

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

SUBDIRECCIÓN ADJUNTA DE ENSEÑANZA  
PROGRAMA DE POSGRADO

CULTIVO MONOXENICO DE *Radopholus similis* Y RESPUESTA DE TRES  
CULTIVARES Y UN HÍBRIDO DE *Musa* AL ATAQUE DEL NEMATODO

Tesis sometida a la consideración del Comité Técnico  
Académico del Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y  
de Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de  
Investigación y Enseñanza, para optar al grado de,

MAGISTER SCIENTIAE

por

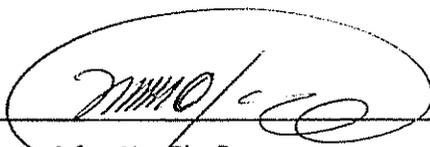
GUSTAVO ADOLFO FALLAS MEJIA

CATIE  
Turrialba, Costa Rica  
1992

Esta tesis ha sido aceptada, en su presente forma, por la coordinación del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables del CATIE aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

*MAGISTER SCIENTIAE*

FIRMANTES:

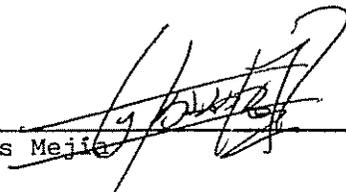


Nabúm Masbán M. Ph.D.  
Profesor Consejero



Assefaw Tewelde Ph.D.  
Jefe, Area de Posgrado

Ramón Lastra Ph.D.  
Director, Programa de Enseñanza



Gustavo Fallas Mejía  
Candidato

## DEDICATORIA

A MIS PADRES, HERMANAS Y SOBRINOS

A SABINE

A MI ABUELO, VICTOR q.e.p.d.

## AGRADECIMIENTOS

A Nahún Marbán, Elkin Bustamante, Ramiro Jaramillo y Jean-Vincent Escalant por sus consejos, enseñanzas y apoyo para la realización de esta tesis y para mi formación personal, académica y profesional.

A mis compañeros de promoción y en especial a los del área de MIP, por las experiencias que compartimos durante nuestra permanencia en CATIE.

A Nelly Vásquez M. Sc. por su ayuda en la parte de histología y a 'Macho' por la ejecución del trabajo de fotografía.

A Jean-Louis Sarah, nematólogo del CIRAD-Francia por su cooperación y amabilidad

Al Gobierno de Holanda, por el financiamiento de mis estudios

# TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	viii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	5
2.1 El Género <i>Musa</i> .....	5
2.2 <i>Radopholus similis</i> : generalidades.....	8
2.2.1 <i>Radopholus similis</i> : importancia económica y síntomas.....	11
2.3 Resistencia genética al nematodo barrenador.....	15
2.4 Cultivo <i>in vitro</i> de nematodos.....	21
2.4.1 Cultivo de nematodos en raíces u otros segmentos de tejidos vege- tales.....	23
3. MATERIALES Y METODOS.....	26
3.1 Evaluación de sustratos para el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Radopholus similis</i> .....	26
3.2 Evaluación de germoplasma de musáceas.....	28

4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	31
4.1 Evaluación de sustratos para el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Radopholus similis</i> .....	31
4.2 Efecto de <i>Radopholus similis</i> sobre tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> .....	34
5. CONCLUSIONES.....	47
5.1 Reproducción <i>in vitro</i> de <i>Radopholus similis</i> .....	47
5.2 Evaluación de germoplasma.....	48
6. RECOMENDACIONES.....	51
6.1 Reproducción <i>in vitro</i> de <i>Radopholus similis</i> .....	51
6.2 Evaluación de germoplasma.....	51
7. LITERATURA CITADA.....	54
8. ANEXOS.....	63

## RESUMEN

La investigación se desarrolló de octubre de 1991 a agosto de 1992 en los laboratorios de cultivo de tejidos y de nematología y en el invernadero de nematología del CATIE. Los objetivos fueron explorar sustratos para la multiplicación *in vitro* de *Radopholus similis* y evaluar la respuesta de tres cultivares y un híbrido de *Musa* al ataque del nematodo.

Para el primer caso se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones y se evaluaron: la raíz de la zanahoria (*Daucus carota*), los tubérculos del ñame (*Dioscorea alata*), del camote (*Ipomoea batata*) y de la papa (*Solanum tuberosum*) y los cormelos del tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). En el caso de la zanahoria se experimentó con dos condiciones: en presencia y en ausencia de agar. El número de nematodos extraídos por frasco demostró que la zanahoria con y sin agar fue la mejor opción para reproducir a *Radopholus similis*. El resto de los sustratos no permitieron un incremento en la población de nematodos, y además, presentaron alta contaminación endógena, la cual no fue eliminada por el procedimiento de desinfección utilizado.

