material vegetal de siembra libre de esta y otras enfermedades (Sotomayor, 2012).

El patógeno puede también ser diseminado en forma eficiente a grandes distancias, a través de suelo adherido a llantas de vehículos o zapatos. De esta manera, también existiría la posibilidad de que pueda diseminarse a cortas distancias a través de implementos y maquinarias agrícolas, entrecruzamiento de raíces y en el agua superficial. En el suelo, el patógeno tiene la capacidad de producir las clamidosporas y persistir por un tiempo mayor de 30 años. Existe también la posibilidad de que el hongo pueda sobrevivir en forma no patogénica en hospederos alternativos (malezas) (Schippers y Van Eck, 1981).

Se requieren esfuerzos coordinados entre los sistemas de sanidad vegetal, instituciones de investigación y productores para mantener la raza 4 Tropical *Foc* fuera de la región y preparar las condiciones para su eventual detección, limitación de la diseminación y manejo (Pocasangre y Pérez-Vicente, 2009, Pérez-Vicente *et al.*, 2014).

ESTRATEGIAS PARA EL COMBATE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE *Foc*

Resistencia varietal en *Musa* spp. a *Foc*

Con el conocimiento y la tecnología disponibles, hoy es más fácil y efectivo implementar políticas cuarentenarias e impedir así la diseminación de patógenos, aunque siempre es más seguro disponer de variedades resistentes y una política varietal al respecto. La prevención exitosa del *Foc* TR4 y su diseminación en Australia fue efectiva debido a su fuerte voluntad política para implementar medidas cuarentenarias y a la

disponibilidad de tecnologías de diagnóstico y cultivo de tejidos. En Taiwán, el cultivo anual del banano ha sido posible al usar plantas de cultivo de tejidos y ha probado ser efectiva para reducir el potencial de la enfermedad (OIRSA, 2009).

La tabla 1 muestra algunos cultivares de bananos y plátanos y las variantes somaclonales de Cavendish proporcionadas por el Instituto de Investigación del Plátano de Taiwán que son tolerantes a *Foc* TR4 (Huang *et al.*, 2005).

La respuesta de resistencia en bananos está basada en la capacidad de las plantas tolerantes o resistentes para producir fenoles, depósitos de lignina y el aumento de las enzimas implicadas en la consolidación de la pared celular. Los compuestos fenólicos juegan un importante rol en los procesos de resistencia contra enfermedades vasculares, algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) y actúan activando las enzimas hidrolíticas del patógeno. *Foc* infesta tanto cultivares resistentes como tolerantes y la resistencia es solamente expresada después de iniciada la infección (Beckman, 1990).

Inductores de resistencia

En los últimos años, existe un consenso general de que la única forma de control efectiva y sostenible tanto económica como ambiental para esta enfermedad es la resistencia del hospedero (Dita *et al.*, 2010). La aplicación de inductores de resistencia sistémica en cultivos de interés agrícola se ha convertido en los últimos años en una herramienta estratégica en el manejo de las enfermedades en los cultivos; capaz de acelerar la respuesta de defensa de la planta al ataque del patógeno; así como proporcionar una protección de larga duración, y disminuir la aplicación de plaguicidas químicos en el control de agentes causantes de enfermedades, entre otras ventajas (Shahini *et al.*, 2010). En este sentido, se han desarrollado productos que son compatibles con el ambiente e inducen a la planta a activar sus mecanismos de defensa contra las enfermedades. Algunos de estos productos se han comercializado. Entre ellos están el acibenzolar-metil, la menadiona bisulfito de sodio, los fosfitos entre otros (Méndez *et al.*, 2010).

Tabla 1. Resultados de la evaluación de varios cultivares de bananos y plátanos ante la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, raza 4 tropical (TR4).

