

ESTUDIO DE UNA ENFERMEDAD VASCULAR DEL ABACA

(Musa Textilis Née) EN COSTA RICA



Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas
Turrialba, Costa Rica
Marzo 1955

ESTUDIO DE UNA ENFERMEDAD VASCULAR DEL ABACA

(Musa textilis Née) EN COSTA RICA

Tesis

Sometida al Comité de Estudios Graduados como
requisito parcial para optar el grado de

Magistri Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADA:

Tom M. Allen Consejero

Fredrich Weller Comité

R. G. ... Comité

Marzo 1955

A mis padres

A G R A D E C I M I E N T O S

El autor desea expresar sus agradecimientos a los Drs. Ross M. Allen y William Q. Loegering, bajo cuya dirección este estudio fué realizado, por su invaluable ayuda y guía a través del mismo.

A los Drs. Rodrigo G. Orellana y Frederick L. Wellman, miembros de su comité, por sus oportunas sugerencias y revisión de los manuscritos.

Al Proyecto de Abacá, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos y a la Zona Andina del Programa de Cooperación Técnica por haber patrocinado sus estudios en el Instituto.

A la Srta. Angelina Martínez, Bibliotecaria del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, por su valiosa ayuda en la revisión de la literatura.

A todos los colegas estudiantes, cuya desinteresada cooperación, estímulo y compañerismo, favorecieron en todo momento la realización del presente trabajo.

B I O G R A F I A

Rodolfo Barriga Olivares nació el 27 de abril de 1928, en Barranquilla Colombia. Realizó estudios secundarios en el Colegio de Barranquilla para varones, donde recibió su título de Bachiller en el año de 1947.

Hizo sus estudios universitarios en la Facultad Nacional de Agronomía de Medellín, Colombia, de 1948 a 1952.

Ingresó a la Escuela de Estudios Post-Graduados del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica, en junio de 1953, actuando como Asistente Graduado en la sección de Fitopatología del Proyecto de Abasá del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, hasta la finalización del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	3
Historia e importancia	3
Síntomas	7
En plantas maduras	7
En plántulas	9
MATERIALES Y METODOS	11
Aislamientos de organismos	11
Pruebas de Patogenicidad	12
Material inoculado	12
Fuente de inóculo	13
Organismos inoculados	13
Métodos de inoculación	14
Diseño experimental	16
Estudios fisiológicos y morfológicos	18
Medios de cultivo empleados	18
Estudio en cuatro soluciones nutritivas	20
Estudio en tres medios semi-sólidos	21
Crecimiento a diferentes temperaturas	21
Efecto de la concentración de iones hidrógeno	21
Resistencia varietal	22
RESULTADOS EXPERIMENTALES	24
Aislamientos de organismos	24
Pruebas de patogenicidad	24
Estudios fisiológicos y morfológicos	30
Características culturales en medios líquidos	30
Crecimiento en los medios líquidos	36
Medición de microconidias	39
Características culturales en medios semi-sólidos	39
Efecto de la temperatura	47
Efecto de diferentes concentraciones de iones hidrógeno	49
Crecimiento radial a una concentración de iones hidrógeno	55

	<u>Página</u>
Resistencia varietal	55
DISCUSION Y CONCLUSIONES	60
RESUMEN	68
SUMMARY	70
LITERATURA CITADA	72
APENDICE	75

INTRODUCCION

La planta de abacá (Musa textilis Née), originaria de las Islas Filipinas, produce una fibra dura, utilizada en la manufactura de cordones y cables para usos marinos. Con motivo de la segunda guerra mundial se establecieron plantaciones en gran escala en varios países de Centro América, lo cual ha dado origen a diversos problemas de cultivo entre ellos los causados por las plagas y enfermedades propias de la planta. La Enfermedad Vascular denominada también Marchitamiento, ha sido reportada en todas aquellas localidades donde el abacá es cultivado actualmente, y su frecuencia y severidad están aumentando cada día aunque en una forma muy irregular.

La citada enfermedad se ha convertido en los últimos años en una seria amenaza para la producción de abacá en Centro América, no sólo por el perjuicio que causa en las plantaciones, sino también porque desmejora la calidad comercial de la fibra. Por las observaciones hechas en las plantaciones de Bataan, Costa Rica, puede decirse que esta dolencia está causando una degeneración gradual en las zonas afectadas. Leegering (16), informó que algunas áreas de las plantaciones de Guaymas, Honduras, que anteriormente ocupaban el primer lugar en producción, actualmente han sido abandonadas por causa de la enfermedad.

Anteriores investigadores identifican como agente causal de la enfermedad al Fusarium oxysporum f. cubense (E. F. Sm.) Snyder & Hansen, que produce la Enfermedad de Panamá del banano, aunque otros aseguran que es causada por una bacteria similar a la Xanthomonas solanacearum E. F. Sm. Sin embargo la enfermedad y sus causas en abacá no han sido

estudiadas intensivamente hasta el presente en Costa Rica.

En los países centroamericanos se ha observado que la variedad más afectada es la Bangulanon, la cual constituye aproximadamente el 85% de las plantaciones (27). Por esto se ha creído conveniente valorar su grado de resistencia en el campo, y además compararla con la de otras variedades comerciales importantes.

Teniendo en cuenta que para establecer un programa de combate de una enfermedad es necesario conocer la naturaleza de los agentes patógenos que la causan, los objetivos del presente estudio fueron los siguientes:

1. Aplicación de los postulados de Koch, para determinar el o los agentes causales de la Enfermedad Vascular en Costa Rica.
2. Hacer un estudio patológico, fisiológico y morfológico comparativo de las formas de Fusarium asociadas con la enfermedad en el abacá y el F. oxysporum f. cubense del banano.
3. Obtener un método eficiente y rápido de inoculación artificial para determinar la susceptibilidad de las plantas.
4. Valorar la resistencia a la enfermedad, en condiciones de campo, de algunas variedades de abacá cultivadas en Centro América.

REVISIÓN DE LITERATURA

HISTORIA E IMPORTANCIA

El banano y el abacá son dos especies botánicas del género Musa que tienen características morfológicas muy similares. Por constituir el abacá uno de los principales cultivos económicos en las Islas Filipinas, y con motivo de la aparición de la enfermedad de Panamá en el banano en dicho país, Lee & Serrano (12) en 1920, hicieron inoculaciones sobre plantas de abacá con el agente causante de la enfermedad Fusarium cubense E. F. S., para estudiar su posible susceptibilidad. Los resultados obtenidos fueron negativos, por lo cual dichos autores consideraron a la planta de abacá como resistente a la dolencia. En 1923, Lee & Serrano (13) aislaron de plantas de abacá enfermas con una "pudrición central" (heart rot) una especie de Fusarium muy similar en caracteres culturales y morfológicos al F. cubense. Estos dos organismos al ser inoculados en las vainas centrales del pseudotallo de abacá, produjeron una pudrición en dicha parte (heart rot). Esto hizo pensar a esos autores que el F. cubense producía síntomas diferentes en el banano y abacá.

Teodoro (29) en 1925 y Teodoro y Serrano (30) en 1926, atribuyeron nuevamente la causa de la pudrición central del pseudotallo de abacá a una especie de Fusarium muy similar al F. cubense. Ocfemia (19), sin embargo, opinó que era muy dudoso que un organismo que producía una enfermedad vascular en el banano fuera causante de una "pudrición central" en el pseudotallo de abacá, debiéndose esta pudrición en muchos casos a un estado final de la enfermedad "Bunchy-top" (atrofia foliar), producida por un virus. Posteriormente Ocfemia y Mendiola (20) identificaron

al organismo asociado con dicha pudrición, como Fusarium moniliforme Sheldon var. subglutinans Wr. & Reink.

La primera evidencia que se tuvo de la Enfermedad Vasculare en la planta de abacá fué dada por Edwards, quien en información personal a Oofemia (18) en 1927, le manifestó que las plantas de abacá introducidas a Panamá, procedentes de Davao (Filipinas) estaban afectadas por una enfermedad vascular muy similar a la Enfermedad de Panamá del banano. Según el mismo autor (18), Reinking también aseguró que la Enfermedad Vasculare de la planta de abacá en Centro América, era sin duda causada por el Fusarium cubense E. F. S., pero que sin embargo, eran necesarios mayores estudios del organismo encontrado en las plantas afectadas de abacá para definir el problema. La variedad atacada por esta dolencia vascular, era la Bungulanon.

Leoncio (14) en 1930, en un estudio comparativo del Fusarium que produce la Enfermedad de Panamá del banano en Filipinas, y del F. cubense descrito por Brandes (1), logró producir los síntomas característicos de la enfermedad en plántulas de abacá, inoculándolas en el pseudotallo y rizoma. Esto probó que el abacá no sólo no era resistente a la Enfermedad Vasculare producida por el F. cubense sino que se producían síntomas semejantes a los descritos en el banano.

Wardlaw (33) en 1935, opinó que la Enfermedad Vasculare en el abacá no era una dolencia de seria consideración, y que su principal interés radicaba en el hecho de que tendía a aparecer conjuntamente con otras enfermedades, tales como el Bunchy Top, la Pudrición Central de pseudotallo y los nódulos radiculares producidas por otros organismos patógenos.

Ocfemia (16) dedujo de un reconocimiento que verificó en 1937 en la región del Davao (Filipinas), que la Enfermedad Vascular constituía un problema serio para los cultivadores de esa región, especialmente, en las regiones altas. Por otro lado Calinisan (3), en 1938, reportó sobre la gravedad de la enfermedad en la misma región, la cual fué observada por la primera vez en 1931 en la localidad de Upper Bayabas, Guianas District, a una altura aproximada de 1.200 m. Luego en 1934 la enfermedad fué descubierta en Tonkalan, a una altura de 500 a 600 m., sobre el nivel del mar, extendiéndose gradualmente hacia partes más bajas hasta que en 1937 fué encontrada afectando a una plantación a dos metros sobre el nivel del mar y a doce kilómetros de distancia del primer foco de infección. En un reconocimiento de 364 hectareas que Calinisan (3) realizó en Filipinas, constató que un 85% de esta área estaba atacada por la enfermedad. Este autor (2) opinó que junto con el "Bunchy Top" y el Mosaico, la Enfermedad Vascular era una de las más destructivas, y que aunque no se conocía nada sobre el agente patógeno que la produce, se había aislado un hongo bastante similar al F. cubense del banano, y a menudo se habían obtenido cultivos puros de bacterias de diversas partes de las plantas atacadas.

Palo y Calinisan (21), informaron que la Enfermedad Vascular era una de las enfermedades más serias en el área de Davao, Mindanao, donde se había encontrado un total de 1.301 hectáreas infectadas, lo cual demostraba la importancia económica de la misma. En dicho estudio encontraron que el agente causal de la enfermedad era una bacteria, cuya apariencia y caracter de las colonias era muy similar a los descritos para el Bacterium solanacearum (Xanthomonas solanacearum) que causa un

marchitamiento en ciertas variedades de banano, conocido como Enfermedad de Moko. Además reportaron que una especie de Fusarium estaba comúnmente asociado con las plantas afectadas.

Posteriormente Castillo y Celino (4) en Davao, hicieron un estudio con una especie de Fusarium aislado de plantas afectadas con la Enfermedad Vascular, concluyendo que esta especie es idéntica en caracteres morfológicos y culturales al F. oxysporum f. cubense del banano. Además, obtuvieron resultados positivos en inoculaciones en plántulas de abacá e hijuelos de banano de la variedad Latundan con el Fusarium aislado de plantas de abacá. Por estos resultados, y teniendo en cuenta los obtenidos anteriormente por Palo y Calinisan, concluyen que la Enfermedad Vascular puede ser causada por dos organismos diferentes: una bacteria y un hongo, siendo mas virulenta la primera.

Edwards, (6) en 1944, reconoció que las plantas introducidas a Panamá de Filipinas, fueron atacadas por una Enfermedad Vascular semejante a la Enfermedad de Panamá del banano, pero que no constituía un problema serio para el cultivo.

Reinking, 1945 y 1949 (24, 22) aseguró nuevamente que la verdadera Enfermedad de Panamá o marchitamiento del abacá, producida por el F. oxysporum f. cubense, está presente en las plantaciones de Centro América, aunque sus daños son muy escasos.

Loegering, (16) ~~estableció~~ estableció la presencia de la Enfermedad Vascular en varias plantaciones de Centro América. En Honduras, pudo localizarla en todas las áreas de una vieja plantación en Guaymas, con excepción de las secciones cultivadas con la variedad Maguindanao, y en menor escala en Guatemala y Panamá. Ultimamente se ha encontrado en considerables extensiones en la finca Good Hope en Bataan, Costa Rica.

Kortleve, en información personal a Loegering (16) manifestó que la misma enfermedad ha aparecido en plantaciones de abaca en Sumatra.

Según Waite (31), la diseminación del patógeno en las plantaciones centroamericanas presentan una seria amenaza para la producción de fibra de alta calidad. Este autor reporta que se ha comenzado un programa de fitomejoramiento para combinar en las nuevas variedades buenas cualidades agronómicas y comerciales, y resistencia a la Enfermedad Vascular.

De acuerdo con las observaciones de Waite hechas por varios años en Honduras, la variedad Bungulanon es muy susceptible a la enfermedad; menos susceptible la variedad Maguindanao, y tolerante la variedad Tangongón. Las variedades Libutón, Sinaba y Putean han sido poco atacadas, hasta el momento, en parcelas experimentales en este país.

SINTOMAS

EN PLANTAS MADURAS:

Calinisan (3) al hacer la descripción de la Enfermedad Vascular encontrada en Davao dice que la planta presenta como síntomas externos una mancha de color pardo oscuro en la base del pseudotallo al nivel del suelo. Luego se observa un amarillamiento en las hojas externas y un retardo en el crecimiento de la planta. Al hacer un corte longitudinal de una planta afectada, se puede notar la presencia de una descoloración que va de rojiza a carmesí en los tejidos fibrovasculares del rizoma y el pseudotallo y que algunas veces se extiende a los pecíolos.

Palo y Calinisan (21) anotan entre los principales síntomas de la Enfermedad Vascular causada por bacteria, la aparición de líneas pardo rojizas a lo largo de las nervaduras secundarias a partir de la vena central y un amarillamiento y marchitamiento de las hojas afectadas. En

casos agudos la descoloración de las nervaduras no alcanza presentarse antes del marchitamiento. En los haces fibrovasculares se observa una descoloración que varía de anaranjado a pardo en una infección en su estado inicial, tornándose pardo negruzco en los últimos estados de la enfermedad. El curso de la dolencia puede ser trazado siguiendo los tejidos vasculares descolorados desde el rizoma a través del pseudotallo hasta alcanzar el pecíolo, y por último la vena central y las nervaduras secundarias de la hoja. En el estado inicial de la enfermedad la descoloración vascular puede limitarse a algunas zonas del rizoma y a unas pocas vainas del pseudotallo. Cuando la infección es avanzada la descoloración es uniforme a través de toda la planta. Los hijos de una planta afectada pueden mostrarse sanos externamente, sin embargo, en cortes transversales se puede observar claramente la descoloración vascular en los tejidos del rizoma que están unidos al rizoma de la planta madre. No fué observado la exudación de fluido bacterial de los vasos infectados, que es característico en la Enfermedad de Moko del banano.

Los síntomas externos de la Enfermedad Vascular del abacá en Centro América no son bien definidos para poder identificar plantas afectadas. Según Loegering (16), las hojas y los pecíolos de las plantas enfermas son generalmente de un color amarillento. Otras veces pueden presentarse bandas amarillas y verdes alternadas a lo largo de las nervaduras secundarias. Internamente se puede observar al hacer un corte del rizoma, que los tejidos vasculares tienen una coloración púrpura rojiza, siendo más severo este síntoma en la región del cambium, pero puede encontrarse distribuida a través de todos los tejidos. En el pseudotallo, la parte interna de las vainas afectadas muestra líneas

de color pardo amarillentas a lo largo de los vasos vasculares afectados. Cuando la infección alcanza la vena central de la hoja, se produce la necrosis de toda la lámina. En su etapa final la enfermedad produce la muerte completa de la planta y el pseudotallo es invadido por organismos secundarios que causan un olor característico muy desagradable.

En una descripción de síntomas de la enfermedad que hizo Waite (37) anotó que son algo diferentes de aquellos producidos por la Enfermedad de Panamá del banano. Así la típica descoloración de los pecíolos y el subsecuente doblamiento de los mismo, observada en el banano, no es síntoma, característico en la planta de abacá. En muchos casos solo puede haber una ligera descoloración vascular interna. Además la habilidad de las plantas de una mata joven de abacá desarrollarse libres de síntomas podría indicar que esta especie es más resistente al ataque de Fusarium que las variedades comerciales de banano. Sin embargo, a medida que la mata es más vieja, el grado de resistencia se hace menos evidente.

EN PLANTULAS:

Leonció (14) describió los síntomas que obtuvo en plántulas de abacá inoculadas con F. oxysperum f. cubense, como algo diferente de los producidos sobre hijuelos de banano de la variedad Latundan (Musa sapientum var. cinerea) que es susceptible a la enfermedad en Filipinas. Según este autor los síntomas se caracterizan por un arracimado vertical (bunching up) del follage y un amarillamiento y pérdida de turgencia de las hojas afectadas. Al hacer un corte ^{en el} risoma se puede observar la descoloración característica de los haces vasculares, síntoma muy similar al producido en el banano Latundan.

Según Castillo y Celino (4) los síntomas más notorios de la Enfermedad Vascular en plántulas, son el enrollamiento hacia adentro de las láminas foliares en la parte apical de las hojas inferiores y el crecimiento retardado de las plantas. Las hojas nuevas que aparecen después del ataque quedan reducidas en tamaño y se marchitan y secan muy pronto. No se nota como en el banano Latundan, el arracimado de los pecíolos en el extremo superior del pseudotallo, ni la división de las vainas en su parte basal.

MATERIALES Y METODOS

Los trabajos llevados a cabo durante el presente estudio, fueron realizados en el laboratorio y campo del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en Turrialba, y en las plantaciones de abacá de la General Service Administration en Bataan, Limón. Ambos lugares localizados en Costa Rica, Centro América.

AISLAMIENTOS Y ORGANISMOS

Con el objeto de determinar el o los agentes causales de la Enfermedad Vascular en estudio, se procedió a verificar aislamientos con material de plantas afectadas provenientes de diversas partes de las plantaciones de abacá en Bataan, principalmente de aquellas zonas afectadas intensamente por la enfermedad. Al hacerse la recolección del material para aislamientos se obtuvieron generalmente muestras del rizoma, parte baja, media y alta del pseudotallo, y en algunos casos porciones del pecíolo y lámina de la hoja, cuando estos últimos presentaban los síntomas característicos de la enfermedad.