El otro experimento se realizó dentro de un diseño completamente al azar con doce repeticiones y los factores cultivar y tratamiento. Este último contempló dos condiciones: plantas inoculadas y plantas sin inocular o testigos. Se utilizaron los siguientes materiales provenientes de cultivo *in vitro* de meristemas: *Musa* AAA subgrupo Iboita cv. 'Yangambi', *Musa* AAB subgrupo Plantain cv. 'Curraré', *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Gran Enano' y *Musa* AAAB cv. 'Bras-9' (código de la colección *in vitro* del CATIE). Las variables altura de la planta, peso fresco de la planta y de las raíces, número de nematodos por planta y por peso radical y valor de lesión radical, permitieron identificar una escala de susceptibilidad de los materiales. De menor a mayor, se ubicó el 'Yangambi', el 'Bras-9', el 'Curraré' y el 'Gran Enano'. En todos los casos éste último fue significativamente diferente al primero y entre el 'Bras-9' y el 'Curraré', las diferencias no siempre fueron significativas.

## ABSTRACT

The objectives of the research were to study the effect of the substrate for the multiplication *in vitro* of *Radopholus similis* and to evaluate the response of three cultivars and one hybrid of *Musa* to the attack of the nematode.

For the first case, the method was totally at random with five repetitions and the following plants were evaluated: carrot roots (*Daucus carota*), the tubers of yam (*Dioscorea alata*), sweet potato (*Ipomoea batata*), potato (*Solanum tuberosum*) and cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*). In the case of the carrot, two conditions were studied: with and without agar. The number of *Radopholus similis* extracted showed that in both cases the carrot was the best option for the reproduction of this nematode. The other substrates did not help to increase the population of nematodes, and in addition showed a high level of endogenous contamination which was not eliminated with the disinfection process used.

The other experiment was realised with a method totally at random with twelve repetitions, using the factors cultivar and treatment. The latter included two conditions: inoculated and no-inoculated plants control. The following materials obtained from the meristem cultures were used: *Musa* AAA subgroup Iboita cv. 'Yangambi', *Musa* AAB subgroup Plantain cv. 'Curraré', *Musa* AAA subgroup Cavendish cv. 'Gran Enano' and *Musa* AAAB cv. 'Bras-9' (code from the CATIE's *in vitro* collection). The variables corresponding to height of plant, weight of fresh plants and of plant roots, number of nematodes per plant, per roots weight and roots lesion have permitted to identify a scale of materials susceptibility. In increasing order are found: 'Yangambi', 'Bras-9', 'Curraré' and 'Gran Enano'. In all the cases the latter was significantly different from the first, and between 'Bras-9' and 'Curraré' the differences were not always significant.

## LISTA DE CUADROS

<u>CUADRO No.</u>		<u>PAG.</u>
1	Número de <i>Radopholus similis</i> extraídos de seis sustratos a los 30 días después de la inoculación (DDI)	32
2	Efecto de <i>Radopholus similis</i> sobre la altura de la planta, el peso fresco de la planta y el peso fresco de las raíces de <i>Musa</i> a los 60 DDI	36
 <u>En el anexo</u>		
1A	Análisis de varianza del número de nematodos en diferentes sustratos	73
2A	Análisis de varianza de la altura de la planta	73
3A	Análisis de varianza del peso fresco de la planta	74
4A	Análisis de varianza del peso fresco de las raíces	74
5A	Análisis de varianza del número de raíces por planta	75
6A	Análisis de varianza del número de nematodos por planta	75
7A	Análisis de varianza del número de nematodos por peso de raíz	76
8A	Análisis de varianza del valor de lesión radical	76

## LISTA DE FIGURAS

<u>FIGURA No.</u>		<u>PAG.</u>
1	Representación esquemática de <i>Musa sp.</i>	7
2	Representación esquemática de <i>Radopholus similis</i>	10
3	Efecto de <i>Radopholus similis</i> sobre la altura de la planta de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 días después de la inoculación (DDI)	37
4	Efecto de <i>Radopholus similis</i> sobre el peso fresco de la planta de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 DDI	37
5	Efecto de <i>Radopholus similis</i> sobre el peso fresco de las raíces de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 DDI	38
6	Número de <i>Radopholus similis</i> extraídos de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 DDI	39
7	Número de <i>Radopholus similis</i> por gramo de raíz extraídos de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 DDI	40
8	Valor de lesión radical de tres cultivares y un híbrido de <i>Musa</i> a los 60 DDI	41