Cultivar	Referencia	Lugar	Respuesta a Foc TR4
'SH 3362'	Novack (1992)	Univ. De Pretoria	Resistente
'FHIA 01'	Deberg (2000),	FHIA: Bananas Database	Tolerante
	Daniels y Bryde (2001)	IMTP, China,	Resistente
	Huang <i>et al.</i> (2006)	FAO, Malasia	Resistente
	Mak <i>et al.</i> (2004)		Resistente
'FHIA 02'	Chen Houbin <i>et al.</i> (2003)		Tolerante
	Daniels y Bryde (2001)	FHIA: Bananas Database	Susceptible
	Huang <i>et al.</i> (2006)	IMTP III China	Resistente
'FHIA 03'	Zisil <i>et al.</i> (2009)	Journal of Trop. Crop.China	Resistente
'FHIA 17'	Molina <i>et al.</i> (2010)	Papua New Guinea	Resistente
'FHIA 18'	Daniels y Bryde (2001)	FHIA: Bananas Database	Resistente
	Huang <i>et al.</i> (2006)	IMTP III, China	Resistente
	Zisil <i>et al.</i> (2009)	Journal of Tropical Crop.China	Alt. Resistente
'FHIA 23'	Houbin <i>et al.</i> (2003)	FHIA: Bananas Database	Susceptible
	Daniels y Bryde (2001)		
'FHIA 21'	Chen Houbin <i>et al.</i> (2003)	Papua New Guinea	Resistente
	Molina <i>et al.</i> (2010)	IMTP III, China	Resistente
	Huang <i>et al.</i> (2006)	China	Resistente
	Houbin <i>et al.</i> (2005)	FHIA: Bananas Database	Tolerante
'FHIA 25'	Daniels y Bryde (2001)	FHIA: Bananas Database	Resistente
	Huang <i>et al.</i> (2006)	IMTP III en China	Resistente
	Molina <i>et al.</i> (2010)	Papua New Guinea	Resistente
	Zising <i>et al.</i> (2009)	Journal of Trop. Crop.China	Alt. Resistente
'FORMOSANA'	Hwang y Ko (2004)	Taiwan	Resistente

Diferentes grupos de investigadores han demostrado que el producto Bion 50 SC (acibenzolar-S-metil) induce resistencia sistémica en numerosos hospedantes frente a un amplio rango de patógenos. Como ejemplos pueden citarse las interacciones siguientes: banano - *Radopholus similis* (Corrales *et al.*, 2002), plátano - *Mycosphaerella fijensis* Morelet (Márquez *et al.*, 2007). También en este sentido, existen reguladores de crecimiento de generación más reciente donde se destaca el grupo de jasmonatos que actúan principalmente como moléculas señalizadoras de respuestas en plantas a numerosas situaciones de estrés

y promotor de defensa en plantas (Schillmiller y Howe, 2005). El ácido jasmónico demostró acciones de defensa en varias especies ante patógenos (Berrocal-Lobo y Molina, 2004). Otro ejemplo de alternativa para el control de esta enfermedad se encuentra en Cuba con el uso del biocontrol mediante *Trichoderma harzianum* en combinación con la plantación de plantas sanas con buenos resultados a escala comercial por tres años. Aunque los esfuerzos en este sentido han sido insuficientes, y de resultados contradictorios entre la investigación de laboratorio y el uso a nivel comercial (Pérez-Vicente *et al.*, 2004).

Herramientas biotecnológicas en el desarrollo de cultivares tolerantes a *Foc* TR4

La estrategia de identificación de genes dominantes y recesivos para resistencia al marchitamiento por *Fusarium* y sus implicaciones en los híbridos mejorados obtenidos ha sido estudiado en varios cultivos. Marcadores del tipo SCAR asociados con resistencia a *Foc* TR4 fueron desarrollados por Wang *et al.* (2010) para banano, denominados ScaU1001 y ScaS0901, los cuales amplificaron para genotipos de banano resistentes a *Foc* TR4 y no en los genotipos susceptibles evaluados. La herencia para la resistencia en *Musa* a *Foc* raza 1 ha sido investigada y se ha referido que la resistencia al Marchitamiento por *Fusarium* en un híbrido diploide de *Musa* está condicionada por un simple gen recesivo denominado *panama disease 1 (Pd1)* que puede ser empleada como una estrategia en programas de mejoramiento por selección (Ssali *et al.*, 2013). La identificación de marcadores del tipo SCAR y QTLs vinculados a la resistencia a *Foc* en su mayoría se corresponden con genes de resistencia que tienen un rol importante en el reconocimiento. Desde que la secuencia del genoma está disponible, se pueden llevar adelante estudios para caracterizar los genes involucrados en las vías y mecanismos de defensa (Swarupa *et al.*, 2014).