El medio de cultivo empleado fué de papa dextrosa agar, preparado según la fórmula de Riker y Riker* (26). Este medio fué acidificado después de la esterilización con una gota de ácido láctico al 25%, para cada tubo de ensayo que contenía aproximadamente 10 ml. de medio obteniéndose un pH de 4.0 a 4.5, que evitó la contaminación bacteriana.

Los cultivos se hicieron sembrando pequeñas porciones de tejido enfermo en tubos inclinados del medio acidificado y no acidificado. Para hacer cultivos del rizoma, se hicieron cortes transversales o longitudinales del tejido y luego con un bisturí esterilizado se cortaron pequeños

* Bacto agar	17 gms.
Papa	200 "
Dextrosa	20 "
Agua	1000 cc.

pedazos de forma cúbica, que fueron pasados a los tabos inclinados con una aguja de transferencia previamente esterilizada. Para los aislamientos de las vainas del pseudotallo y el peciolo se utilizaron pedazos de tejido de regular tamaño desinfectados externamente con bicloruro de mercurio al 1:1.000, seguidamente con un bisturí y forceps esterilizados se cortaron pequeños pedazos de tejido interno, transfiriéndolos por el mismo método anterior al medio de cultivo. Los aislamientos de la hoja se hicieron tomando pequeñas porciones de 1.0 cm. de largo y 0.5 cm. de ancho aproximadamente y luego de ser desinfectados por dos minutos con una solución al 25% de Chlorox comercial y enjuagados en agua destilada y esterilizada se colocaron en el medio de cultivo. Todos los cultivos fueron mantenidos en las condiciones de laboratorio, a una temperatura aproximada de 23° a 26°C, hasta que se desarrollasen las colonias.

Durante este estudio se hicieron aproximadamente 1.000 aislamientos. Los resultados fueron bastante satisfactorios ya que generalmente se obtuvieron cultivos libre de contaminaciones.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Con el fin de completar los postulados de Koch, se realizó un experimento de inoculación con los materiales y métodos que se describen en seguida.

MATERIAL INOCULADO:

Plantas de abacá de la variedad Bungulanon, en diferentes estados de crecimiento, desde tres meses de edad hasta un año de edad aproximadamente. Estas plantas fueron propagadas por medio de rizomas de tres a cuatro libras de peso traído de Bataan y sembrados en setiembre de 1953, en un terreno del Instituto, en Turrialba.

FUENTE DE INOCULO:

Se hicieron cultivos monospóricos de Fusarium spp. a partir de los cultivos originales, siguiendo el método de Keitt (11). Una vez desarrollados estos se hicieron transferencias a tubos inclinados de papa dextrosa agar acidificados.

Para las bacterias, se hicieron cultivos por dilución sobre FDA no acidificado en platos de Petri. Luego se hicieron transferencias al mismo medio en tubos inclinados.

ORGANISMOS INOCULADOS:

Se utilizaron 4 tipos de Fusarium spp. y dos tipos de bacteria, cuyo origen se da a continuación:

FUSARIUM No. 9: Organismo aislado del rizoma y pseudotallo de una planta enferma de la variedad Bungulanon, colectada de la sección 278, de la finca No. 5 de Good Hope, Bataan,

FUSARIUM No. 10: Aislamiento del rizoma de una planta enferma con síntomas de descoloración vascular de la variedad Tangongón. Esta planta fue colectada de la sección 22 de la finca Sara, en Bataan.

FUSARIUM No. 12: Este aislamiento fue cedido por el Dr. Ross M. Allen para el presente estudio. Es una forma de Fusarium spp. aislada del rizoma de una plántula que presentaba síntomas de descoloración vascular la cual fue colectada de un almácigo en el Instituto.

FUSARIUM H: Este organismo es una cepa de Fusarium oxysporum f. cubense de patogenicidad comprobada en plantas de banano escogida de dos líneas cedidas por el Dr. N. C. Thornton del Tropical Research Department de la United Fruit Co. en la Lima, Honduras.

BACTERIA A: Un tipo de bacteria de colonia amarilla aislada del pseudotallo de una planta de la variedad Tangongón, con síntomas de descoloración vascular. Esta planta fué recolectada de la sección 22 de la finca Sara, Bataan.

BACTERIA B: Un tipo de bacteria de colonia blanca aislada del rizoma de una planta enferma de la variedad Tangongón. La cual fué colectada de la misma localidad anterior.

MÉTODOS DE INOCULACION:

Se utilizaron dos métodos de inoculación tanto para Fusarium como para bacteria a saber:

1. Inyección de una suspensión del organismo en agua destilada y esterilizada. Para los ensayos con los Fusarium spp., se emplearon cultivos de 15 días de edad desarrollados sobre papa dextrosa agar acidificados. Para las bacterias se utilizaron colonias de cuatro días de edad obtenidas de transferencias a tubos inclinados de FDA no acidificados.

Las suspensiones tanto de los hongos como de las bacterias, se prepararon agregando a los cultivos en tubos inclinados, 10 ml. de agua destilada y desprendiendo con una aguja todo el crecimiento aéreo del organismo. Las suspensiones pasaron entonces a un frasco con tapón de caucho previamente esterilizado.

Las inyecciones en la planta se hicieron con una aguja hipodérmica de 1,5 cms. de largo. La cantidad de suspensión inyectada fué variable de acuerdo con el tratamiento.

Con este método se ensayaron tres tratamientos, descritos a continuación:

- a. Inyección en el pecíolo de 1 cc. de suspensión, cubriendo el lugar de la puntura con vaselina y marcando con un círculo hecho con lápiz de cera.
- b. Inyección en el pseudotallo de 1.5 a 2.0 cc. de suspensión, en una altura intermedia entre la parte basal y el punto de origen de los pecíolos. Se siguió la técnica anterior.
- c. Inyección en la parte basal del pseudotallo de 2.5 a 2.0 cc. de suspensión. Para este tratamiento se hizo previamente una perforación oblicua hacia abajo, de una profundidad de 12.5 cm. (5^m) hasta alcanzar el rizoma. Con este fin se utilizó un alambre grueso terminado en punta afilada. Las heridas fueron cubiertas con vaselina.

2. Heridas hechas asépticamente, en la cual se colocó el inóculo. Para este método se utilizaron cultivos de los diferentes organismos desarrollados sobre medio semi-sólido. Para los hongos se utilizó como fuente de inóculo, cultivos de 12 días de edad, desarrollados sobre arroz cocido y esterilizado, en platos de Petri. Para las bacterias se emplearon cultivos de 6 días de crecimiento, desarrollados sobre tubos inclinados de papa dextrosa agar no-acidificado. Este medio junto con el organismo se pasaba en el momento de la inoculación a platos de Petri esterilizados, donde se dividieron en pequeños bloques de tamaño adecuado con un bisturí.

Con este método se emplearon tres tratamientos, descritos a

continuación:

- a. Herida en el pecíolo, con cuchillo. Luego de introducido el inóculo la herida se cubrió con vaselina.
- b. Herida en las vainas del pseudotallo. Las heridas se produjeron con un perforador de cobre No. 9 de 14 mm. de diámetro, evitando dañar los tejidos tiernos del cilindro central. Una vez colocado el inóculo se volvían a colocar las porciones cilíndricas de las vainas removidas con el perforador, y finalmente se cubrió la herida con vaselina.
- c. Heridas oblicuas hacia abajo en la base del pseudotallo hasta alcanzar la zona del rizoma. Luego de introducido el inóculo se cubrió la herida con vaselina.

DISEÑO EXPERIMENTAL:

Las inoculaciones se realizaron en un lote de 144 matas dispuesto en un bloque cuadrado de 12 matas por lado, y una distancia de 1.80 m. entre matas.

Este lote fue dividido en tres bloques iguales compuesto cada uno por 6 parcelas de 8 matas. Para cada organismo se empleó una de estas parcelas con una replicación en cada bloque. (Fig. 1). La distribución de los seis organismos se hizo al azar en cada bloque.

En la parcela de cada organismo se utilizó una sub-parcela de 4 matas para cada método de inoculación. A su vez, en esta sub-parcela se aplicó un tratamiento para cada mata, y una cuarta mata se dejó como testigo.

Para cada tratamiento se inocularon por lo menos tres plantas en

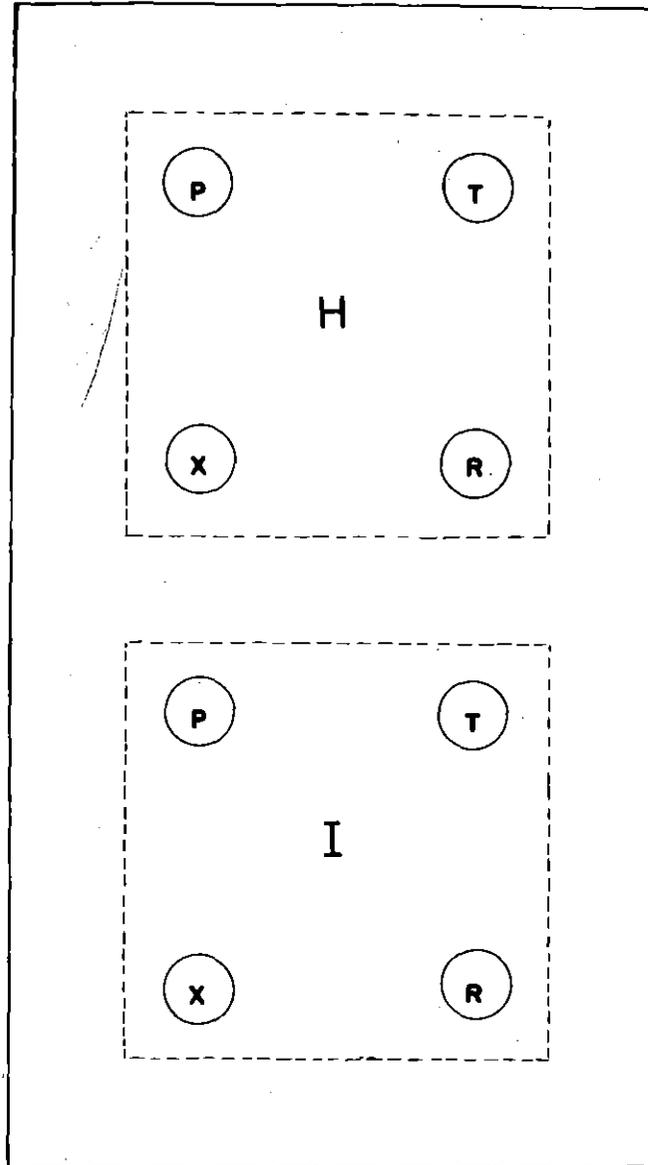


FIG. I. DISEÑO DE UNA PARCELA EXPERIMENTAL DE INOCULACION.

METODOS DE INOCULACION:

I . INYECCION

H . HERIDA

TRATAMIENTOS:

P . PECIOLO

T . PSEUDO-TALLO

R . RIZOMA

X . TESTIGO

cada replicación, y se dejó una planta como testigo. Se inocularon plantas en diferentes estados de crecimiento.

Para los tratamientos en el pecíolo se inocularon un mínimo de tres pecíolos en cada planta. En aquellas matas escogidas como testigos, se tomaron tres plantas en las cuales se aplicaron sendos tratamientos. Para los testigos de los tratamientos con inyección, se utilizó como inóculo agua destilada y esterilizada. Para los tratamientos con heridas se utilizó arroz cocido y esterilizado para los hongos, y papa dextrosa agar para las bacterias.

A partir de la fecha de inoculación y con el fin de anotar posibles síntomas externos se hicieron observaciones semanales en las parcelas de todos los organismos. Una vez terminado el experimento se recogió parte del material inoculado, para verificar reaislamientos empleando los mismos materiales y métodos utilizados en los aislamientos iniciales.

ESTUDIOS FISIOLÓGICOS Y MORFOLÓGICOS

El género Fusarium presenta mucha dificultad para su clasificación debido a la inconstancia de su comportamiento en sus características morfológicas y fisiológicas. En vista de la similitud de los aislamientos de Fusarium de abacá con el F. oxysporum f. cubense del banano se hizo un estudio de los cuatro hongos incluidos en las pruebas de patogenicidad, utilizando diferentes medios líquidos y sólidos.

MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS:

Los medios utilizados y su respectiva composición se dan enseguida:

MEDIOS LIQUIDOS:

Solución modificada de Richard, según Wellman (36):

KNO_3	10	gms.
KH_2PO_4	5	"
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.5	"
Sucrosa	50	"
Agua destilada hasta completar		1.000 cc.

Solución de Leonian

Bacto peptona	5.0	gms.
KH_2PO_4	1.0	"
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0	"
Maltosa	20.0	"
Agua destilada hasta completar		1.000 cc.

Solución de Toehinal

Bacto peptona	10.0	gms.
KH_2PO_4	0.5	"
Mg SO_4	0.25	"
Maltosa	20.0	"
Agua destilada hasta completar		1.000 cc.

Solución de Czapek:

Na NO_3	2.0	gms.
K_2HPO_4	1.0	"
KCl	0.5	"
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	"
Sucrosa	30.0	"
Agua destilada hasta completar		1.000 cc.

MEDIOS SEMI-SOLIDOS:

Papa dextrosa agar, según fórmula de Riker y Riker (26).

Arroz agar, según fórmula de Wardlaw (34):

Arroz pulido y molido	12.0	gms.
Bacto agar	3.0	"
Agua destilada	200	cc.

Arroz cocido:

Arroz pulido entero	10.0	gms.
Agua destilada	35	cc.

ESTUDIOS EN CUATRO SOLUCIONES:

Para observar el comportamiento de las cuatro formas de Fusarium en diferentes medios nutritivos se realizó un experimento con las soluciones de Richard, Czapek, Leonian y Tochinal. Las soluciones fueron distribuidas en Erlenmeyers de 125 ml. a razón de 25 ml. por recipiente. Las cuales se inocularon con porciones de cultivos jóvenes de los cuatro organismos desarrollados sobre papa dextrosa agar en platos de Petri, de los cuales se extraían con un perforador de cobre No. 1 de 4 mm. de diámetro. Durante el experimento, los cultivos se mantuvieron a la temperatura de laboratorio. Se tomaron datos de características morfológicas, coloración, olor, esporulación, formación esclerocios, esporodioscopionotes. A los 20 días de incubación se tomaron medidas del largo y el ancho de 100 microconidias, expresado en micras, de cada organismo en cada medio, para lo cual se empleó el método de cámara lúcida. A los 24 días se finalizó el experimento, determinándose el crecimiento vegetativo. Este se expresó en miligramos de micelio seco. El micelio se separó del medio del cultivo por medio del filtrado al vacío utilizando papel de filtro No. 42, secado y tarado. Seguidamente se

secó en estufa a 60°C durante 24 horas y finalmente se determinó el peso por medio de balanza analítica.

ESTUDIO EN TRES MEDIOS SEMI-SOLIDOS

Para el estudio en medio-sólidos se emplearon cultivos desarrollados sobre papa dextrosa agar no acidificados, arroz agar y arroz cocido, en platos de Petri, de 9.0 cms. de diámetro. En estos medios sólo se tomaron características morfológicas de los cuatro organismos. Los cultivos se mantuvieron a la temperatura de laboratorio durante las observaciones.

CRECIMIENTO A DIFERENTES TEMPERATURAS

Con el objeto de determinar las posibles diferencias de los cuatro organismos a diferentes temperaturas se realizó un experimento utilizando como medio de cultivo la solución de Richard. Se emplearon temperaturas de 20° a 40°C con intervalos de 5°. Los datos se tomaron a los 6, 12 y 18 días de incubación. El crecimiento se expresó como peso seco de micelio, en miligramos.

EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE IONES HIDROGENO

En este experimento se empleó como medio de cultivo, papa dextrosa agar con los siguientes grados de acidez: 3.0, 4.0, 4.7, 7.0, y 8.0. No se estableció la reacción de los medios de cultivo con solución "buffer". Se utilizó ácido láctico al 50% para acidificar y Na OH 0.0714 N como alcalinizante. Los cultivos se prepararon en platos de Petri, utilizando como inóculo porciones circulares extraídas de cultivos de 10 días de edad por medio de un perforador de 4 mm. de diámetro. Se observaron las diferentes características culturales de cada organismo

en cada punto de acidez y además se tomó el crecimiento radial a los 7 días de crecimiento.

También se tomó el incremento cada 24 horas, del crecimiento radial de los cuatro aislamientos cultivados sobre papa dextrosa agar con un pH aproximado de 4.5. Se hicieron lecturas del segundo al séptimo día de incubación. En cada colonia se tomó el diámetro mayor y el menor y se promediaron.

RESISTENCIA VARIETAL

Con el fin de evaluar la resistencia varietal al ataque de la Enfermedad Vascular se hicieron observaciones en una parcela experimental compuesta por cuatro variedades. En esta parcela las variedades fueron expuestas únicamente a infección natural. Las variedades en estudio fueron las siguientes: Bungulanon, Maguindanao, Tangongón y Libutón. Las cuales estaban dispuestas en bloques de 24 matas cada una, con excepción de la variedad Libutón que tenía 29 matas. El experimento se localizó en un área de la plantación Good Hope en Bataan, donde la enfermedad se presentó con caracteres muy severos. La siembra se hizo en marzo de 1953. Se hicieron observaciones en abril y julio de 1954 y en enero de 1955.

En el primer reconocimiento se observó solamente la incidencia de la enfermedad por mata en cada variedad. En el segundo y tercer reconocimiento se midió el grado de infección en cada mata, utilizando la siguiente escala, obtenida por apreciación personal en el campo:

- 0-) 0% de ataque. Matas sanas en la cual ninguna planta presenta síntomas externos ni internos.

- 1-) 1 a 25 % de ataque. Matas en las cuales la enfermedad se encontró en un grado poco severo en un número limitado de plantas. Generalmente no se observaron síntomas externos muy marcados.
- 2-) 26-50 % de ataque. Matas con un grado más avanzado de la enfermedad en un número mayor de plantas. En la mayoría de las veces alcanzando la mitad de los tallos. Por otro lado los síntomas externos son más marcados y hay retardo en el crecimiento normal de las plantas afectadas.
- 3-) 51-100 % de ataque. Matas con un grado muy avanzado de infección en la mayoría de las plantas. Se observa degeneración en el crecimiento, síntomas externos muy claros y una descoloración intensa de los haces vasculares del pseudotallo y aún del pecíolo y la vena central de algunas hojas.
- 4-) Matas replantadas debido al ataque severo de la enfermedad y la muerte de la mismas.