En el anexo

1A	Procedimiento para la desinfección de <i>Radopholus similis</i>	66
2A	Humedad relativa, temperatura promedio, mínima y máxima durante el periodo experimental	67
3A	<i>Radopholus similis</i> en raíces de <i>Musa</i> AAA subgrupo Cavendish 'Gran Enano'	71
4A	Aumento del tamaño del nucleolo y del núcleo en células radicales de <i>Musa</i> AAA 'Gran Enano' infestadas con <i>Radopholus similis</i>	71
5A	Cavidades en los tejidos radicales de <i>Musa</i> AAA 'Gran Enano' provocadas por <i>Radopholus similis</i> (a y b)	72

## 1 .     I N T R O D U C C I O N

Las musáceas comestibles constituyen un elemento importante en la dieta básica de los centroamericanos y son un recurso fundamental de la economía de los países del área y de muchas otras partes del mundo. Según Sattler (1990), el consumo per cápita de plátano en la región es de 25 a 30 kilogramos anuales. Por otro lado, la producción de banano para 1990 ascendió a 4498 mil toneladas métricas, 598 mil más que en 1988 (FAO, 1991).

En Costa Rica, las divisas generadas por la exportación de estos cultivos han aumentado en los últimos años. En 1985 se exportaron 851 mil toneladas de banano y 5450 toneladas de plátano por un valor aproximado de US\$ 207 millones y US\$ 1.2 millones, respectivamente. En 1990, la cantidad de dólares generados fue de US\$ 316 millones en el caso del banano y US\$ 1.81 millones en el caso del plátano (Centro Nacional de Estadística y Censos, 1991). Es decir un aumento mayor a \$ 100 millones en el primero y \$ 0.5 millones en el segundo, en tan sólo cinco años.

Como cualquier otro cultivo, el plátano y el banano afrontan grandes riesgos fitosanitarios. El hecho de

depender de un sólo cultivar que se explota en grandes extensiones, agudiza aún más los problemas de control de plagas y enfermedades. Dentro de éstos, el nematodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb, 1893; Thorne 1949) es una de las principales limitantes de la producción (Jaramillo y Figueroa, 1974).

En América Central y El Caribe, los mecanismos más utilizados para su control se basan en las prácticas culturales y en el combate químico. Sin embargo, la búsqueda de variedades resistentes es una alternativa con gran potencial, pero ha tenido poco desarrollo. Según Pinochet (1988a), la incorporación de resistencia a través del mejoramiento genético, es la forma ideal para el control de nematodos. El primer paso es contar con metodologías adecuadas para la evaluación de los materiales.

Actualmente, los procedimientos para la evaluación intensiva de germoplasma contra el ataque de los nematodos a nivel de invernadero, son costosos en términos de tiempo y recursos. Es por ello que existe la necesidad de utilizar técnicas confiables que superen estos inconvenientes. En el presente trabajo se aplicará una metodología basada en la propuesta por el Laboratorio de Nematología del CIRAD/IRFA Montpellier-Francia (Sarah *et al*, 1992), para evaluar el

efecto de *Radopholus similis* sobre el crecimiento de las plantas a nivel de invernadero. Los resultados obtenidos con esta técnica son confiables, reproducibles y correspondientes a observaciones preliminares en colecciones de campo (Blavignac, 1989; Sabatini, 1991).

Uno de los mayores obstáculos que se afrontan cuando se realizan este tipo de evaluaciones, es la disponibilidad de inóculo. El cultivo *in vitro* de nematodos es un importante tema de investigación en la nematología moderna y no es exclusivo para *Radopholus similis* en *Musa*. La posibilidad de contar con grandes poblaciones de organismos en el laboratorio y en un medio monoxénico, facilita y agiliza la investigación y la enseñanza de la nematología.

Los nematodos se clasifican como "parásitos obligados", es decir, que en teoría requieren la presencia del hospedante para desarrollarse. Esta característica podría limitar su reproducción *in vitro*. Sin embargo, han sido cultivados sobre hongos (Zuckerman y Jeyaprakash, 1985), en plántulas, en explantes radicales, en raíces o en segmentos de tejidos vegetales y en callos (Mai *et al*, 1988).