Algunos híbridos de banano de consumo fresco, que han sido desarrollados por la Fundación Hondureña de Investigaciones (FHIA) a través de Programas de Mejoramiento Convencional y han demostrado ser resistentes a *Foc* ya están disponibles. Entre ellos 'FHIA-01' (AAB Tipo Pome) y 'FHIA-17' (AAAA) banano de postre del tipo 'Gros Michel' que se han estado promoviendo para su cultivo a gran escala. Además, otros híbridos desarrollados por otros centros como el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), Centro de Investigación de Agricultura de Francia de Desarrollo Internacional (CIRAD) y el Instituto Indio de Investigaciones Hortícolas (IIHR) con resistencia a *Foc* están disponibles (Swarupa *et al.*, 2014).

Otra estrategia eficiente es el uso de la variación somaclonal la cual ha sido

empleada para el mejoramiento genético de varios caracteres agronómicos. GCTCV-218 es una variante somaclonal obtenida a partir del 'Cavendish gigante' que muestra resistencia a *Foc*, la cual ha sido registrada con el nombre comercial de FORMOSOMA (Hwang, 2002). Otras variantes somaclonales del Cavendish denominada GCTCV-53 y GCTCV-119 han mostrado resistencia al marchitamiento por *Fusarium* (Hwang y Ko, 2004). Con el conocimiento de estas técnicas se espera mejorar este cultivo mucho más rápido que por técnicas de mejoramiento convencionales.

La mutagénesis ha sido establecida como una herramienta muy eficiente para utilizar en el mejoramiento genético de plantas (Ahloowalia *et al.*, 2004; Henikoff *et al.*, 2004). Sin embargo, este es un proceso complejo para emplear en plantas propagadas vegetativamente. El equipo de Jankowicz-Cieslak *et al.* (2012) ha desarrollado un método para el tratamiento de ápices meristemáticos en yemas de banano con un mutágeno químico, el Etil-Metano-Sulfonato (EMS) y recuperar altas densidades de mutaciones de GC-AT mostrando que el genotipo de los mutantes es estable en generaciones sucesivas. Además, cinco líneas de banano resistentes al marchitamiento por *Fusarium* fueron obtenidas en Brazil e identificadas por evaluaciones en campo después del tratamiento mutagénico *in vitro* con EMS (Chen *et al.*, 2013). De aquí que es posible adoptar diferentes técnicas para el Mejoramiento Genético del banano y obtener resistencia a *Fusarium oxysporum*.

El empleo de la transgénesis es otra estrategia para el desarrollo de resistencia a hongos en cultivos económicamente importante como el banano. La mayoría de los cultivos transgénicos se han basado en el uso de proteínas antimicrobianas para bacterias y hongos (Collinge *et al.*, 2010). Sin embargo, un intento para desarrollar cultivares genéticamente modificados resistentes a *Foc* se ha iniciado recientemente. Varios genes han sido utilizados para combatir este patógeno (Swarupa *et al.*, 2014). Se han empleado defensinas de flores de petunia (*Petunia hybrida*) (*PhDef1* y *PhDef2*), que han sido sobreexpresadas en plantas de banano usando

como explante suspensiones celulares embriogénicas y como sistema de transformación el empleo de *Agrobacterium tumefaciens*. Altos niveles de expresión constitutiva de estas defensinas en plantas élites de banano cv. 'Rasthali' (*Musa* AAB), mostraron resistencia contra la infección de *Foc* en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* (Ghag *et al.*, 2012). En otro estudio, Mahdavi *et al.* (2012) demostraron la expresión de genes de taumatina de arroz (*Oriza sativa* L.) en plantas transgénicas de banano con resistencia a *Foc* TR4. Posteriormente, genes obtenidos de cebolla (*Allium cepa* L.), codificantes para una proteína antimicrobiana (*Ace-AMP1*) fueron introducidos y expresados en bananos transgénicos (Mohandas *et al.*, 2013).