Para señalar el grado de infección en cada variedad, se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Grado de Infección varietal} = \frac{\text{Suma de grados de infección observados}}{\text{Grado máximo de infección esperado}} \times 100$$

Para obtener la severidad de la infección por mata en cada variedad, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Severidad de la infección por mata} = \frac{\text{Suma de grados de infección observados}}{\text{Número de matas infectadas}} \times 100$$

RESULTADOS EXPERIMENTALES

AISLAMIENTOS DE ORGANISMOS

De abacá de la variedad Bungulanon, afectado por la Enfermedad Vas-
cular en la Finca 5 de la plantación de Good Hope, se efectuaron 960 ais-
lamientos, los resultados de los cuales se presentan en la Tabla 1. En
estos aislamientos se encontró que una forma de Fusarium sp. (Fusarium
No. 9) asociado en algunos casos con diversos tipos de bacterias, se en-
contraba con más frecuencia en la zona del rizoma que en la parte aérea
de la planta atacada. De la hoja se aislaron algunas veces bacterias,
pero el Fusarium spp. no pudo ser reaislado. El Helminthosporium torulo-
sum que produce la Mancha Parda de la hoja (17) y la Mancha Roja del
pseudotallo (9), fué aislado usualmente de algunas vainas del pseudotallo
y de las hojas.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de los aislamien-
tos hechos de plantas de abacá de la variedad Tangongón afectadas por la
enfermedad, procedentes de un área localizada en la sección 22 de la Fin-
ca Sara. De estos aislamientos se obtuvieron dos tipos de bacterias
(A y B) del pseudotallo y rizoma respectivamente. Mientras que una forma
de Fusarium spp. (Fusarium No. 10) fué aislado del rizoma y pseudotallo
de una planta afectada.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los datos finales del experimento de inoculación se comenzaron a to-
mar a los 75 días de hechas las inoculaciones. Se tomaron datos de
668 inoculaciones, distribuidas así: 435 del pecíolo, 123 del pseudota-
llo y 111 del rizoma.

Tabla 1. Número de aislamientos y porcentajes de organismos aislados de plantas de la variedad Bungulanon, procedentes de la Finca No.5 de Good Hope (Bataan).

<u>Parte de la planta</u>	<u>Número de aislamientos</u>	<u>Fusarium</u>	<u>Bacteria</u>	<u>Otros organismos</u>	<u>Negativos</u>
Rizoma	240	80.5	19.5	—	—
Parte baja pseudotallo	200	55.4	21.5	11.5	11.6
Parte media pseudotallo	160	42.6	22.2	14.8	20.4
Parte alta pseudotallo	160	20.8	23.3	26.8	29.1
Pecíolo	110	1.7	17.9	49.6	30.8
Hoja	90	0.0	12.3	75.5	12.2

Tabla 2. Número de aislamientos y porcentajes y organismos aislados de plantas de abaca de la variedad Tangongón, procedentes de la Sección No. 22 de la Finca Sara (Bataan).

<u>Parte de la planta</u>	<u>Número de aislamientos</u>	<u>Fusarium</u>	<u>Bacteria</u>	<u>Otros organismos</u>	<u>Negativos</u>
Rizoma	95	16.3	39.3	1.7	42.7
Pseudotallo	120	16.4	28.6	13.2	41.8

En las observaciones periódicas verificadas desde que se hicieron las inoculaciones hasta que se tomaron los datos finales, no se apreciaron síntomas externos de la enfermedad. Los resultados finales se tomaron en base a la presencia o ausencia de la descoloración vascular interna producida alrededor del punto de inoculación. Los datos de la Tabla 3 muestran que las heridas estimularon la descoloración vascular en el pecíolo y en el pseudotallo, mientras que el rizoma no se obtuvo una diferencia amplia entre los dos métodos de inoculación. Esto último probablemente se deba a que en algunos casos ambos métodos resultaron poco eficientes por no haber alcanzado el rizoma. No se notó ninguna diferencia en susceptibilidad en relación con la edad de las plantas inoculadas, las cuales variaron de tres meses a un año.

Las plantas que se emplearon como testigos no presentaron descoloración vascular intenso, con excepción de una planta testigo de un tratamiento del *Fusarium* No. 9.

De los cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. inoculados, el *Fusarium* H del banano demostró ser el más virulento. Así en los tres tratamientos con inyección este organismo produjo porcentajes de infección mayores en todos los casos. Siendo notable la diferencia en relación con los resultados obtenidos con los tres aislamientos de *Fusarium* de abacá, solo en el rizoma el *Fusarium* No. 10 alcanzó un valor similar al del *Fusarium* del banano. En los tratamientos con heridas, el *Fusarium* H fué inoculado 15 días después de los aislamientos de abacá. Sin embargo, en el pecíolo produjo un porcentaje de infección mayor que los alcanzados por los aislamientos *Fusarium* No. 9 y *Fusarium* No. 12 de abacá; en el pseudotallo logró reducir un 100% de infección siendo igualada solamente

Tabla 3. Número de inoculaciones y porcentaje de infección en plantas de abaca de la variedad Bungulanon

Organismo Inoculado	Inyección			Herida		
	No. de inoculaciones C.D.V.*	S.D.V.*	% de infección	No. de inoculaciones C.D.V.	S.D.V.	% de infección
<u>PECIOLO</u>						
F-9	1	29	3.3	19	22	46.3
F-10	5	23	17.9	25	10	71.4
F-12	0	26	0.0	12	14	46.2
F-H	25	24	51.0	26	24	52.0
B-A	0	30	0.0	1	42	2.4
B-B	0	50	0.0	2	30	5.3
<u>PSEUDOTALLO</u>						
F-9	1	10	9.1	6	1	85.7
F-10	1	11	8.3	11	0	100.0
F-12	1	7	12.5	5	3	62.5
F-H	3	10	23.1	11	0	100.0
B-A	2	6	25.0	2	9	18.0
B-B	0	11	0.0	0	11	0.0
<u>RIZOMA</u>						
F-9	1	5	16.7	2	6	25.0
F-10	3	7	30.0	1	9	10.0
F-12	0	6	0.0	2	7	22.2
F-H	4	12	33.3	3	9	25.0
B-A	1	10	9.1	1	4	20.0
B-B	0	10	0.0	1	10	9.1

* C.D.V. Con descoloración vascular
S.D.V. Sin descoloración vascular

por el *Fusarium* No. 10, mientras que en el rizoma igualó el porcentaje de infección del *Fusarium* No. 9 de abaca. En cuanto a la virulencia de los tres aislamientos de abacá, el *Fusarium* No. 10 produjo porcentajes de infección mayores que los aislamientos No. 9 y No. 12, con excepción de los tratamientos con inyección en el pseudotallo y con herida en el rizoma en los cuales dichos organismos mostraron valores superiores. Los organismos *Fusarium* No. 9 y *Fusarium* No. 12 mostraron diferencias muy ligeras, excepto en los tratamientos con herida en el pseudotallo y con inyección en el rizoma en los cuales esta diferencia fué más amplia a favor del *Fusarium* No. 9. El *Fusarium* H, del banano, fué el único que logró producir síntomas foliares externos bien definidos (Figura 2), cuando la inoculación fué hecha en el pseudotallo previamente herido.

Los resultados obtenidos con las dos formas de bacterias, tanto en el pecíolo como en el pseudotallo y rizoma, revelaron que estos organismos fueron débilmente patogénicos en todos los tratamientos. Sin embargo la Bacteria A, mostró una planta con síntomas internos severos de descoloración vascular, y en otra síntomas débiles, de 11 plantas inoculadas por medio de heridas en el pseudotallo.

Los reaislamientos hechos para completar los postulados de Koch (Tabla 4, muestran que los cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. fueron obtenidos del pecíolo y pseudotallo en porcentajes altos que difieren ampliamente de los obtenidos con las bacterias. De lo cual se puede deducir que los hongos son los causantes de la descoloración vascular interna producida en los tejidos de las plantas inoculadas.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad, es evidente que la Enfermedad Vascular es producida por una o más

Tabla 4. Porcentajes de reaslamientos, de los seis organismos en cada replicación y promedio general para los mismos.

Orga- nismo	PECIULO			PSEUDOTALLO			RIZOMA			% medio de aislamien- to		
	1a.	2a.	3a.	1a.	2a.	3a.	1a.	2a.	3a.			
F-9	100.0	85.7	30.0	71.9	91.7	100.0	0.0	63.9	0.0	28.6	45.8	37.2
F-10	76.0	30.0	82.4	62.8	94.1	55.5	76.9	75.5	70.6	0.0	0.0	23.5
F-12	100.0	43.8	78.6	74.1	75.0	0.0	70.0	48.3	17.5	0.0	41.6	26.2
F-H	91.7	100.0	100.0	97.2	81.8	78.6	66.6	75.7	78.9	62.5	50.0	66.8
B-A	83.3	0.0	0.0	24.4	0.0	19.0	0.0	6.3	32.1	45.0	0.0	22.4
B-B	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	11.18	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0

formas de Fusarium spp., aunque ninguna de las aisladas de abacá demostró ser más virulenta que el F. oxysporum f. cubense (Fusarium H) del banano. Estos resultados también demuestran que las dos bacterias aisladas del rizoma y pseudotallo de abacá, no pueden ser consideradas como la causa primaria de la descoloración vascular, actuando posiblemente como organismos secundarios que conviven en los tejidos de las plantas afectadas con los agentes patógenos primarios.

ESTUDIOS FISIOLÓGICOS Y MORFOLÓGICOS

Para la descripción de las 4 formas de Fusarium usadas en este estudio se siguió el método empleado por Reinking y Wollenweber (25) en su estudio clásico sobre el género Fusaria. La calificación del color está dada de acuerdo con la llave de colores de la "Horticultural Colour Chart" (10) e identificada por el número clave que ocupan en la cartilla y las iniciales H.C.C. entre paréntesis

CARACTERÍSTICAS CULTURALES EN MEDIOS LÍQUIDOS

Seguidamente se da una descripción de las características culturales de los cuatro aislamientos de Fusarium desarrollados en cuatro soluciones nutritivas, durante 25 días bajo condiciones de laboratorio.

SOLUCION DE RICHARD:

Fusarium No. 9: Micelio aéreo poco compacto, con algunas áreas sumergidas, color similar al Rosa de Oriente, 416/3 (HCC.). Buena esporulación, en su totalidad microconidias hialinas, de forma elíptica. Esclerocios, plasmotes y esporodoquios ausentes. A los 25 días hubo formación de clamidosporas e hifas con células hinchadas. Olor característico ligeramente benzoico que también puede ser identificado como de fruta madura.

Fusarium No. 10: Abundante micelio aéreo de color salmón a blanco, 452/3 (HCC) muy fino, algodonoso. La superficie de la colonia muestra ligeras ondulaciones con pequeñas montañas donde el crecimiento de micelio es más denso. No se observaron cuerpos especiales. Esporulación regular o escasa, en su mayoría microconidias o-septadas, ovoides a elípticas; macroconidias tri-septadas, de forma falcada, pediceladas. Clamidosporas ausentes. Olor alcohólico. El substrato no presentó coloración apreciable, siendo en algunos casos similar a la observada en el micelio aéreo.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo muy abundante, algodonoso fino y compacto de color blanco. Sin embargo en algunos cultivos pudieron notarse cuerpos de apariencia algo rara, formados por la aparente concreción de micelio, los cuales emergían de la superficie del cultivo, siendo de aspecto rugoso y forma irregular. La esporulación muy abundante, solo microconidias, alípticas. Ningún olor característico ni coloración del substrato.

Fusarium H: Micelio aéreo, abundante uniforme, algodonoso. De topografía plana con ligeras ondulaciones. El color del micelio y substrato es de una rosa muy tenue similar al 512/3 (HCC). Esporodocios, pionotes y esclerocios ausentes. No hubo descoloración del medio de cultivo. Buena esporulación de macroconidias de o- a l-septada, hialina de la forma elíptica a ovales, macroconidias y clamidosporas ausentes. Se percibió un olor benzóico muy característico.

SOLUCION DE TOCHINAI:

Fusarium No. 9: Poco desarrollo de micelio aéreo, de color blanco,

pece compacto. El substrato es color blanco, moteado con un ligero matiz púrpura en los puntos de mayor crecimiento de micelio. La esporulación es muy escasa, solo microconidias, hialinas, elípticas, o-septadas. En cultivos de 25 días de incubación no se observaron macroconidias. Las clamidosporas abundantes, intercalares y terminales. Micelio con hifas de células granuladas, algunas hifas hinchadas. Presencia de pequeños esclerocios color verde oscuro, de unión del cultivo con el vidrio del recipiente. Olor benzóico o de fruta madura.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo abundante algodonoso muy denso y levantado con topografía ligeramente ondulada. En algunos cultivos se observaron esclerocios de color Azul Francés 43/1 (HCC), de 1 a 2 mm. de diámetro. Esporulación muy escasa. Microconidias en mayor número, hialinas, de forma oval, o-septadas. Macroconidias, de forma falcada, tri-septadas, pediceladas, A los 20 días se percibió un olor amoniacal bien perceptible. No hay descoloración del medio.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo muy exuberante, muy compacto con superficie plana, uniforme, color blanco, algodonoso, a los 20 días de edad aparecen tonalidades de Violeta Delfin 039 (HCC). Presencia de esclerocios de 1 mm. de diámetro, aproximadamente. Esporulación muy escasa, solamente microconidias hialinas, forma fusiforme en su mayoría, o- y 1-septadas. Formación muy abundante de clamidosporas, intercalares y terminales, agrupadas algunas veces en cadenas. Ningún olor característico.

Fusarium H: Micelio aéreo, poco abundante, muy escaso color blanco y presencia de ~~masas~~ sumergidas. La base del substrato presenta una coloración Lila Púrpura, 031/3 (HCC). Hay formación de pequeños esclerocios

de color verde oscuro, en los bordes de la colonia, en el punto de unión del micelio con la pared del recipiente, con un diámetro aproximado de 0.5 mm. La esporulación es muy escasa. Microconidias hialinas, elípticas y ovales, o-septadas. Clamidosporas en su mayoría terminales. Se percibe un olor benzoico característico.

SOLUCION DE CZAPEK:

Fusarium No. 9: Micelio aéreo escaso, algodonoso, fino, poco compacto. Topografía ondulada irregularmente. La base del substrato adquiere una coloración azul verdosa muy similar al Azul de Martín Pescador, 50 (HCC). Abundante formación de esclerocios dentro del substrato, de color verde oscuro. Esporulación regular a escasa. Solamente microconidias, hialinas ovaladas, o-septadas. No hubo macroconidias a los 25 días de crecimiento. Se observó la formación de clamidosporas terminales en su mayoría. Olor característico que puede identificarse como benzoico o de fruta madura. No hubo descoloración del medio.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo muy denso, algodonoso muy fino, color blanco. El substrato es color blanco con manchas en forma moteada Azul de Capri, 521/1 (HCC). La topografía es ligeramente ondulada. Formación de esclerocios en la base del estrato de color azul verdoso característico. Esporulación muy buena de microconidias hialinas, de forma ovalada a lenticular, o-septadas. A las 25 días de edad hay clamidosporas terminales e intercalares. No hubo macroconidias. No se percibió ningún olor característico, ni hubo descoloración del medio.

Fusarium No. 12: El micelio aéreo suelto y apariencia muy fina, filamentosa, color blanco. Como característica se observó la formación abundante de esclerocios esparcidos sobre la superficie del micelio aéreo,

en forma similar a una cabezuela de coliflor, color verduzco, parecido al 000858 (HCC), con diámetro variable de 1 a 3 mm. Esporulación regular, sólo microconidias, de forma elípticas a fusiformes, 0- y 1-septadas. No se encontraron macroconidias. Abundante cantidad de clamidosporas, terminales e intercalares. No se percibió ningún olor especial, ni hubo descoloración del medio.

Fusarium H: Buen desarrollo de micelio aéreo, aspecto fino compacto de color blanco. Algunos cultivos presentan en la base manchas de un color Verde Langite 53/2 a 53/3 (HCC). Formación de esclerocios, en número escaso. Otros cuerpos especiales ausentes. Buena esporulación. Solo microconidias, hialinas, de forma elíptica a ovalada, mayormente 0-septadas. Clamidosporas de poco tamaño en buena cantidad. Se percibe un olor característico, ligeramente benzoico.

SOLUCION DE LEONIAN:

Fusarium No. 9: Micelio aéreo, poco compacto, fino, coloreado con tonalidades que van del blanco a Rosa Neyron, 623/3 (HCC). El substrato es de color blanco, con manchas moteadas de color Malva Púrpura, 630 a 631/1 (HCC). La topografía tiene ligeras ondulaciones donde la coloración del micelio es más acentuadas. Cuerpos especiales ausentes. La esporulación es muy buena, microconidias de forma elíptica 0-septadas, clamidosporas ausentes. Olor bastante pronunciado benzoico que se puede identificar también como de fruta madura. No hubo descoloración del medio.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo abundante de color blanco, algodonoso, fino, muy compacto, topografía ligeramente ondulada. Substrato de

color Morado Imperial 33/2 (HCC). Cuerpos especiales ausentes. Esporulación buena, mayormente microconidias hialinas elípticas a ovaladas. Macroconidias en número muy escaso tri-septadas, falcadas. Abundante formación de clamidosporas redondas, terminales en su mayoría. No se percibió ningún olor característico.

Fusarium No. 12: Crecimiento abundante de micelio aéreo, color blanco, fino poco compacto, algedonoso. El substrate ofrece diversas tonalidades que van del Neyron Rosa, 623/2, al Malva Púrpura, 630/3 (HCC). En un cultivo se formaron pequeños esclerocios de color azul verdoso. A los 25 días de edad, se observó en un cultivo ~~un cultivo~~ de color salmón claro. Esporulación regular de microconidias, hialinas de forma fusiforme, 0-septadas. En el cuerpo pionnetico anotado arriba se observó abundancia de macroconidas 3- y 4-septadas, falcadas, pediceladas. En el micelio se pudo observar gran cantidad de clamidosporas, mono y bi celulares, localizadas en forma terminal e intercalar, algunas veces agrupadas en cadena. No se percibió ningún olor especial ni se descoloró el medio.

Fusarium N: Micelio aéreo, poco denso, fino. Diversas tonalidades de rosado que se identifican con el 623/2 (HCC). El color del substrate es blanco con manchas moteadas que van del Malva Púrpura 630/2 al Malva, 632/2 (HCC). Cuerpos especiales ausentes. Buena esporulación, solo microconidias que varían en forma de elípticas a ovales, 0-septadas. No se observó formación de macroconidias, ni clamidosporas. Se percibió un olor benzoico bastante pronunciado que puede ser identificado como de fruta madura.