En el caso de *Radopholus similis*, el uso de discos de zanahoria ha dado resultados satisfactorios y es un método

relativamente sencillo si se compara, por ejemplo, con el cultivo en callos sobre medios más elaborados. Las zanahorias que se utilizan para este propósito deben estar recién cosechadas y sin lesiones, heridas o malformaciones. Sin embargo, las zanahorias que se encuentran disponibles en el mercado, generalmente no reúnen tales condiciones y, en consecuencia, incrementan las probabilidades de contaminación de los cultivos de nematodos en el laboratorio. Por lo tanto, se justifica explorar otros sustratos para enriquecer las posibilidades de reproducción de *Radopholus similis*.

Con base en los anteriores antecedentes se planteó la presente investigación con los siguientes objetivos: a) evaluar el nivel de resistencia de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a *Radopholus similis*, y b) determinar la capacidad de diferentes tejidos vegetales para la multiplicación *in vitro* del nematodo.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 El género *Musa*

Según Soto (1985), el género *Musa* es originario del sureste asiático, pertenece a la familia musaceae y al orden Escitaminales. Champion (1967), dividió este género en cuatro secciones: la Australimusa, dentro de la cual la especie más conocida es *Musa textilis*, la Callimusa, la Rhodochlamys que incluye a *Musa ornata*, y la Eumusa.

Dentro de esta última sección se encuentran las especies *Musa acuminata* (AA) y *Musa balbisiana* (BB), las cuales dieron origen a la mayoría de los cultivares comestibles a partir de cruzamientos interespecíficos. Aunque los procesos genéticos involucrados en la aparición de los plátanos y los bananos no se conocen con exactitud, se presume que la hibridación, la poliploidía, la partenocarpia y la esterilidad gamética, son los mecanismos responsables (Mateille, 1992).

De acuerdo con Soto (1985), los plátanos y los bananos son plantas herbáceas conseudotallos aéreos que tienen su origen en rizomas carnosos. A partir de éstos se

desarrollan numerosas yemas laterales o "hijos". Las hojas tienen una distribución helicoidal (filotaxia espiral) y las bases foliares rodean al cormo formando el pseudotallo. La inflorescencia es terminal y crece a través del centro del pseudotallo hasta alcanzar la superficie (Figura 1).

En la germinación, la radícula es sustituida por un sistema de raíces adventicias de origen endógeno (Stover y Simmonds, 1987). Las flores son zigomórficas (Soto, 1985) y se dividen en tres tipos: pistiladas en las manos superiores, neutras en varios cojines centrales y estaminadas en la parte terminal del racimo. Aunque este orden no es absoluto, la tendencia en el género *Musa* es a la intensificación de los elementos femeninos en la base del racimo y su disminución hacia el ápice (León, 1987). Las flores femeninas y masculinas difieren en los siguientes aspectos: las primeras son más grandes, poseen un ovario bien desarrollado y los estambres están reducidos a estaminodios. Las flores masculinas presentan un ovario abortivo, el estilo y el estigma son reducidos y las anteras están bien desarrolladas. A pesar de lo anterior, la ausencia de polen en las anteras de los cultivares que se consumen es común (Stover y Simmonds, 1987). En los cultivares comestibles, el fruto se desarrolla por partenocarpia y no se forman semillas (esterilidad