De igual forma, fueron ensayados en el cultivar de banano 'Lady Finger' (AA), los genes llamados *Bcl-xl*, *Ced-9* y *Bcl-2 3' UTR*. Entre estos genes, se logró la sobreexpresión del *Bcl-2 3' UTR* en líneas que mostraron resistencia a *Foc* (Paul *et al.*, 2011). Se observó cómo característico la apoptosis en plantas hospederas contra patógenos necrotróficos, donde el patógeno provocó la muerte del tejido e incrementó su potencial de crecimiento más rápido. Se encontró que la expresión en transgénicos de genes animales relacionados con la apoptosis, tuvo una regulación negativa.

Otra estrategia que ha sido utilizada se ha basado en el RNAi usando dsRNAs de adenilato ciclasa, DNA polimerasa subunidades alfa y beta contra esporas de *Foc in vitro*, que ha demostrado variaciones en los grados de inhibición de la germinación de las esporas (Mumbanza *et al.*, 2013). Esta estrategia de RNAi puede ser desarrollada para generar plantas transgénicas de banano resistentes a *Foc* (Swarupa *et al.*, 2014).

La cisgénesis puede ser otra alternativa estratégica la cual involucra el uso de genes solamente de la misma especie o su pariente más cercano con el cual está cruzado. La cisgénesis es un método muy eficiente para cruzar-fertilizar plantas heterocigóticas que se propagan vegetativamente como el banano. El mejoramiento convencional además de introducir nuevos genes se pueden transferir rasgos no deseados. Por lo tanto, la cisgénesis puede hacer los

cultivos genéticamente modificados más aceptables al público (Swarupa *et al.*, 2014).

Para proteger a los cultivos contra *Foc*, los investigadores han iniciado la exploración de las ventajas de la cisgénesis para transferir genes de resistencia desde bananos de cocción a bananos de postre (EFSA, 2012). Se conoce que las plantas tienen cientos de genes R (Sanseverino *et al.*, 2010). La caracterización molecular de estos genes en diferentes especies ha revelado su especificidad, lo cual puede ser utilizado para el mejoramiento genético de cultivos a través de la cisgénesis. Especies silvestres de banano (*Musa balbisiana*) se han encontrado resistentes a *Foc* y a estreses abióticos. Los genes identificados por QTLs pueden ser compatibles con los de los cultivares existentes. Esto puede proporcionar un carácter deseable adicional como la tolerancia a estreses bióticos y abióticos. Esta última estrategia podría proteger el cultivo de banano de la marchitez por *Fusarium* y superar las limitaciones de las medidas de protección química (Swarupa *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

Los resultados presentados en esta revisión de la literatura científica brindan información para el manejo y control de *Foc* TR4. Se relacionan estrategias para el combate de la enfermedad donde se incluye la resistencia varietal, el uso de inductores de resistencia así como la aplicación de herramientas biotecnológicas para la obtención de genotipos resistentes o tolerantes. Finalmente, se demuestra que una estrategia bien diseñada que tenga en cuenta el conocimiento actual de la patogenicidad, mecanismos de acción, la interacción hospedante-patógeno, la influencia del medio ambiente sobre el mismo así como el empleo de varias estrategias que incluya herramientas biotecnológicas posibilitará reducir los riesgos de las afectaciones que pudiera causar el patógeno de producirse su entrada al país por alguna vía.

REFERENCIAS

Ahloowalia, BS, Maluszynski M, Nichterlein K (2004) Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* 135:187-204