En general los cuatro aislamientos de Fusarium spp. desarrollaron micelio aéreo en los cuatro líquidos, aunque hubo variación en la textura

y densidad del mismo entre los cuatro organismos en cada medio líquido. La coloración del micelio y de la base del substrato presentó ligeras variaciones en cada organismo, pero siempre con tendencia a una misma tonalidad, en una misma solución. La esporulación varió en cada medio líquido no existiendo una diferencia marcada en la esporulación de un organismo en relación con los demás. La esporulación estuvo constituida mayormente por microconidias de paredes delgadas, o-septadas, de forma elíptica, excepto aquellas del Fusarium No. 12 las cuales generalmente fueron de forma fusiforme. Generalmente no hubo producción de macroconidias, solo el Fusarium No. 10 las produjo, aunque en número muy escaso, en las soluciones de Richard, Tochinal y Leonian. En la solución de Czapek los cuatro organismos formaron abundante cantidad de esclerocios, mientras que no fué notada la formación de pionnotes o esporodoquios en las cuatro soluciones. El Fusarium No. 9 de abacá y el Fusarium H del banano, produjeron un olor benzoico o de fruta madura en los cuatro medios; el Fusarium No. 10 produjo un olor alcohólico en la solución de Richard, y amoniacal en la solución de Tochinal, mientras que el Fusarium No. 12 no produjo ningún olor característico en los cuatro medios.

CRECIMIENTO EN LOS CUATRO MEDIOS LIQUIDOS

Los resultados que se presentan en la Tabla 5, representan el crecimiento expresado en miligramos de micelio seco, a los 24 días de incubación. Cada dato es el promedio de seis replicaciones. Como puede verse los organismos alcanzaron un mejor crecimiento en la solución de Richard, aunque la desviación standard mostró los valores más altos en este medio. En la solución de Czapek hubo una disminución en el crecimiento de los cuatro organismos, siendo más pronunciada esta en los aislamientos

Tabla 5. Crecimiento de cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. en cuatro medios líquidos después de 24 días, expresado en miligramos de micelio seco. Diferencia de peso de los cuatro organismos en cada medio.

Orga- nismo	Solucion	Crecimiento medio mgs.	Desviación standard	Diferencia entre crecimientos medios		
				F-10	F-12	F-H
F-9	Richard	266.8	55.33	- 119.9**	- 179.0**	- 7.1
F-9	Tochinai	200.1	19.04	+ 49.5**	- 35.0*	+ 9.9
F-9	Czapek	248.8	37.15	+ 44.8*	- 29.7	+ 9.3
F-9	Leonian	186.6	23.95	+ 89.4**	- 63.2*	- 10.0
F-10	Richard	386.7	57.46	—	- 59.1	+112.8**
F-10	Tochinai	150.6	19.62	—	- 84.5**	- 39.6**
F-10	Czapek	204.0	15.99	—	- 74.5**	- 35.5
F-10	Leonian	97.2	10.43	—	- 152.6**	- 99.4**
F-12	Richard	445.8	34.75	—	—	+171.9**
F-12	Tochinai	235.1	21.15	—	—	+ 44.9**
F-12	Czapek	275.8'	8.27	—	—	+ 39.0
F-12	Leonian	249.0	11.54	—	—	+ 53.2**
F-H	Richard	273.9	53.48	—	—	—
F-H	Tochinai	190.2	19.28	—	—	—
F-H	Czapek	239.5'	40.74	—	—	—
F-H	Leonian	196.6	11.40	—	—	—

* t Significativo al nivel de 5%

**t Significativo al nivel de 1%

' Promedio de 5 replicaciones

+ Diferencia de crecimiento medio favorable al organismo de la columna

- Diferencia de crecimiento medio desfavorable al organismo de la columna



Fusarium No. 10 y Fusarium No. 12. La desviación standard en este medio fué alta en los organismos Fusarium No. 9 y Fusarium H, mientras que mostró niveles bajos para Fusarium No. 10 y Fusarium No. 12. El crecimiento en las soluciones de Tochinal y Leonian alcanzó niveles muy similares, con excepción del Fusarium No. 10 el cual mostró una disminución en el crecimiento en la solución de Leonian. La desviación standard en la solución de Tochinal es bastante uniforme en los cuatro organismos, variando de 19.04 en Fusarium No. 9 a 21.15 en Fusarium No. 12, mientras que en la solución de Leonian es bastante uniforme en los organismos Fusarium No. 10, Fusarium No. 12 y Fusarium H, mostrando un valor relativamente alto en el organismo Fusarium No. 9.

Se realizó en cada medio líquido una comparación estadística entre el crecimiento medio de los cuatro organismos. En la solución de Richard no hubo diferencia significativa entre el crecimiento medio de los organismos Fusarium No. 9, Fusarium H, Fusarium No. 10 y Fusarium No. 12, respectivamente. En los demás casos las diferencias fueron altamente significativas.

En la solución de Czapek el crecimiento de los cuatro organismos fué bastante uniforme. Solo hubo diferencia significativa entre Fusarium No. 9 y Fusarium No. 10 y altamente significativa entre Fusarium No. 10 y Fusarium No. 12.

En la solución de Tochinal hubo una variación apreciable en el crecimiento medio de los cuatro organismos. No alcanzó a ser significativa la diferencia de las medias entre Fusarium No. 9 y Fusarium H. Entre Fusarium No. 9 y Fusarium No. 12, la diferencia fué significativa al nivel del 5% mientras que en las demás comparaciones la diferencia de las medias

resultaron altamente significativas.

En la solución de Leonian, también se halló una variación notable en el crecimiento de los organismos. Se observaron los mismos resultados encontrados en la solución de Tochinai.

MEDICION DE MICROCONIDIAS

Los resultados de las mediciones tomadas a los 20 días de edad, en cada solución se muestran en la Tabla 6. Como puede verse hubo variación para el largo de los cuatro organismos en cada medio de cultivo, mientras que por otra parte el ancho fué poco variable. Los organismos Fusarium No. 9, Fusarium No. 10 y Fusarium H, produjeron microconidas de mayor longitud en la solución de Richard, mientras que Fusarium No. 12 tuvo microconidas de una longitud inferior a los alcanzados en los otros medios líquidos.

Las diferencias entre el largo promedio general de las microconidas resultaron significativas estadísticamente entre Fusarium No. 9 y Fusarium No. 12, como también entre este último y el Fusarium No. 10. En las demás comparaciones la diferencia no alcanzó a ser significativa.

CARACTERISTICAS CULTURALES EN MEDIOS SEMI-SOLIDOS

Se describen las características culturales de los cuatro aislamientos de Fusarium, cultivados sobre papa-dextrosa-agar, arroz agar y arroz pulido y cocido.

PAPA DEXTROSA AGAR: Las características que se dan a continuación se obtuvieron de cultivos desarrollados sobre papa-dextrosa-agar no acidificada, con un pH aproximado de 6.8, en los primeros 16 días de incubación, (Fig. 3).

Tabla 6. Diferencia en tamaño de las microconidias de 4 aislamientos de Fusarium (Nos. 9, 12, 10 y H) cultivados en cuatro medios líquidos.

Orga- nismo	Medio líquido	Largo*			Ancho*			Promedio Gen.	
		\bar{x}	Min.	Max.	\bar{x}	Min.	Max.	Largo*	Ancho*
F-9	Richard	8.38	4.38	13.75	2.46	1.25	3.75		
F-9	Tochinai	5.51	3.13	10.00	2.32	1.25	3.75		
F-9	Czapek	6.03	3.75	10.00	2.61	1.25	3.75		
F-9	Leonian	5.83	3.13	12.50	2.83	1.25	4.38		
								6.44	2.56
F-10	Richard	7.58	5.00	11.88	2.77	1.88	4.38		
F-10	Tochinai	6.22	3.75	8.75	3.13	1.25	4.38		
F-10	Czapek	4.68	2.50	8.38	1.91	1.25	3.13		
F-10	Leonian	5.66	3.13	11.88	2.04	1.25	3.13		
								6.04	2.46
F-12	Richard	6.92	3.75	11.25	2.17	1.25	3.13		
F-12	Tochinai	9.66	4.38	15.00	2.19	1.25	3.75		
F-12	Czapek	7.58	3.75	12.50	2.17	1.25	3.75		
F-12	Leonian	8.38	5.00	13.75	2.36	1.25	3.75		
								8.14	2.22
F-H	Richard	7.49	3.75	12.50	2.49	1.25	3.75		
F-H	Tochinai	5.96	3.75	8.75	2.96	1.25	3.75		
F-H	Czapek	5.51	2.50	11.25	2.06	1.25	3.75		
F-H	Leonian	7.37	5.00	11.25	2.82	1.25	4.38		
								6.58	2.58

* Las medidas de largo y ancho están dadas en micras.

Fusarium No. 9: Micelio aéreo abundante, moderadamente compacto, algodonoso, muy fino, colonia levantada ligeramente sobre la superficie del medio, plana, uniforme, sin anillos. Esporodoquios, pionnotes o esclerocios ausentes. La base del micelio adquiere una tonalidad rosácea muy ligera, que a los siete días de edad va cambiando a violeta azulado, alrededor del punto de transferencia, similar al Violeta de Pensamiento, 033/2 (HCC), con una tonalidad rosácea muy tenue hacia los bordes, El crecimiento es muy vigoroso y a los ocho días ya ha ocupado la superficie del plato de Petri. Hay buena esporulación, mayormente microconidias o-septadas. A los 32 días pueden observarse macroconidias tri-septadas en su mayoría, de forma falcada y pediceladas, cuyo tamaño en micras es de 26.4×3.8 ($18.1 - 36.3 \times 3.1 - 5.0$).

Fusarium No. 10: Micelio aéreo de desarrollo muy vigoroso, blanco, algodonoso, muy fino y compacto y levantado. El substrato a los 7 días de una tonalidad rosa muy pálida alrededor del punto de transferencia, luego semejante al Violeta Mineral 635/2 (HCC). Esclerocios, pionnotes y esporodoquios ausentes. Muy buena esporulación principalmente microconidias, elípticas a ovaladas. A los 20 días se observa formación de macroconidias, falcadas, en su mayoría tri-septadas, de tamaño medio en micras igual a 25.9×3.9 ($18.8 - 33.8 \times 3.9 - 5.0$).

Fusarium No. 12: Micelio aéreo filamentoso, en forma radial, mas denso en la parte central, alrededor del punto de transferencia, con apariencia de gasa. El micelio poco compacto, muy vigoroso. En los primeros días el substrato va adquiriendo una coloración rojo brillante, siendo más intenso alrededor del punto de transferencia. A partir de este punto se notan en el mismo substrato anillos donde la coloración es más intensa.

El rojo observado se identifica estrechamente con el 018/2 (HCC), aunque es más brillante. Los bordes son bien delimitados y la colonia es de forma circular muy uniforme. Con la edad el substrato adquiere un tinte púrpura muy intenso, y hay abundante formación de esclerocios. Esporulación buena, principalmente microconidias. A los 32 días de edad hubo formación de macroconidias en su mayoría tri-septadas, falcadas, el tamaño promedio en micras es de 25.2 - 4.0 (16.3 - 38.8 x 3.1 - 5.0).

Fusarium N: Crecimiento abundante de micelio aéreo, de color blanco algodonoso, muy fino, moderadamente compacto. Los bordes son filamentosos, irregulares y sumergidos en el medio. El substrato va tornándose de una rosa pálido muy tenue, pasando algunas veces a una mezcla de rosa y violeta, al cabo de los siete días de edad, la coloración es similar al Púrpura Magnolio 030/3 (HCC), siendo el tono más intenso alrededor del punto de transferencia. Esclerocios, pionnotes esporoquios ausentes. Esporulación muy abundante, en su mayoría microconidias de forma elíptica a oval, 0- y 1-septada. A los 32 días de edad se observa la presencia de macroconidias, tri-septadas, de forma falcada, de un tamaño promedio en micras de 24.1 x 3.6 (17.5 - 33.8 x 2.5 - 5.0).

ARROZ-AGAR: En la figura 4, se muestra el crecimiento de los cuatro organismos sobre este medio de cultivo a los 30 días de incubación bajo condiciones de laboratorio.

Fusarium No. 9: Micelio sumergido en los primeros días, filamentosos. A los 10 días de edad hay formación de micelio aéreo, algodonoso, poco abundante. Se nota una coloración resácea, identificada con el Rosa de Venecia, 420/1 (HCC). Abundante formación de esporoquios distribuidos

uniformemente sobre la superficie, de color blanco. Esclerocios y pionnotes ausentes. El substrato adquiere una coloración similar al observado en el micelio, con un tinte púrpura oscuro alrededor del punto de transferencia. Usualmente pionnotes o esclerocios ausentes. A los 15 días se percibe un olor benzoico característico, sin embargo, se va haciendo menos intenso a medida que el cultivo se va haciendo más viejo.

Fusarium No. 10: En los primeros días el micelio es sumergido, pero a los 10 días hay formación exuberante de micelio aéreo de color blanco, algodonoso, levantado poco compacto. Esclerocios, esporodoquios y pionnotes ausentes. El substrato adquiere una coloración purpurácea muy débil alrededor del punto de transferencia, que contrasta con el color del medio que es amarillo pajizo. No se percibe ningún olor característico.

Fusarium No. 12: A los 10 días hubo abundante micelio aéreo muy fino, algodonoso de color rosa claro, con tonalidades que van de la Rosa Francesa, 520/3 al Rosa Concha 516/3 (HCC). Hay formación de esclerocios cubiertos de una cepa de micelio blanco compacto, con un tamaño que varía de 1.0 a 0.5 mm. de diámetro. También esporodoquios de color blanco, aunque en número muy escaso, pionnotes ausentes. El substrato toma una coloración ligeramente rosa que se identifica 512/2 (HCC). No se percibe ningún olor especial.

Fusarium H: En los primeros días el crecimiento es sumergido en el medio. A los 15 días de edad se observa la formación de micelio aéreo, mayormente en los bordes de la colonia, disminuyendo gradualmente hacia el centro del plato de Petri, poco levantado y poco compacto, fino, de color Rosa de Venecia, 420/2 a Rosa Claro, 427/2 (HCC). Abundante formación de esporodoquios sobre la superficie. Pequeños esclerocios de

color pardo oscuro, cubiertos por delgadas capas de micelio aéreo. El substrato tiene un color similar al Rosa de Venecia, 420 (HCC). Se percibió un olor benzoico característico, que va perdiendo intensidad con la edad del cultivo.

ARROZ PULIDO COCIDO: En la Figura 5, se muestra el crecimiento de los cuatro organismos sobre este medio de cultivo a los 30 días de incubación bajo condiciones de laboratorio.

Fusarium No. 9: Micelio aéreo denso afelpado, de color blanco, en forma exuberante sobre la superficie del medio. El crecimiento lo hace siguiendo la superficie de los granos de arroz, por lo cual la topografía se nota muy sinuosa. A los 20 días de edad va adquiriendo una tonalidad rosácea moteada en toda la superficie. Esta coloración es similar al tono Rosa Francesa 520 (HCC), en su diferentes gamas. Esclerocios, pionnetes y esporodoquios ausentes. Se percibe un olor benzoico característico muy pronunciado. El substrato toma una coloración rosada, que se torna roja en la superficie de contacto de los granos de arroz. Con la edad el micelio aéreo y el substrato van perdiendo su color variando a lila púrpura, muy poco intenso.

Se produce esporulación abundante de microconidias, de forma elípticas a ovoide, mayormente 0-septadas, aunque aparecen algunas 1-septada. No se observaron macroconidias. En cultivos de 80 días la esporulación es poco abundante. Clamidosporas terminales e intercalares, de forma redonda.

Fusarium No. 10: En los primeros días se nota formación exuberante de micelio aéreo, blanco muy compacto, fino. A los 12 días de incubación ha cubierto toda la superficie del medio. De aspecto afelpado, color

blanco, sin ninguna tonalidad. El substrato tampoco adquiere ningún color aunque algunas veces se pueden presentar algunas de color lila púrpura.

A los 15 días de edad la esporulación es bastante buena aunque se observan únicamente microconidias. A los 80 días se observó la desintegración del tejido micelial. Las microconidias son de forma ovoide a elípticas. Clamidesporas ausentes. No se percibió ningún olor especial.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo algodonoso, fino, abundante y compacto. En la superficie se observa una delgada capa de micelio fino y filamentosa, que cubre las sinuosidades del medio. En la parte central alrededor del punto de transferencia, se observa una coloración rosácea, similar al tono 520/2 (HCC), que se hace menos intenso hacia los bordes hasta aparecer casi blanco. En el substrato se nota abundante formación de esclerosios de superficie irregular, con apariencia de pequeños granos de arena, de 1.5 mm. de diámetro. El substrato tiene una coloración similar al Rosa Claro 427/3 (HCC).

La esporulación es bastante buena, observándose microconidias solamente, su forma varía de elíptica a fusiforme, o a 1-septadas. A los 80 días todavía se observa una esporulación muy buena, y abundante formación de clamidosporas. terminales e intercalares. El micelio adquiere una apariencia afelpada.

Fusarium H: En los primeros días hay formación de micelio blanco, algodonoso, muy fino que se extiende muy rápido sobre la superficie del medio. Se adhiere a la superficie de los granos de arroz estrechamente, dando una apariencia bastante sinuosa. A los 20 días el micelio va adquiriendo una tonalidad rosácea que presenta las diferentes gamas de Rosa Francesa, 520 (HCC). El substrato se torna también de color rosa,

presentando en algunos casos areas de un tono vivó. La coloración es más definida que en el *Fusarium* No. 9. Con la edad el micelio aéreo va perdiendo su color hasta tornarse a un rosa muy pálido, con apariencia afelpada. Se percibe un olor benzóico, característico, poco pronunciado que se hace poco perceptible en cultivos de más de 40 días de edad.

En los primeros 15 días se observa una esporulación muy buena, de microconidias, elípticas a ovoides, mayormente o-septadas. A los 80 días la esporulación es muy escasa, no se observa formación de clamidosporas.

En los tres medios semi-sólidos empleados, los cuatro aislamientos de *Fusarium* spp. presentaron variaciones en características culturales en cada medio. El *Fusarium* No. 9 de abacá y el *Fusarium* H del banano, tuvieron características muy similares en cuanto a la textura, coloración y apariencia del micelio aéreo, ambos organismos produjeron un olor benzóico característico al ser cultivados sobre medios que contenían arroz; generalmente no produjeron esclerocios ni pionnotes, mientras que en el medio de arroz-agar hubo abundante cantidad de esporodoquios y el micelio aéreo fué poco denso en ambos organismos. El *Fusarium* No. 10 desarrolló generalmente un tipo de micelio aéreo muy fino y compacto de color blanco, no produjo ningún olor característico y hubo ausencia de esclerocios, esporodoquios y pionnotes en los diferentes medios. No coloreó el substrato, excepto en el medio de papa-dextrosa-agar que produjo una coloración violeta pálida. El *Fusarium* No. 12 desarrolló en medio de papa-dextrosa-agar un tipo de micelio aéreo filamentososo, poco fino y poco compacto, que difiere en apariencia de los otros aislamientos. Produjo abundante cantidad de esclerocios en los diferentes medios, mientras que hubo ausencia de esporodoquios y pionnotes. No produjo olor perceptible en ningún medio.

Los cuatro organismos produjeron sobre papa-dextrosa-agar macroconidias tri-septadas, pediceladas, de forma falcada con poca variación en el tamaño promedio. Los aislamientos Fusarium No. 10 de abacá y Fusarium H de banano no produjeron clamidosporas en medio de arroz cocido. Ningún organismo produjo macroconidias en los medios que contenían arroz, sólo se observaron microconidias con características similares a las obtenidas en los cuatro medios líquidos.

EFECTO DE LA TEMPERATURA

En este experimento se tomaron datos de cada temperatura a los 6, 12 y 18 días de incubación. Los valores obtenidos son el peso promedio de tres cultivos, expresado en miligramos. No se tomaron datos en la temperatura de 40°C del Fusarium No. 10 a los 12 días, ni de los cuatro organismos a los 18 días debido que sufrieron contaminación de otros organismos por exceso de humedad en la cámara de incubación.

Los resultados obtenidos se muestran en el Gráfico No. 1. El Fusarium No. 9 tuvo un crecimiento óptimo a la temperatura de 30°C. El crecimiento a este nivel de temperatura mostró diferencias significativas en los tres períodos en relación con el alcanzado a las temperaturas de 25° y 35°C.

El Fusarium No. 10 mostró un comportamiento muy variable. A los 6 días no hubo diferencia significativa entre los crecimientos alcanzados a los 25°C y 30°C que fueron respectivamente 191.4 y 190.4 miligramos. A los 12 días hubo un aumento notable en el crecimiento a la temperatura de 25°C, alcanzando un crecimiento óptimo en relación con las cifras obtenidas en las otras temperaturas. A los 18 días hubo un aumento apreciable en el crecimiento a los 20°C. No hubo diferencia significativa

..... 18 DIAS
- - - - 12 DIAS
- - - - 6 DIAS

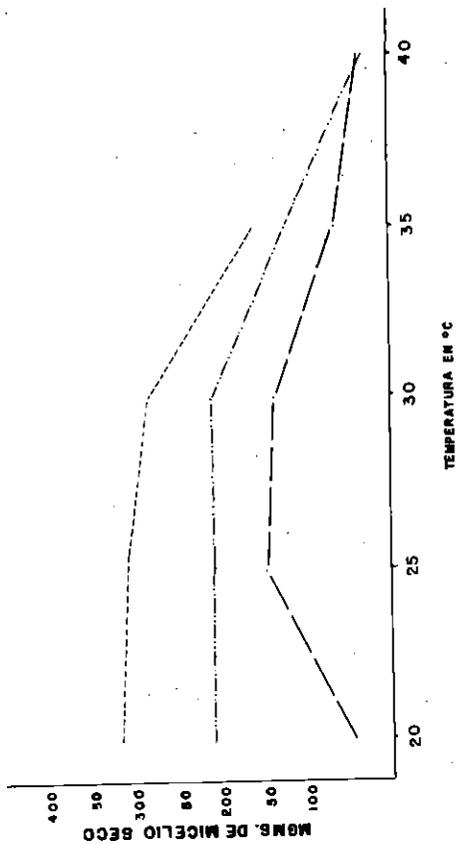
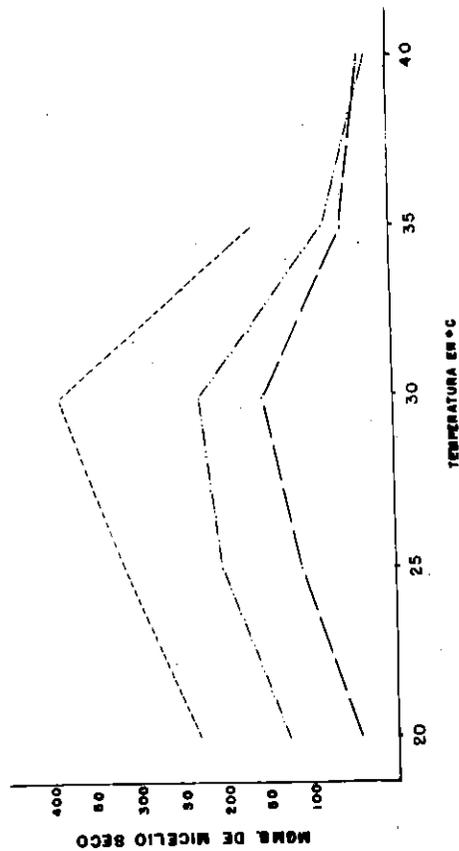
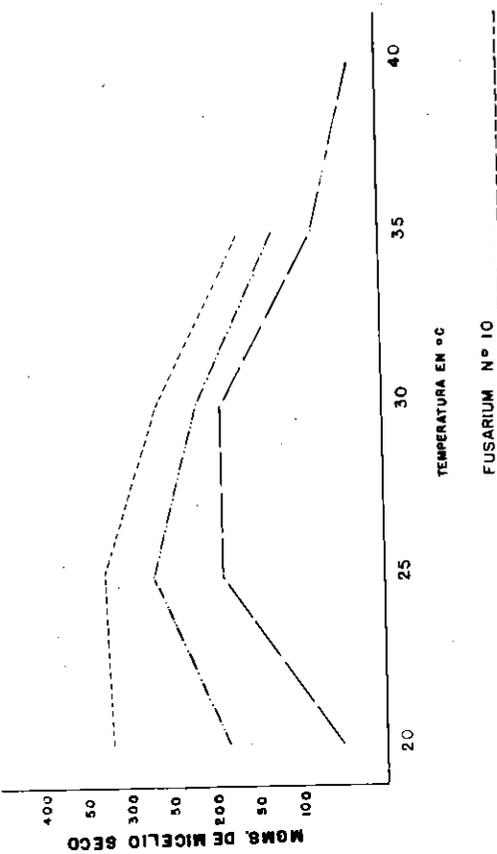
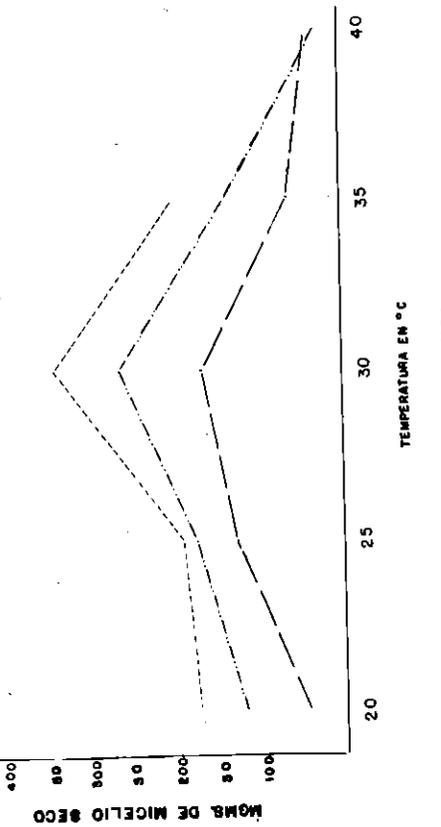


GRAFICO 1 : EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO DE CUATRO AISLAMENTOS DE FUSARIUM A LOS 6, 12 Y 18 DIAS DE INCUBACION EN SOLUCION DE RICHARD.

Entre los crecimientos alcanzados a 20°C y 25°C que fueron de 321.5 y 29.2 miligramos, respectivamente, mientras que si hubo una diferencia significativa entre los crecimientos obtenidos a 25°C y 30°C, favorable a la primera temperatura.

El *Fusarium* No. 12 muestra un desarrollo uniforme en los tres periodos. Los resultados muestran un crecimiento óptimo a la temperatura de 30°C a los 6, 12 y 18 días de incubación. Hubo diferencia significativa en relación con los crecimientos obtenidos a la temperatura de 25°C, a los 6 y 18 días, mientras que a los 12 días no hubo significación.

Los resultados obtenidos con el *Fusarium* H no son muy consistentes y no muestran un nivel óptimo a una temperatura dada. Así se puede observar que a los 6 días de incubación el crecimiento obtenido a los 25°C y 30°C fué respectivamente de 138.8 y 148.8 miligramos, no alcanzando un nivel significativo, la diferencia de estos dos valores. A los 12 días de incubación los crecimientos mostrados a los niveles de temperatura de 20°C, 25°C, y 30°C, resultan aproximadamente similares. No se encontró diferencia significativa en la comparación de los tres crecimientos entre si. A los 18 días se obtuvieron resultados similares a los del anterior período.

EFEECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE IONES HIDROGENO

Este experimento se hizo sobre medio semi-sólido. Los resultados se tomaron a los 7 días de incubación, el crecimiento radial dado es el promedio de dos replicaciones. Como puede apreciarse en el Gráfico 2, y en las Figs. 7, 8, 9, y 10, se nota un aumento en el crecimiento radial de los cuatro organismos a medida que disminuyó la acidez. Por otro lado

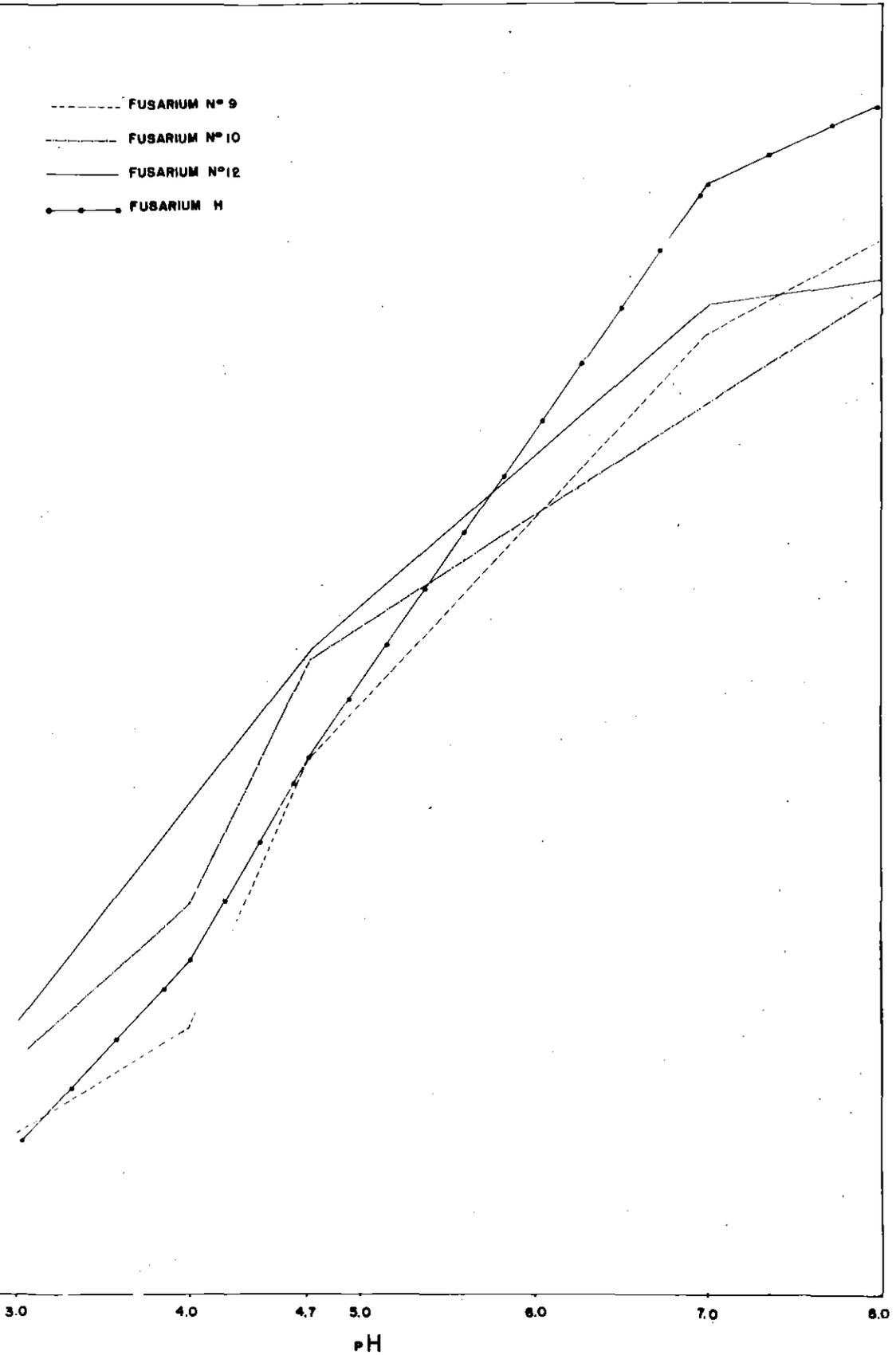


GRAFICO 2. EFECTO DE LA CONCENTRACION DE IONES HIDROGENO SOBRE EL CRECIMIENTO DE CUATRO AISLAMIENTOS DE FUSARIUM, A LOS SIETE DIAS DE INCUBACION EN PDA.

la rata de incremento radial en los organismos 9, 10 y H se mantienen en aumento hasta llegar al pH de 7.0, disminuyendo notablemente a un pH de 8.0. En el *Fusarium* 12 la rata de incremento radial disminuye a un pH de 4.7, con relación al incremento observado en el pH 4.0. Aumenta de nuevo en el pH 7.0 por último en el pH 8.0 disminuye notablemente.

Seguidamente se da una descripción de algunas características culturales de los diferentes aislamientos en cada grado de acidez:

pH 3.0

Fusarium No. 9: Colonia circular, micelio aéreo abundante con bordes bien definidos, muy fino, afelpado. Formación de una zona circular alrededor del punto de transferencia coloreada de rosado pálido, similar al 0621/2. El substrato también adquiere una coloración identificada como 0619/1 a 0619/2 (HCC).

Fusarium No. 10: Micelio aéreo muy compacto y levantado afelpado, muy fino. La base color Rosa Francesa.

El substrato tiene una coloración similar al Rosa Espinel, 0625/3 (HCC).

Fusarium No. 12: Micelio aéreo muy poco denso, filamentoso y poco levantado color blanco. La colonia es de un crecimiento circular uniforme, el substrato tiene una coloración rojo brillante similar al 820/3 (HCC).

Fusarium H: Micelio aéreo con bordes bien definidos, compacto, afelpado. La parte aérea presenta una zona circular coloreada similar al Rosa Imperio 0621/2 (HCC). El substrato presenta una coloración identificada como Rosa Coral 0691/3 (HCC).

PH 4.0

Fusarium No. 9: Micelio aéreo abundante, poco denso, bordes blancos, con una coloración Rosa Espinel 0625/3 (HCC) alrededor del punto de transferencia. El substrato toma coloración similar al rosa Imperio 0621 (HCC) menos intensa hacia los bordes.

Fusarium No. 10: Crecimiento aéreo abundante, afelpado, muy compacto y levantado. Tiene una coloración rosácea, apenas perceptible. El substrato adquiere una coloración muy similar al Phlox Rosa claro, 625/3 (HCC), alrededor del punto de transferencia.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo filamentososo, poco denso, poco levantado, con la base de un color rosado similar Phlox Rosa Claro (625/3.) El substrato adquiere una tonalidad identificada como Neyron Rosa 623/3 (HCC).

Fusarium H: Micelio aéreo algodonoso, fino regularmente compacto, con una coloración alrededor del punto de transferencia, similar al Rosa de Amanecer 523/3 (HCC). El substrato adquiere la misma coloración.

PH 4.7

Fusarium No. 9: Micelio aéreo algodonoso, fino, regularmente compacto, levantado, de color blanco. El substrato adquiere una tonalidad violeta, 42/3 alrededor del punto de transferencia, que va cambiando a rosado hacia los bordes, 0621/2 523/2 (HCC). Formación de saltantes en forma de zonas triangulares, en donde el micelio aéreo es menos denso.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo abundante, levantado, bien compacto, algodonoso fino, color blanco. En el substrato se observa una coloración identificada como Lino Azul 642/3 (HCC), alrededor del punto

de transferencia, algunas veces con una tonalidad rosácea. La colonia es circular con bordes bien delimitados. Se observa la formación de saltantes en forma de zona triangulares donde el crecimiento de micelio aéreo es menos denso y la coloración del substrato es más intensa.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo poco denso, filamentosos, de color rosa muy pálido. La colonia es de forma circular con bordes bien definidos. El substrato toma una coloración similar al Rosa Concha 516/3, siendo más intensa en el punto de transferencia.

Fusarium H: Micelio aéreo algodonoso, regularmente compacto, de color blanco con un tono rosáceo muy tenue alrededor del punto de transferencia. El substrato adquiere una coloración similar al Rosa Claro, 427/3. No se observó formación de saltantes. Colonia de forma irregular con bordes lobulados.

PH 7.0

Fusarium No. 9: Micelio aéreo blanco, ligeramente púrpura alrededor del punto de transferencia, formación abundante, algodonoso, colonia circular, con bordes filamentosos, sumergidos. Presencia de saltantes en forma de zonas triangulares donde el crecimiento de micelio es menos denso. El substrato toma una coloración similar al Malva Púrpura, 630/3.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo abundante, muy fino, algodonoso, bastante levantado, color blanco. El substrato tiene una coloración violeta azulesa identificada 642/3, pudiendo estar mezclado con tonalidades de Morado Rodhamine 29/3. Hay presencia de saltantes. La colonia de forma irregular con bordes lobulados.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo filamentosos, poco fino, aspecto levantado, color blanco, tonalidad purpurácea, tenue, alrededor del punto

de transferencia. El substrato tiene una coloración 633/3 con estrias radiales muy finas, de un tono más intenso.

Fusarium H: Micelio aéreo abundante, levantado, de aspecto algodonoso, regularmente compacto, con bordes sumergidos, filamentosos, de color blanco. El substrato tiene una coloración Violeta Aster 38/3 (HCC), alrededor del punto de transferencia, que se torna rosáceo hacia los bordes. Formación de saltantes en el micelio en forma de zonas triangulares donde el crecimiento es menos denso.

pH 8.0

Fusarium No. 9: Micelio aéreo abundante, levantado, de aspecto algodonoso, regularmente compacto, con bordes sumergidos, filamentosos, de color blanco. El substrato tiene una coloración Violeta Aster 38/3 (HCC), alrededor del punto de transferencia, que se torna rosáceo hacia los bordes. Formación de saltantes en forma de zonas triangulares donde el micelio aéreo es menos denso.

Fusarium No. 10: Micelio aéreo exuberante y levantado muy fino, de aspecto algodonoso, color blanco. En este organismo se nota que una misma colonia tiene dos formas de bordes, uno bien definido, poco lobulado, y otro sumergido filamentosos y muy lobulado. El substrato es de color blanco, con una zona azulacea, Azul Cobalto, 44/3 (HCC), alrededor del punto de transferencia.