- Batle AL, Pérez-Vicente L (2001) Population Biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* of Banana and Plantains in Cuba: Vegetative Compatibility Groups, Abstracts of Papers. Annual Meeting APS Caribbean Division, June 11-15, 2001-Havana
- Beckman, CH (1990) Host responses to infection. En: Ploetz, RC. (Ed.) *Fusarium* wilt of banana, pp. 93-105. APS. Minnesota
- Bentley S, Pegg KG, Moore NY, Davis DR, Buddenhagen IW (1998) Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology* 88: 1283-1293
- Berrocal-Lobo, M, Molina A, Solano R (2002) Constitutive expression of ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1 in *Arabidopsis* confers resistance to several necrotrophic fungi. *Plant J.* 29: 23-32
- Borges AA, Borges-Pérez A, Fernández-Falcón M (2004) Induced resistance to *Fusarium* wilt of banana by menadione sodium bisulphite treatments. *Crop Protection* 23: 1245-1247
- Butler D (2013) Fungus threatens top banana. *Nature* 504: 195
- Chen YF, Chen W, Huang X, Hu X, Zhao JT, Gong Q, Li XJ, Huang XL (2013) *Fusarium* wilt-resistant lines of Brazil banana (*Musa* spp., AAA) obtained by EMS-induced mutation in a microcross section cultural system. *Plant Pathol* 62:112-1190
- Collinge DB, Jorgensen HJ, Lund OS, Lyngkjær MF (2010) Engineering pathogen resistance in crop plants: current trends and future. *Annu Rev Phytopathol* 48: 269-291
- Corrales O, Knight S, Madrigal A (2002) Manejo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y el nemátodo barrenador (*Radopholus similis* COBB) en banano, usando el activador de resistencia Boost 50 SC dentro de un programa de fitoprotección basado en menos uso de agroquímicos. XV Reunión Internacional ACORBAT, pp. 143-147. ACORBAT. Cartagena
- Dita MA, Waalwijk C, Buddenhagen IW, Souza JM, Kema GH (2010) A molecular diagnostic for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathology* 59: 348-357
- Dita MA, Echegoyen PE, Pérez-Vicente L (2013) Plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* en un país de la región del OIRSA. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria – OIRSA. San Salvador
- EFSA (Scientific Panel on Genetically Modified Organisms) (2012) Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA J* 10(2): 2561
- Fernández-Falcón M, Alvarez CE, Gorrín R, Hernández MM, Borges AA (2009) Influence of a menadione derivative on banana panama disease development and yield enhancement. *Open Horticulture Journal* 2: 49-53
- Ghag SB, Shekhawat UK, Ganapathi TR (2012) Petunia floral defensins with unique prodomains as novel candidates for development of *Fusarium* wilt resistance in transgenic banana plants. *PLoS ONE* 7(6): e39557
- Henikoff S, Till BJ, Comai L (2004) TILLING. Traditional mutagenesis meets functional genomics. *Plant Physiol* 135: 630-636
- Hwang SC (2002) FORMOSANA: a new Cavendish variety with super high yield and *Fusarium* wilt resistance selected by somaclonal variation. *TBRI. Taipei*
- Hwang SC, Ko WH (2004) Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Dis* 88:580-588
- Huang BZ, Xu LB, Molina AB (2005) Preliminary evaluation of IMTP-III varieties and local cultivars against *Fusarium* wilt disease in southern China. En: Molina AB, Roa VN, Van den Bergh I, Borromeo KH (Eds.) *Advancing Banana and Plantain R&D in Asia and the Pacific – Vol. 13*, pp.187-191. Proceedings of the 3rd BAPNET Steering Committee Meeting held in Jakarta, Indonesia, 6-9 October 2003. INIBAP. Los Baños
- Jankowicz-Cieslak J, Huyh OA, Brozynska M, Nakitandwe J, Till BJ (2012) Induction, rapid fixation and retention of mutations in vegetatively propagated banana. *Plant Biotechnol J* 10: 1056-1066
- Mahdavi F, Sariah M, Maziah M (2012) Expression of rice thaumatin-like protein gene in transgenic banana plants enhances resistance to *Fusarium* wilt. *Appl Biochem Biotechnol* 166: 1008-1019
- Márquez LJ, Zapata JC (2007) Inducción de resistencia a Sigatokas en plántulas de plátano Dominico Hartón. *Agronomía* 15(2): 49-57
- Mohandas S, Sowmya HD, Saxena AK, Meenakshia S, Thilaka RR, Mohmood Riaz (2013) Transgenic banana cv. 'Rasthali' (AAB, Silk gp) harbouring *Ace-AMP1* gene imparts enhanced

resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 1. *Sci Hort* 164:392-399

Molina, AB (2009) Estado de la Incidencia en Asia del marchitamiento por Raza Tropical 4 de *Fusarium* en el cultivo del banano. Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza Tropical 4 de *Fusarium*, BBTv y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, América Latina y el Caribe. OIRSA San Salvador