Fusarium No. 12: Micelio aéreo abundante, regularmente compacto, filamentosos, poco levantado. Colonia en forma irregular, con bordes de lóbulos profundos. Formación de saltantes, en los bordes de la colonia, donde el crecimiento es menos denso. El substrato tiene una coloración similar al Azul Sialia, 042/2 (HCC).

Fusarium H: Micelio aéreo abundante, levantado, de color blanco algodonoso, compacto. Colonia circular con bordes sumergidos filamentosos. El substrato es de color blanco con un ligero tinte rosáceo. Algunas veces se puede notar la presencia de una tonalidad azulada, Azul Sialia, 042/3, alrededor del punto de transferencia.

CRECIMIENTO RADIAL A UNA CONCENTRACION DE IONES HIDROGENO

En este experimento se observó el incremento radial de los cuatro organismos cultivados sobre PDA con un pH aproximado de 4.5. Los datos presentados en el Gráfico 3 son el promedio de cuatro replicaciones. Como puede verse el Fusarium No. 9 y el Fusarium H mostraron un crecimiento bastante similar hasta las 72 horas de incubación, a partir de entonces hubo un aumento, ligeramente favorable, en la rata de crecimiento del primer organismo. El Fusarium No. 12 alcanzó un crecimiento radial mayor que el de los otros tres organismos de acuerdo con los datos obtenidos en los diferentes observaciones, mientras que en el Fusarium No. 10, dicho crecimiento puede considerarse como intermedio entre el observado en los dos primeros organismos y el del Fusarium No. 12.

RESISTENCIA VARIETAL

Los resultados que aparecen en la Tabla 7 y Figura 10, indican la infección natural en el campo de las cuatro variedades incluídas en el experimento, considerada bajo tres aspectos diferentes. Primero, la incidencia de ataque indica solamente el número de matas afectadas por parcela varietal en cada reconocimiento. El grado de infección muestra la intensidad del ataque alcanzado por la Enfermedad Vascular en cada variedad, mientras que el índice de severidad de la infección proporciona un promedio

Tabla 7. Resistencia de cuatro variedades de abacá a la Enfermedad Vascular, en base a la infección natural en el campo. La incidencia de ataque y el grado de infección por variedad, y la severidad de la infección por mata.

Variedad	No. total de matas por parcela	No. de matas enfermas en cada observación			Grado de infección		Indice de Severidad de infección x mata	
		1er cimiento	2do cimiento	3er cimiento	Varietal	2do reconto	3er reconto	2do reconto
Bungulanon	24	12	22	24	61.5	100.0	2.68	4.00
Libutón	29	8	13	20	16.4	25.9	1.46	1.50
Tangongón	24	2	3	5	5.2	8.3	1.66	1.60
Manguindanao	24	0	2	6	2.1	8.3	1.00	1.33

1/ Según fórmula dada en el Capítulo de Materiales y Métodos.

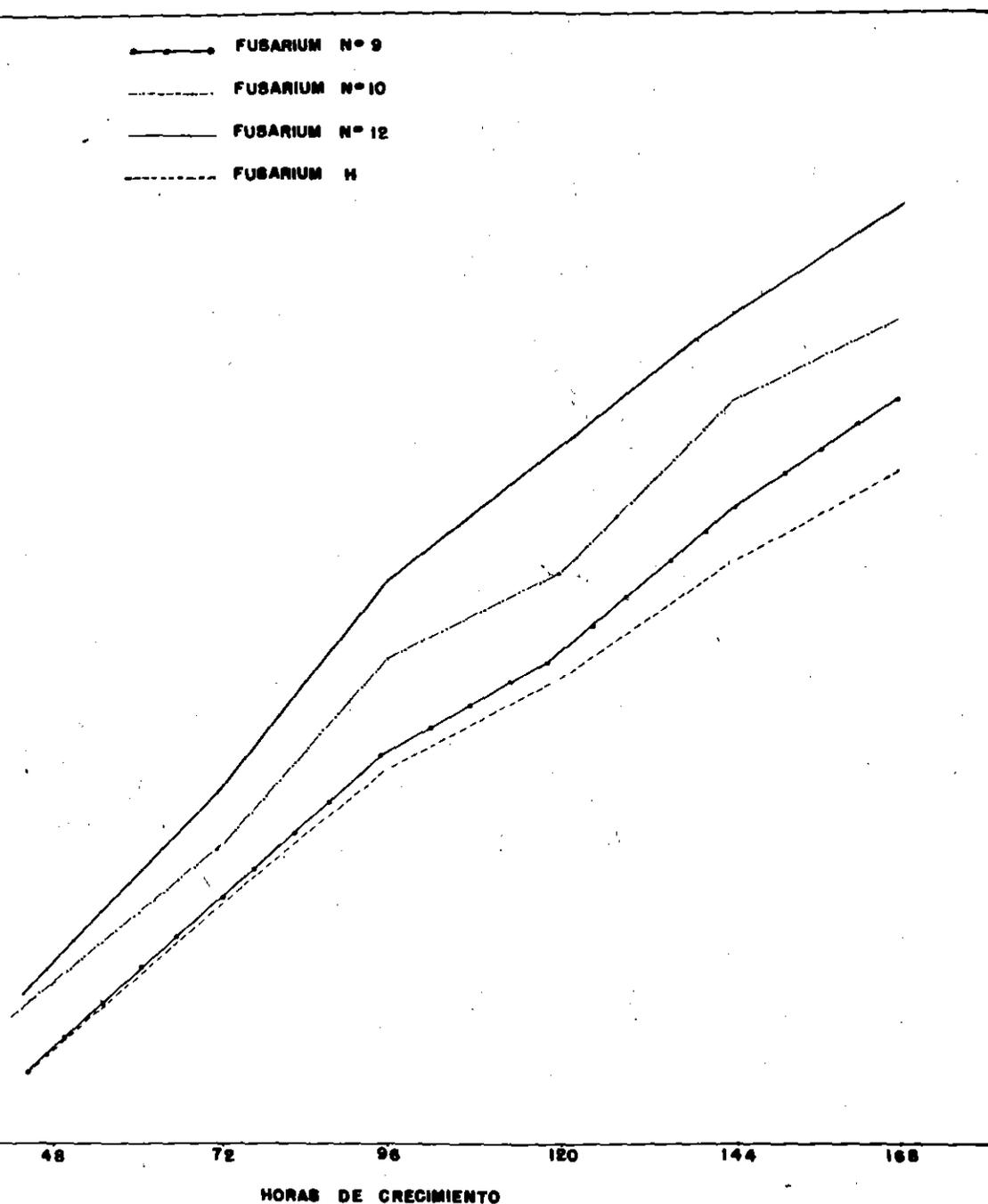


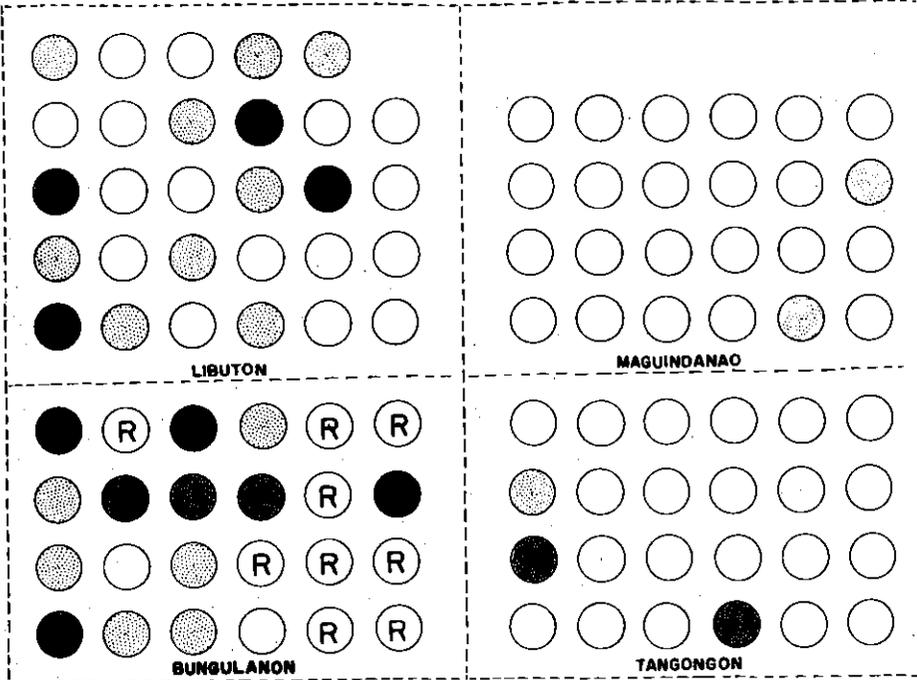
GRAFICO 3. : CRECIMIENTO RADIAL DE CUATRO AISLAMIENOS DE FUSARIUM SOBRE PDA CON UN PH DE 4.5

de la intensidad de la infección x mata en cada variedad, relacionándola con la escala establecida en el capítulo de Materiales y Métodos.

Durante los tres reconocimientos verificados en este experimento, los resultados mostrados en la Tabla 7 indican que la variedad Bungulanon tiene una mayor susceptibilidad, no sólo por la incidencia de la enfermedad en la parcela, sino por la severidad de la infección en las matas. En esta variedad las plantas no alcanzaron su desarrollo normal y en general tenían poca cantidad de hijos. En el reconocimiento final todas las plantas de la parcela habían sucumbido al ataque. La variedad Libutón precedió a la Bungulanon en grado de susceptibilidad. Hubo un aumento gradual en el número de matas atacadas, a través de los tres reconocimientos. Sin embargo, el grado de infección y la severidad de la infección por mata muestran diferencias favorables en relación con la anterior variedad. La incidencia de la enfermedad en la variedad Tangongon y Manguindanao mostró cifras bajas en relación con aquellas observadas en las otras variedades. Parece evidente que hay una similitud en el grado de resistencia de estas dos variedades. En la variedad Tangongon la severidad de la infección por mata es ligeramente mayor que en la variedad Maguindanao, y además esta variedad parece ser menos susceptible a la enfermedad cuando las plantas están jóvenes ya que en el primer reconocimiento no se observó incidencia en ninguna de las matas de la parcela.

En el tercer reconocimiento, se observó una disminución en el grado de infección en dos matas de las variedades Libutón y Tangongón respectivamente. Esto posiblemente se deba al recobramiento parcial de la infección en dichas matas por el crecimiento de hijos nuevos libres de ataque, o también a un error de apreciación al hacer la calificación en el campo.

2º RECONOCIMIENTO



3º RECONOCIMIENTO

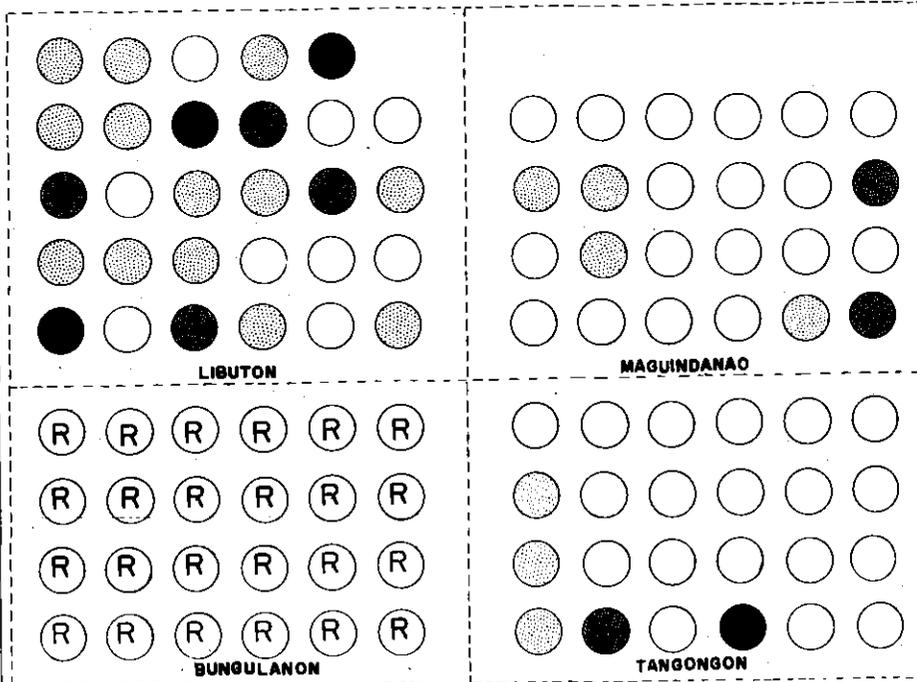


FIG. 10. INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD VASCULAR EN CUATRO VARIEDADES DE ABACA A LOS 17 Y 22 MESES DE EDAD, MOSTRANDO EL GRADO DE INFECCION POR MATA EN CADA RECONOCIMIENTO.

GRADO DE INFECCION:

- MATAS SANAS
- 51-100% DE INFECCION
- ◐ 1-25% DE INFECCION
- (R) MATAS REPLANTADAS
- ◑ 26-50% DE INFECCION

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Por el hecho de haberse aislado tres formas de Fusarium spp. y dos tipos de bacterias, de plantas de abacá afectadas con la Enfermedad Vascul ar en diferentes localidades, se hizo necesario estudiar la patogenicidad relativa de estos organismos como posibles agentes causales de la enfermedad. Fué necesario también comparar la patogenicidad de los aislamientos de Fusarium de abaca con el F. oxysporum f. cubense que produce la Enfermedad de Panamá del banano.

El comportamiento de las tres formas de Fusarium spp. del abacá y del Fusarium del banano, indica que estos organismos son capaces de producir síntomas internos de descoloración vascular, característicos de la enfermedad en el abacá. Se encontró además, que la Bacteria A, aislada del pseudotallo de una planta enferma de la variedad Tangongon, posee propiedades patogénicas muy débiles, mientras que la bacteria B, obtenida del rizoma de una planta de la misma variedad no demostró patogenicidad en ninguno de los tratamientos. Esto confirma los resultados obtenidos en las Islas Filipinas por Leoncio (14) y Castillo y Celino (4), quienes lograron resultados positivos en inoculaciones cruzadas de aislamientos de Fusarium de abacá y banano. A su vez Waite (31) en Honduras, corroboró los resultados anteriores al producir síntomas de la enfermedad en plantas maduras de abacá con aislamientos de Fusarium de abacá y banano, estableciendo que "la Enfermedad Vascul ar del abacá y la Enfermedad de Panamá del banano, son causadas únicamente por el F. oxysporum f. cubense sin la necesaria asociación de bacterias u otros organismos. En general el Fusarium del banano, mostró mayor virulencia que las tres

formas de Fusarium de abacá. En las inoculaciones hechas en el pecíolo pseudotallo y rizoma alcanzó porcentajes mayores de infección y pudo ser reaislado de los tejidos afectados en una proporción mayor que la lograda con los otros organismos. Además fué el único organismo que logró producir síntomas externos característicos en el follaje al final del experimento. En cuanto a la patogenicidad relativa de los aislamientos de Fusarium de abacá, los resultados parecen indicar que el Fusarium No. 10, es más virulento que los otros dos aislamientos, puesto que los porcentajes de infección observados en el pecíolo, pseudotallo y rizoma son en la mayoría de los casos favorables a dicho organismo (Tabla 3). La patogenicidad de los aislamientos No. 9 y No. 12, no mostró una diferencia notable en los diferentes tratamientos ensayados.

Las dos Bacterias (A y B), aisladas de abacá, pueden considerarse como organismos secundarios, ya que fallaron para producir consistentemente síntomas internos de descoloración vascular en las plantas inoculadas. Por otra parte en aquellos casos en que dicho síntoma fué observado, estos dos organismos no pudieron ser reaislados de los tejidos afectados en porcentajes altos.

En cuanto a los métodos de inoculación ensayados, se encontró que las heridas estimularon el desarrollo de la descoloración vascular a partir del punto de inoculación, en el pecíolo y en el pseudotallo, en comparación con las inyecciones que produjeron resultados poco satisfactorios en estas dos partes de la planta. En el rizoma no se observó una diferencia muy amplia entre los dos métodos de inoculación. De los seis tratamientos ensayados en las inoculaciones, el que dió resultados más eficientes, fué en el que se inculó el organismo desarrollado sobre

medio semi-sólido, en heridas en el pseudotallo obteniéndose con este tratamiento el máximo de infección con los 4 aislamientos de Fusarium spp. Esto posiblemente se deba, a que en este tratamiento las heridas se hicieron a bastante profundidad, con lo cual se logró afectar un mayor número de vainas en diferentes estados de desarrollo y madurez. Por otra parte había mayor facilidad por parte de los organismos inoculados para penetrar a los tejidos vasculares de las vainas.

En el rizoma los resultados fueron poco satisfactorios con ambos métodos de inoculación. Los porcentajes de infección fueron bajos y los organismos no pudieron ser reaislados en una proporción similar a las del pecíolo y pseudotallo. Esta deficiencia en los resultados posiblemente se deba primero, a la falta de uniformidad en la cantidad de inóculos empleado; segundo, a que en algunos casos los tratamientos no se hicieron eficientemente; y tercero, a que la infección del rizoma del banano según Wardlaw (33) se produce más eficientemente a través de los haces vasculares de la raíz, debido a que el tejido parenquimatoso del rizoma, impide la infección por la formación de zonas protectoras suberizadas. Por otra parte, los investigadores que han trabajado en enfermedades producidas por diferentes especies del género Fusaria, como Brandes (1) y Reinking (23) en banano, Wellman (35), Haymaker (18), y White (37) en tomate, Díaz Moreno (5) en café, y Leoncio (14), Castillo y Celino (4), y Waite (31) en abacá, han obtenido resultados satisfactorio al incorporar el patógeno al suelo esterilizado o sumergiendo las raíces de las plantas en suspensiones del organismo en el momento del trasplante. Por lo tanto sería conveniente diseñar un método de inoculación que permita situar el inóculo alrededor de las raíces de las

plantas, en posteriores pruebas de patogenicidad.

Los resultados obtenidos en los estudios fisiológicos y morfológicos en el laboratorio, demostraron que hay mucha variación en la reacción de las cuatro formas de Fusarium spp. a diferentes condiciones de medios nutritivos de temperatura y de concentración de iones hidrógeno. Sin embargo, el Fusarium No. 9 del abacá y el Fusarium H del banano muestran una estrecha identidad en sus características morfológicas, apariencia de las colonias y esporulación. Estos dos organismos fueron los únicos que no revelaron diferencias significativas en su crecimiento vegetativo en los cuatro medios líquidos, en el tamaño promedio de sus microconidias fueron los que alcanzaron cifras más similares (Tabla 6). Cuando estos 2 organismos fueron cultivados sobre medios semi-sólidos, la coloración y las características de micelio aéreo fueron muy semejantes. Ambos organismos produjeron en los diferentes medios de cultivo un olor aromático identificado como benzoico o de fruta madura, que también ha sido reportado por otros investigadores (1, 4, 39). La única diferencia entre estos dos organismos, consisten en que el Fusarium No.9, generalmente produce una coloración púrpura más intensa del sustrato cuando se cultiva sobre PDA con pH mayores de 4.7, y además su crecimiento vegetativo óptimo se encuentra alrededor de los 30°C., mientras que el del Fusarium H no difiere significativamente entre los 20 y 30°C. El Fusarium No. 10 que en apariencia general de la colonia no difiere notablemente de los dos organismos anteriores, tiende a producir un tipo de micelio aéreo más fino, compacto y levantado, principalmente sobre PDA con un pH inferior a 4.7. Produce una coloración muy débil en los diferentes medios sólidos, y ningún olor característico en los diferentes medios de cultivo, excepto

en la solución de Richard en la cual produjo un olor alcohólico. El punto de crecimiento vegetativo óptimo de este organismo parece que se encuentra entre los 20 y 25°C. El *Fusarium* No. 12 tiene un tipo de micelio aéreo diferente de los otros tres aislamientos, es filamentososo, poco fino, Cultivado sobre FDA, produce en los primeros días una coloración roja intensa que después cambia a púrpura intenso en cultivos viejos. En FDA acidificado a un pH menor de 4.7 el micelio es poco denso y poco levantado; con tendencia a producir esclerocios en abundancia, en los diferentes medios de cultivo. No se percibió ningún olor característico en este organismo.

En general los tres aislamientos de *Fusarium* spp. (Nos. 9, 10 y 12) de abacá presentaron características similares a las descritas para la sección *Elegans*, por Wollenweber et al (38). Así por ejemplo, producen microconidias aisladas de paredes delgadas, mayormente o-septadas, de forma elíptica, ovalada o fusiforme. Las macroconidias sobre FDA son mayormente 3-septadas, pediceladas, de forma falcada. En vista de lo expuesto anteriormente estos tres organismos de abaca, constituyen formas biológicas de la especie *F. oxysporum* f. *cubense*. Esta opinión se basa en el concepto emitido por Snyder & Hansen (28), según los cuales "los individuos del género *Fusaria* que causan enfermedades vasculares, son simplemente formas biológicas de una misma especie", así las diferentes formas incluidas dentro del grupo *F. oxysporum*, varían dentro de ciertos límites con respecto a la apariencia de las colonias, morfología y fisiología, y las formas parasíticas son reconocidas en base a la patogenicidad. Leonian (15) en su estudio sobre la disociación del género *Fusaria* estableció que "el concepto de especie no debe ser el de un simple organismo, sino la de un

la de un grupo de muchos organismos que tienen en común características fundamentales semejantes".

Los individuos del género Fusaria siempre han presentado un serio problema para los investigadores en este campo, por la irregularidad e inconsistencia de su comportamiento. Dentro de la especie F. oxysporum f. cubense varios investigadores han encontrado diversas formas que difieren en algún aspecto. Hansford (7) aisló de plantas enfermas de banano, diversas formas patogénicas, las cuales él clasificó dentro de cinco grupos. Ward (32) reportó haber observado en Malaya dos tipos diferentes de Enfermedad de Panamá, siendo una muy virulenta y otra de tipo crónico además afirmó haber aislado cuatro formas de F. oxysporum f. cubense. Wardlaw (34) hizo in estudio de seis aislamientos de F. oxysporum f. cubense de diferentes localidades, y halló un amplio rango de variación en su reacción a diferentes medios de cultivo

Es muy posible que el comportamiento irregular de la enfermedad Vascular en las plantaciones de Centro América, se deba a la presencia diversas formas biológicas de Fusarium que no sólo difieren en su características patogénicas sino en su adaptación a las condiciones ambientales. Así tenemos que mientras el Fusarium del banano, que demostró mayor patogenicidad en el presente estudio, mostró también que su crecimiento óptimo no es afectado entre los 20 y 30°C., por otra parte el Fusarium No. 9 y No. 12 del abacá, en los cuales la patogenicidad fué menor, el crecimiento óptimo se encuentra alrededor de los 30°C. Es probable, por consiguiente que existan ciertos factores de suelo o condiciones ambientales que limiten o favorezcan la virulencia de una forma dada de Fusarium en determinadas áreas, aunque ello no ha podido ser determinado en el presente estudio.

Los resultados obtenidos con las variedades: Bungulanon, Libutón, Tangongón y Maguindanao, cultivadas en Costa Rica, indican que bajo condiciones de campo en Bataan, estas difieren notablemente en su grado de resistencia a la Enfermedad Vascular. El comportamiento de la variedad Bungulanon, la coloca como altamente susceptible al ataque de la enfermedad. Esta variedad mostró en todas las matas de su parcela una incapacidad para sobreponerse al ataque de la enfermedad sucumbiendo totalmente antes de realizarse el último reconocimiento. La variedad Libutón puede considerarse simplemente como susceptible, ya que aunque no parece ser resistente al ataque del patógeno, el grado de infección en el segundo y tercer reconocimiento fué relativamente bajo en comparación con los valores observados en la variedad Bungulanon. Mientras que en las variedades Maguindanao y Tangongón el grado de susceptibilidad es bastante bajo y similar obteniéndose en estas variedades, resultados muy parecidos al final del experimento. La variedad Maguindano, sin embargo, es más tolerante a la enfermedad, cuando las matas están jóvenes, ya que en el primer reconocimiento verificado a los 13 meses de edad, no se encontraron síntomas en ninguna de las plantas de la parcela de esta variedad. Estas dos variedades pueden considerarse como ligeramente susceptibles al ataque de la enfermedad, ya que solo en un caso en la variedad Tangongon, la enfermedad alcanzó su máximo grado de severidad, y además el grado de incidencia fué bajo en comparación con las cifras alcanzadas en las variedades Bungulanon y Libuton (Tabla 7).

Estos resultados conforman lo establecido anteriormente por Ocfemia (18) y Waite (31) quienes aseguraron que la variedad Bungulanon es una de las más susceptibles a la enfermedad. Difieren sin embargo, de los

reportados por Palo y Calinisan (21) en Filipinas segun los cuales la variedad más susceptible es la Maguindanao. La diferencia en los resultados puede deberse a que la Enfermedad Vasculad estudiada por ellos era causada por una bacteria, en cuyo caso la variedad Maguindano puede presentar una resistencia menor al ataque de este organismo.

La naturaleza es la resistencia de la variedad de abacá a la Enfermedad Vasculad no está determinada claramente. Sin embargo en las condiciones de Bataan, la variedad Bungulanon ha demostrado ser altamente susceptible a otras enfermedades como la Mancha Café de la hoja (17) y la Mancha Roja del pseudotallo (9), causada ambas dolencias por el Helminthosporium torulosum (Syd) Ashby. Esto parece indicar que esta variedad tiene poca resistencia genética a las enfermedades. A su vez Waite (31) informa que en un programa de cruzamientos genéticos entre las variedades Bungulanon, Tangongón y Sinaba, ha sido muy difícil combinar los factores responsables por la resistencia a la enfermedad, con aquellos que proporcionan buenas características agronómicas y de calidad de fibra.

RESUMEN

La presente investigación fué llevada a cabo como parte del Proyecto de Abacá del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en cooperación con el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica.

1. Las pruebas de patogenicidad indicaron que cuatro formas de F. oxysporum f. cubense (Nos. 9, 10 y 12 de abacá, y H de banano) producen síntomas de descoloración vascular típicos de la Enfermedad Vascular, en plantas de abacá inoculadas artificialmente. Mientras que dos tipos no identificados de bacterias (A y B), no produjeron consistentemente dicho síntoma, considerándose como organismos secundarios.
2. El F. oxysporum f. cubense (F-H) aislado de banano en Honduras mostró ser más virulento que los aislamientos de abacá.
3. El método más eficiente de inoculación fué por medio de heridas producidas artificialmente en el pseudotallo de la planta.
4. En el estudio fisiológico y morfológico de los cuatro aislamientos de *Fusarium* de abacá y banano, estos organismos tuvieron características comunes con las de la sección *Elegans*, descritas por Wollenweber et al (38). Sin embargo hubo variación entre los diferentes organismos en crecimiento vegetativo, tamaño de conidias, temperaturas óptimas y presencia de esclerocios y esporodoquios.
5. De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad y en los estudios de laboratorio puede establecerse que

los aislamientos de *Fusarium* de abacá son formas biológicas de la especie *F. oxysporum* f. *cubense* (E. F. Sm.) Snyder & Hansen.

6. Las soluciones de Richard, Tochinai y Leonian, sirvieron eficientemente para establecer diferencias de crecimiento entre los cuatro organismos. Los aislamientos *Fusarium* No. 9 de abacá y *Fusarium* H de banano fueron los únicos organismos que no mostraron diferencia significativa en su crecimiento en estos medios líquidos.
7. La producción de pigmento fué una característica de diferenciación muy útil en los diferentes medios. Los medios de papa-dextrosa-agar, arroz-agar y arroz pulido y cocido dieron amplias variaciones en cuanto a pigmentación.
8. El aislamiento *Fusarium* No. 12 de abacá presentó las mayores variaciones en tamaño y forma de microconidias, pigmentación y textura de micelio en los diferentes medios de cultivo.
9. Los aislamientos *Fusarium* No. 9 y No. 12 de abacá alcanzaron un crecimiento óptimo a los 30°C., mientras que en los aislamientos *Fusarium* No. 10 de abacá y *Fusarium* H de banano, este crecimiento no presentó variaciones significativas entre los 20° y 30°C.
10. Los cuatro aislamientos tuvieron un comportamiento variable en sus características culturales, al ser cultivados en papa-dextrosa-agar con diferentes grados de acidez.
11. Hubo diferencia en la susceptibilidad relativas de las cuatro variedades de abacá bajo condiciones de campo. La variedad Bungulanon fué clasificada como altamente susceptible, la variedad como susceptible, mientras que las variedades Maguindanao y Tangongón se clasificaron como ligeramente susceptibles.

S U M M A R Y

The present investigation has been carried out as a part of the program of the Abaca Project, United States Department of Agriculture, in cooperation with the Inter-American Institute of Agriculture Sciences, Turrialba, Costa Rica.

1. The results obtained in the pathogenicity tests showed that the F. oxysporum f. cubense (Nos. 9, 10 and 12 from abaca, and H from banana) produce internal vascular discoloration, typical symptom of Vascular Disease, in artificially inoculated plants. On the other hand, the two unidentified bacteria (A and B) isolated from abaca, failed to produce this symptom consistently and are considered secondary organisms.
2. The banana Fusarium definitely showed greater virulence than the abaca isolates.
3. The most efficient method of inoculation was by means of artificial wounds in the plant pseudostem.
4. Physiological and morphological studies showed that the four Fusarium isolates have characteristics common to the section Elegans. However, there was variation between the different organisms in vegetative growth, size of conidia, optimum temperature and presence of sclerotia and sporodochia.
5. According to the results of the pathogenicity tests and the laboratory studies it can be stated that the Fusarium isolates from abaca are biological forms of the species F. oxysporum f. cubense.
6. The Richard, Tochinai and Leonian solutions were efficient to

establish differences in growth between the four organisms. The isolates Fusarium No. 9 from abaca and Fusarium H. from banana did not show significant differences in their growth in these liquid media.

7. The pigmentation was useful to show cultural differences in the media used. The potato-dextrose-agar, rice agar and steamed rice produced ~~marked~~ variations in pigmentation.
8. The isolate from abaca Fusarium No. 12 presented the most variation in size and shape of microconidia, pigmentation, and texture of mycelium upon the different media.
9. The isolates Fusarium No. 9 and Fusarium No. 12 from abaca showed optimum growth at 30°C., while the isolates Fusarium No. 10 from abaca and Fusarium H from banana did not show significant differences in their growth between 20° and 30°C.
10. The four isolates of Fusarium exhibit variation in their cultural characteristics culture upon potato-dextrose-agar with different grades of acidity.
11. There was difference in the grade of susceptibility of the four abaca varieties under study. Bungulanon variety can be considered highly susceptible, Libuton variety can be classed susceptible, while Maguindanao and Tangongon varieties can be graded slightly susceptible.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. BRANDES, E. W. Banana wilt. *Phytopathology* 9(9):339-389. Sept. 1919.
2. CALINISAN, MELANIO R. The three destructive diseases of abacá in Davao (bunchy top, mosaic and vascular disease) and their control. *Philippine Journal of Agriculture* 9(3):329-333. 1938.
3. _____ Vascular disease of abacá (Manila hemp) in Davao. Progress report no. 1. *Philippine Journal of Agriculture* 9(2):153-157, 159-160. 1938.
4. CASTILLO, B. S. & CELINO, M. S. Wilt disease of abacá, or Manila hemp (*Musa textilis* Née). *Philippine Agriculturist* 29(1):65-85. 1940.
5. DIAZ MORENO, J. Estudio de *Fusaria* en la podredumbre radicular del café en el vivero. Tesis sin publicar. Turrialba, Costa Rica Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1954. 68 p. (typewritten)
6. EDWARDS, H. T. Abacá a new crop for Latin America. *Agriculture in the Americas* 4(1):8-12. Jan. 1944.
7. HANSFORD, C. G. The *Fusaria* of Jamaica. *Kew Miscellaneous information Bulletin* no. 7:257-288. 1926. (Original not available for consultation; abstracted in *Review of Applied Mycology* 5:766.
8. HAYMAKER, H. H. Pathogenicity of two strains of the tomato-wilt fungus *Fusarium lycopersici* Sacc. *Journal of Agricultural Research* 36(8):675-695. 1928
9. HERBAS, R. A. Estudio de las causas y algunos efectos de la Podredumbre roja del pseudotallo del abacá. Tesis sin publicar. Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1954. 60 p. (Typewritten)
10. HORTICULTURAL COLOUR CHART. London, British Colour Council and Royal Horticultural Society, 1938. 3 vol.
11. KEITH, G. W. Simple technique for isolating single-spore strains of certain types of fungi. *Phytopathology* 5(5):266-269. 1915.
12. LEE, H. A. & SERRANO, F. B. Banana wilt in the Philippines. *Phytopathology* 10(11):504-505. 1920.

13. LEE, H. A. & SERRANO, F. B. Banana wilt of the Manila hemp plant. *Phytopathology* 13(5):253-256. 1923.
14. LEONCIO, J. B. The relation to abacá, or Manila hemp of the banana wilt fungus *Fusarium cubense* E.F.S. *Philippine Agriculturist* 19(1):27-42. 1930. (Original not available for consultation; abstracted in *Experiment Station Records* 67:405-406. 1932).
15. LEONIAN, L. H. Studies on the variability and dissociations in the genus *Fusarium*. *Phytopathology* 19(9):753-868. 1929.
16. LOEGERING, W. Q. Report on vascular disease of abaca at Guaymas, Honduras. Unpublished report. 1953. 9p. (typewritten)
17. LOPEZ, R. & LOEGERING, W. Q. Resistencia de variedades de abacá (*Musa testilis* Née) a la mancha café de la hoja y pérdidas ocasionadas por la enfermedad. *Turrialba* 3(4):159-162. 1953.
18. OCFEMIA, G.O. The abacá-disease situation in Davao. *Philippine Agriculturist* 26(3):229-236. 1937.
19. _____ Second progress report on bunchy-top of abacá, or Manila hemp. *Phytopathology* 17(4):255-257. April 1927.
20. _____ & MENDIOLA, V. B. The *Fusarium* associated with some field cases of heart rot of abacá. *Philippine Agriculturist* 21(5):296-308. 1932. (Original not available for consultation; abstracted in *Biological Abstracts* 7(4):778. 1933).
21. PAJO, M. A. & CALINISAN, M. R. The bacterial wilt of abacá (Manila hemp) plant in Davao: I. Nature of the disease and pathogenicity tests. *Philippine Journal of Agricultura* 10(4):373-395. 1939.
22. REINKING, OTTO W. Abaca disease studies: Davao, Philippine Island. *Plant Disease Reporter* 33(12):456-462. Dec. 15, 1949. (mimeographed).
23. _____ *Fusaria* inoculation experiments. Relationship of various species of *Fusaria* to wilt and Colorado disease of banana. *Phytopathology* 16(6):371-392. 1926.
24. _____ Preliminary studies of abacá diseases in Panamá. *Plant Disease Reporter* 29(15):390-393. 1945. (Original not available for consultation; abstracted in *Review of Applied Mycology* 24:371. 1945).
25. _____ & WOLLENWEBER, H. W. Tropical *Fusaria*. *Philippine Journal of Science* 32(2):103-253. 1927.

26. RIKER, A. J. & RIKER, R. S. Introduction to research on plant diseases a guide to the principles and practices for studying various plant-disease problems. St. Louis, John S. Swift Co., 1936. 117 p.
27. ROBINSON, B. B. & JOHNSON, F. L. Abacá- a cordage fiber. U. S. Department of Agriculture, Agriculture Monograph n. 21. 1953. 130 p.
28. SNYDER, W. C. & HANSEN, H. N. The species concept in Fusarium. American Journal of Botany 27(2):64-67. 1940.
29. TEODORO, N. G. The plant pest and disease control service of the Philippine Bureau of Agriculture. Philippine Agricultural Review 18(4):463-549. (Original not available for consultation; abstract in Review of Applied Mycology 5:639. 1926)
30. _____ & SERRANO, F. B. Abacá heart-rot and bunchy-top diseases and their control. Philippine Agricultural Review 19(3):243-247. 1926. (Original not available for consultation; abstracted in Review of Applied Mycology 6:359. 1927)
31. WAITE, B. H. Vascular disease of abacá or Manila hemp in Central America. Plant Disease Reporter 38(8):575-578. Aug. 15, 1954.
32. WARD, F. S. Investigations on Panamá disease in Malaya. Straits Settlements and Federated Malayan States, Department of Agriculture Scientific Service no. 2 1930. 26 p.
33. WARDLAW, C. W. Diseases of the banana and of the Manila hemp plant. London, MacMillan & Co., 1935. 615 p.
Wilt disease of the Manila hemp plant, pp. 126-131.
34. _____ Fusarium cubense E.F.Sm., an examination of five strains. Tropical Agriculture 8(3):54-60. 1931.
35. WELLMAN, F. L. A technique for studying host resistance and pathogenicity in tomato Fusarium wilt. Phytopathology 29(11):945-956. 1939.
36. _____ & BLAISDELL, D. J. Differences in growth characters and pathogenicity of Fusarium wilt isolates tested on three tomato varieties. U. S. Department of Agriculture Technical Bulletin 705. 1940. 28 p.
37. WHITE, R. P. Studies on tomato wilt caused by Fusarium lycopersici Sacc., Journal of Agricultural Research 34(3):197-239. 1927.
38. WOLLENWEBER, H. W. & OTHERS. Fundamentals for taxonomic studies of Fusarium. Journal of Agricultural Research 30(9):833-843. May 1925.