Mumbanza FM, Kiggundu A, Tusiime G, Tushemereirwe WK, Niblett C, Bailey A (2013) *In vitro* antifungal activity of synthetic dsRNA molecules against two pathogens of banana, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* and *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest Manag Sci* 69:1155-1162

OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria) (2009) América Latina discute programa para la protección del cultivo del banano y plátano. *Mirador Agrosanitario*. No. 3. Septiembre 2009. San Salvador

Paul JY, Becker DK, Dickman MB, Harding RM, Khanna HK, Dale JL (2011) Apoptosis-related genes confer resistance to *Fusarium* wilt in transgenic 'Lady Finger' bananas. *Plant Biotechnol J* 9:1141-1148

Pérez-Vicente, L, Batlle A, Fonseca J, Montenegro V (2004) Reaction of FHIA hybrids and landraces cultivars to *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, pp. 6-9. Abstracts of The International Congress on Banana: harnessing research to improve the livelihoods. INIVAP. Penang

Pérez-Vicente, L, Batlle AL, Chacón JB, Montenegro VM (2009) Reaction of natural and hybrids cultivars of FHIA Bananas and Plantains to Cuban *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Populations, causal agent of *Fusarium* Wilt or Panama Disease. *Fitosanidad* 13(4): 237-241

Pérez-Vicente L, Dita MR, Martínez- de la Parte E (2014) Prevention and diagnostic of *Fusarium* Wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Tropical Race 4 (TR4). Technical Manual. FAO. Roma

Ploetz RC (1990) Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. *Can. J. Botany* 68:1357-1363

Ploetz, RC (2005) Panama Disease: An Old Nemesis Rears its Ugly Head. Part 1: The Beginnings of the Banana Export Trades. *Plant Health Progress*. APS. Minnesota

Ploetz, RC (2006) *Fusarium* wilt of Banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. *Phytopathology* 96: 653-656

Pocasangre LE, Pérez-Vicente L (2009) Impacto potencial de la entrada de la raza tropical 4 del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*) en la industria bananera y platanera de América Latina y el Caribe. Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza tropical 4 de *Fusarium*, BBTv y otras plagas de musáceas para la región de OIRSA, América Latina y el Caribe. Documentos de programa y resúmenes de la reunión de OIRSA sede central. OIRSA. San Salvador

Sanseverino W, Roma G, De Simone M, Faino L, Melito S, Stupka E, Frusciante L, Ercolano MR (2010) PRGdb: a bioinformatics platform for plant resistance gene analysis. *Nucleic Acids Res* 38:814-821

Schillmiller AL, Howe GA (2005) Systemic signalling in the wound response. *Current Opinion in Plant Biology* 4 (8): 369-377

Schippers B, Van Eck WH (1981) Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*. En: Nelson Pe, Tousson TA, Cook RJ (Eds) *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*, pp. 250-260. Penn State University Press. Pennsylvania

Sotomayor IH (2012) La raza tropical 4 del Mal de Panamá: amenaza potencial para la industria bananera y platanera del Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Quevedo. Ecuador. *Boletín Divulgativo* 418: 42

Ssali RT, Kiggundu A, Lorenzen J, Karamura E, Tushemereirwe W, Viljoen A (2013) Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 1 in bananas. *Euphytica* 194:425-430

Swarupa V, Ravishankar KV, Rekha A (2014) Plant defense response against *Fusarium oxysporum* and strategies to develop tolerant genotypes in banana. *Planta* 239:735-751

Wang W, Hu Y, Sun D, Staehelin C, Xin D, Xie J (2010) Identification and evaluation of two diagnostic markers linked to *Fusarium* wilt resistance (race 4) in banana (*Musa* spp.). *Mol Biol Rep* 39:451-459

Xiaodong Fang (2013) Genome Sequencing and Comparative Transcriptomics of Race1 and Race 4 of Banana pathogen: *F. oxysporum* f. sp. *ubense*. Banana and animal genoma, Asia Congress. Singapore

Recibido: 12-07-2014

Aceptado: 17-09-2014