A P E N D I C E

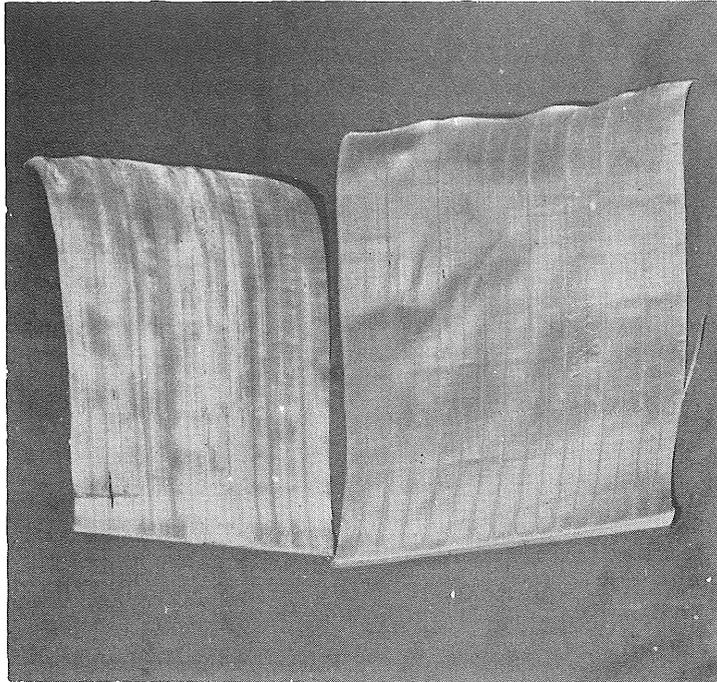


Fig. 2. Síntomas foliares de planta de abacá inoculada artificialmente con F. oxysporum f. cubense, aislado de banano. (Foto tomada por R. M. Allen).

Izq.: Hoja con síntomas

Der.: Hoja sana

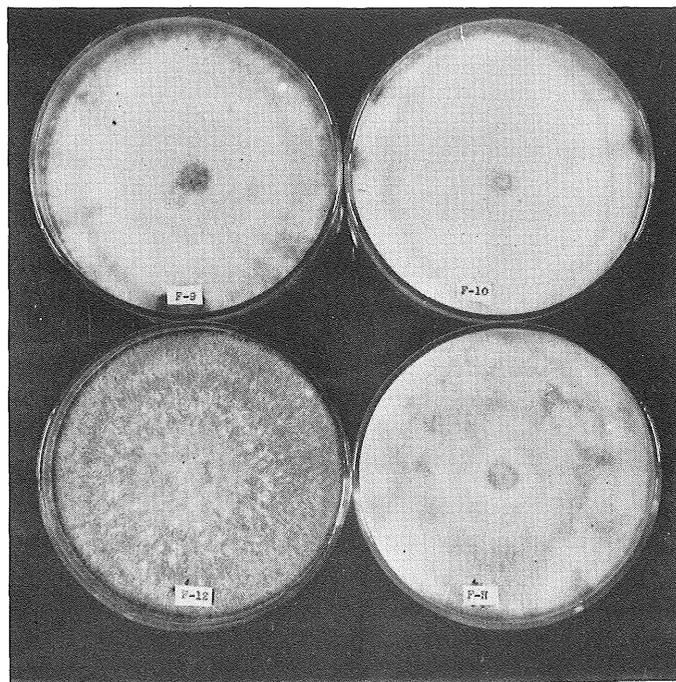


Fig. 3. Cultivos de F. oxysporum f. cubense (Nos. 9, 10 y 12 de abacá, y H de banano) en medio de PDA, a los 16 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen)

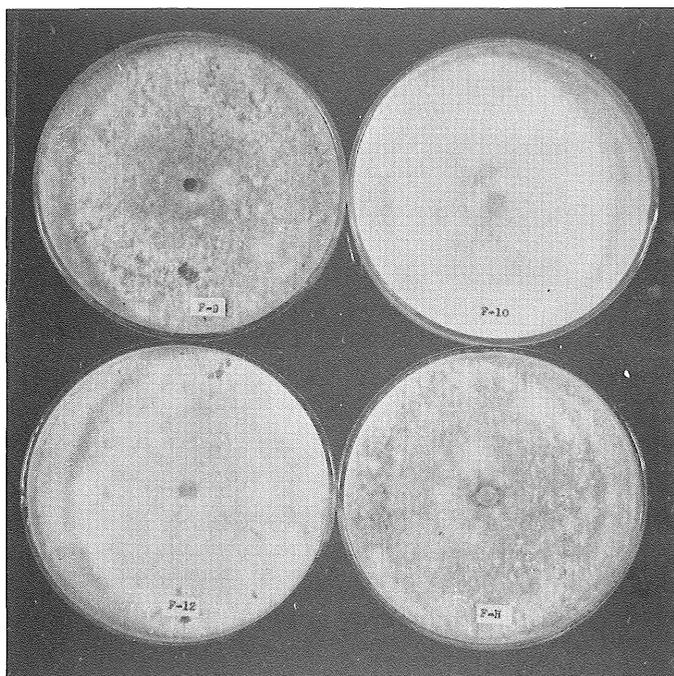


Fig. 4. Cultivos de F. oxysporum f. cubense (Nos. 9, 10 y 12 de abacá, y H de banano) en medio de arroz-agar, a los 30 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen)

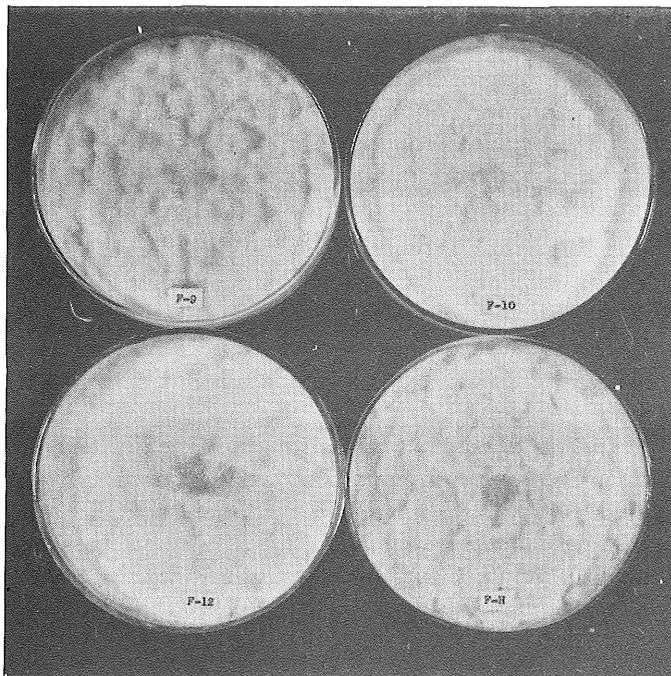


Fig. 5. Cultivos de F. oxysporum f. cubense (Nos. 9, 10 y 12 de abacá, y H de banano) en medio de arroz pulido y cocido, a los 30 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen)

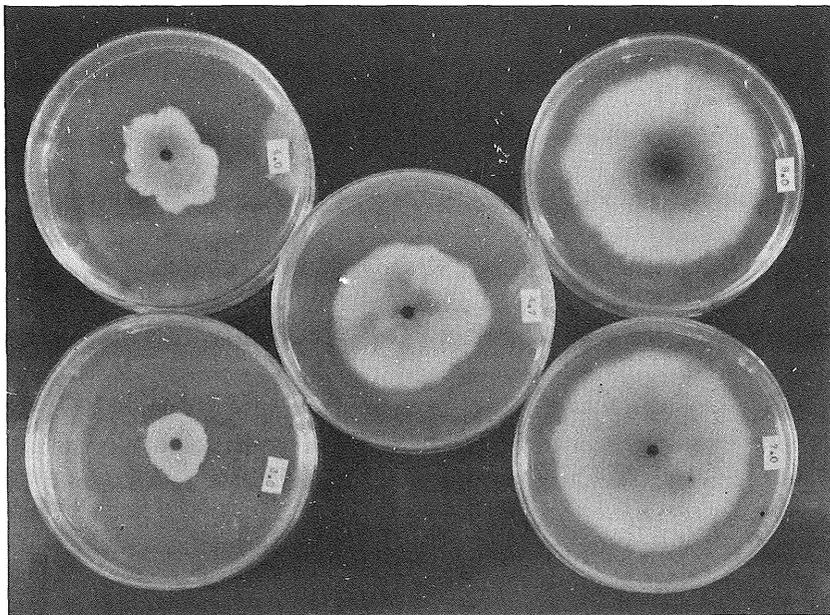
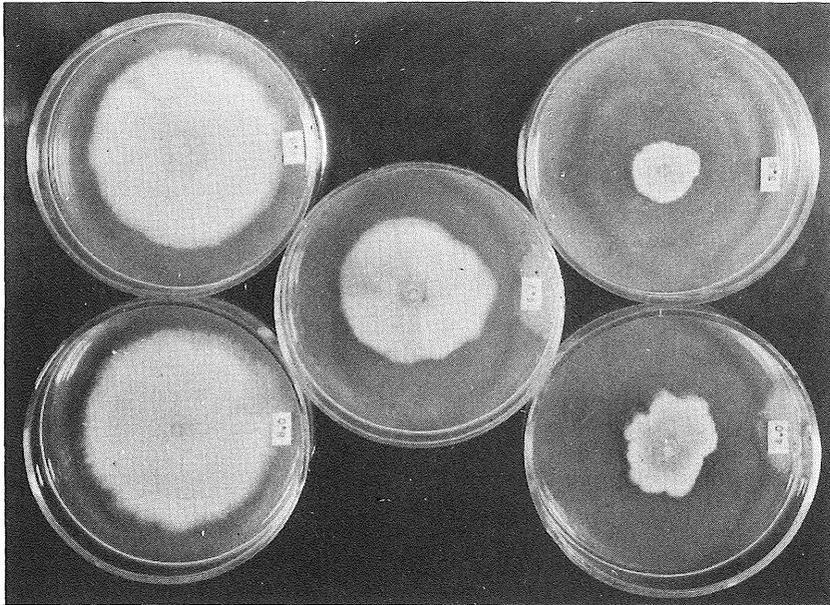


Fig. 6. Cultivos de *Fusarium* No. 9 de abacá en medio de PDA con diferentes pH, a los 7 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen).

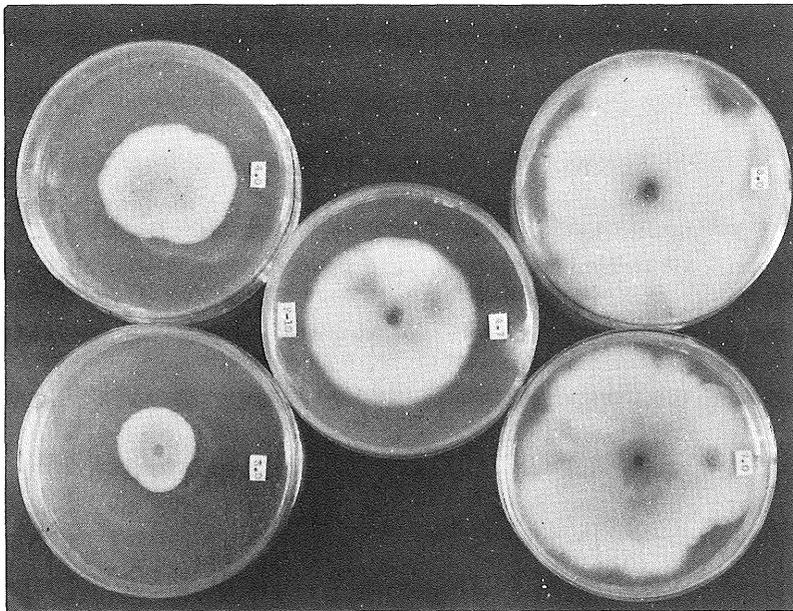
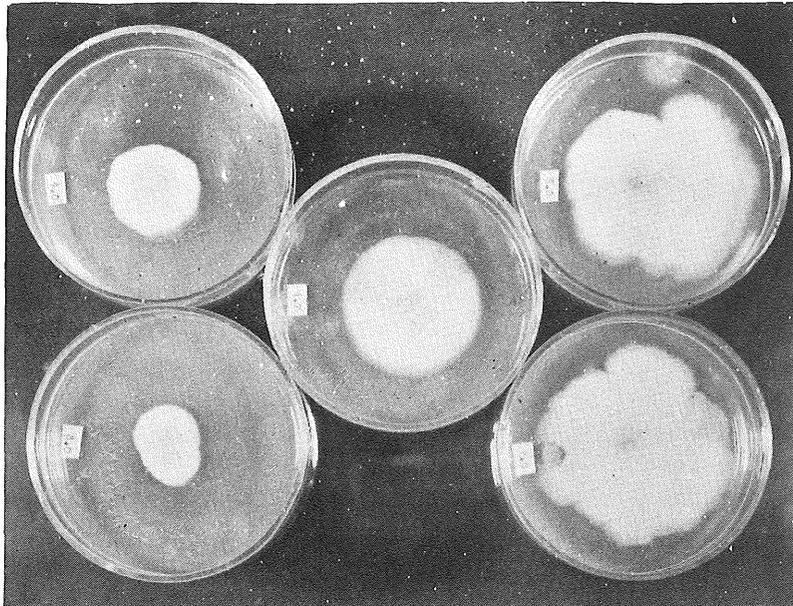


Fig. 7. Cultivos de *Fusarium* No. 10 de abacá en medio de PDA con diferentes pH, a los 7 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen).

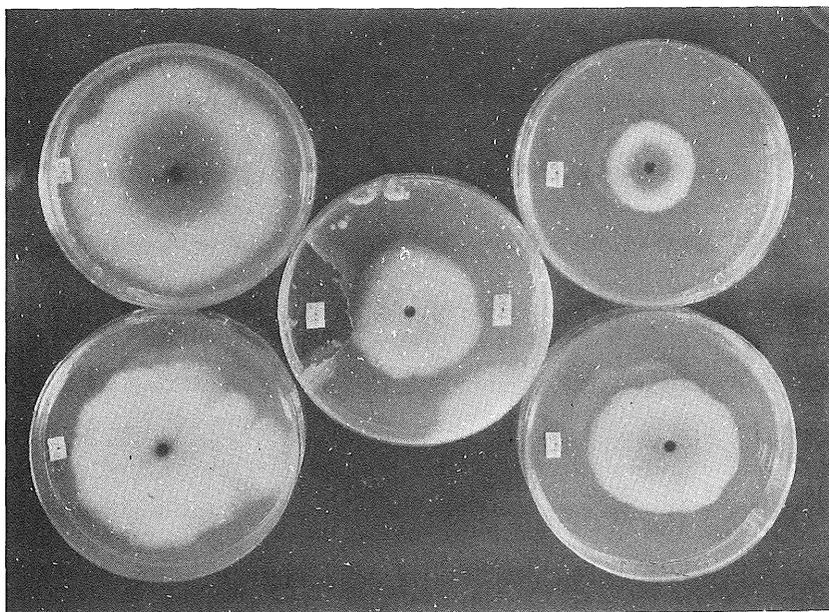
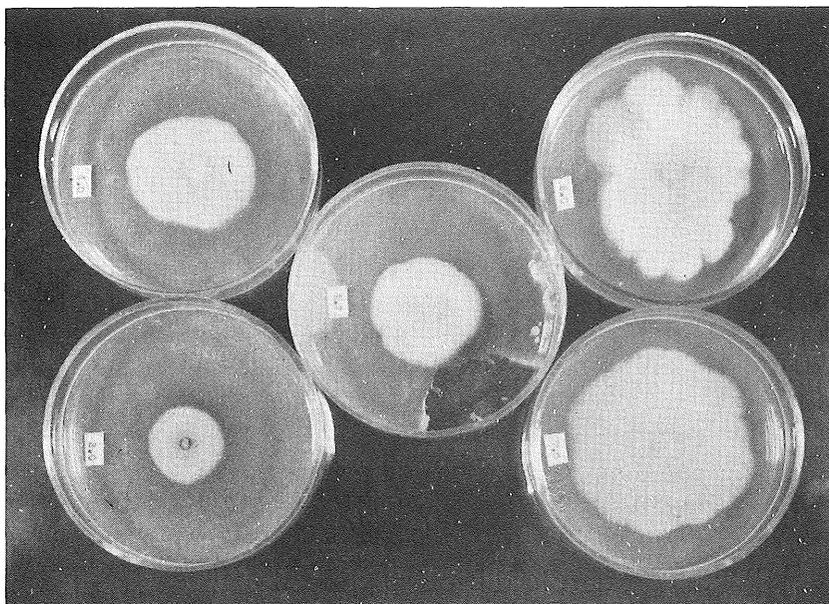


Fig. 8. Cultivos de *Fusarium* No. 12 de abacá en medio de PDA con diferentes pH, a los 7 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen).

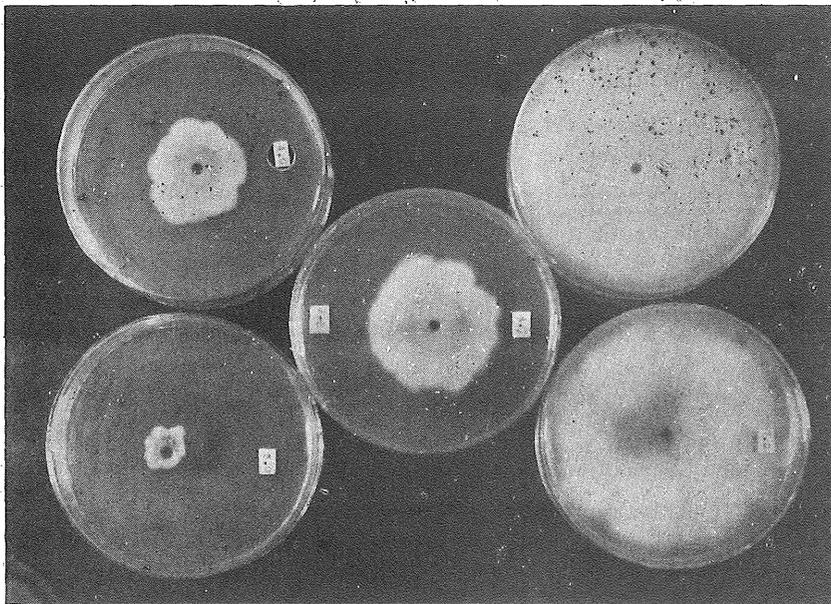


Fig. 9. Cultivos de *Fusarium H* de banano en medio de PDA con diferentes pH, a los 7 días de incubación. (Foto tomada por R. M. Allen).