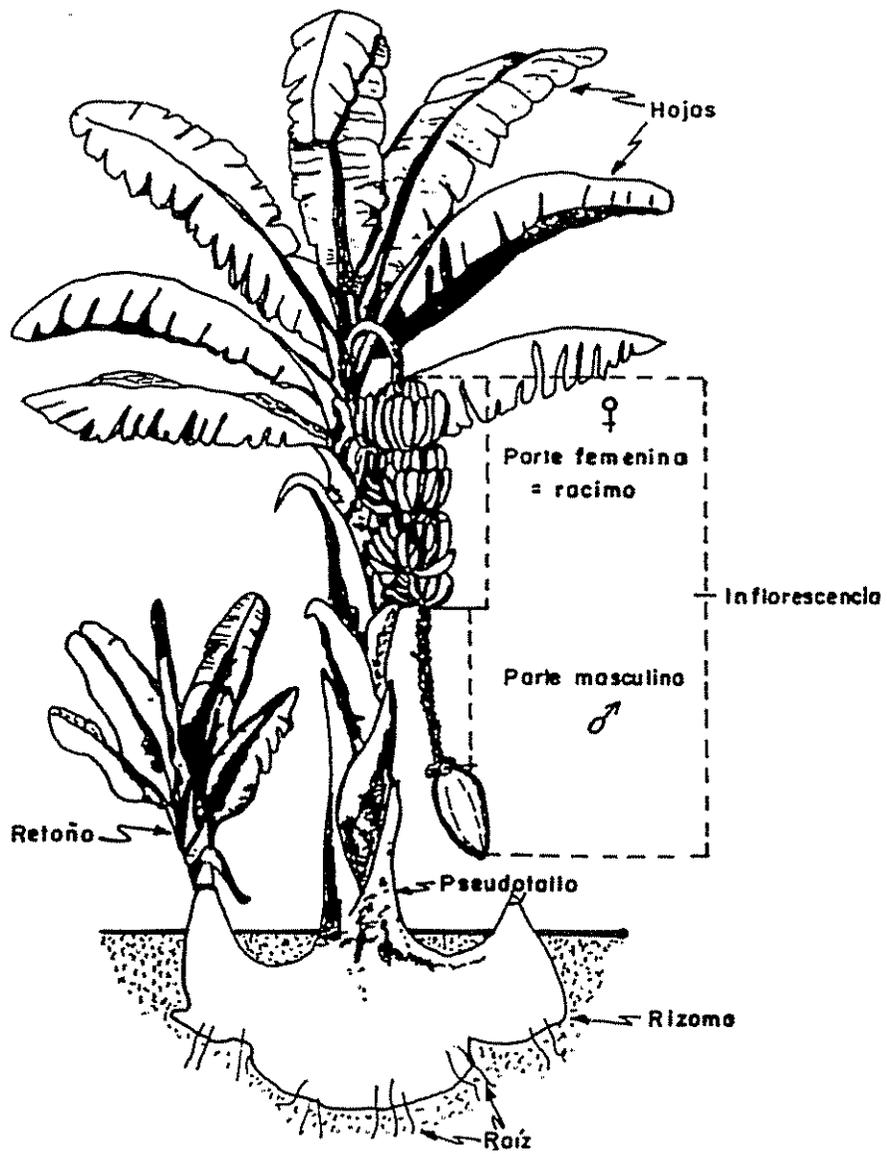


Figura 1. Representación esquemática de *Musa sp.*

femenina). Por el contrario, en las especies silvestres seminíferas, la polinización es indispensable para la obtención del fruto y éste, a su madurez, contiene una masa de semillas negras y duras rodeadas de una pulpa escasa y dulce (Simmonds, 1962).

## 2.2 *Radopholus similis*: generalidades

Este nematodo fue observado por primera vez en las Islas Fiji en el año de 1893 y parece ser originario de Australia y Nueva Zelanda. Actualmente, a excepción de Israel, Las Islas Canarias, Chipre, Creta y Taiwán, *Radopholus similis* se encuentra distribuido en todas las zonas productoras de musáceas comestibles del mundo (Union Carbide, 1986).

Pertenece al orden Tylenchida y a la familia Pratylenchidae (Dropkin, 1980) y tiene importancia económica, principalmente, en banano (incluye plátano), cítricos y pimienta negra (O'Bannon, 1977).

Su ciclo de vida es de 20 a 25 días a una temperatura de 24 a 32 °C. Presenta un estadio de huevo, cuatro estadios juveniles y el adulto. La hembra pone de cuatro a cinco huevos por día durante dos semanas (Union Carbide, 1986).

Los huevos eclosionan en cinco a siete días *in vitro* y en siete a ocho días en raíces de banano y la larva madura en 10 a 13 días (Peachey, 1969). Las hembras y los juveniles penetran las raíces y causan daño, los machos no penetran ni se alimentan (Union Carbide, 1986). La reproducción puede ser por anfimixis (Rivas y Román, 1985) o por partenogénesis (Huettel y Dickson, 1981). Es una especie con dimorfismo sexual: la región bucal de la hembra es redondeada, posee un estilete corto y robusto, la cola es ahusada y truncada, la vulva se encuentra a la mitad del cuerpo o ligeramente después y posee dos ovarios opuestos. El macho presenta una región bucal prominente, un estilete delgado y rudimentario y la cola es larga. En ambos sexos, el esófago traslapa dorsalmente al intestino (Taylor, 1968) (Figura 2).

*Radopholus similis* es considerado como un endoparásito migratorio (López, 1976). Destruye el sistema radical y el rizoma del banano y el plátano, y por lo tanto, disminuye la capacidad de anclaje de la planta, la cual tiende a volcarse (Tarté y Pinochet, 1981). Además, provoca una reducción en el crecimiento de la planta y en el tamaño del racimo, alarga el período en que la planta entra en producción y reduce la longevidad de la plantación (Román, 1978).

A,B,C : macho  
D,E : hembra

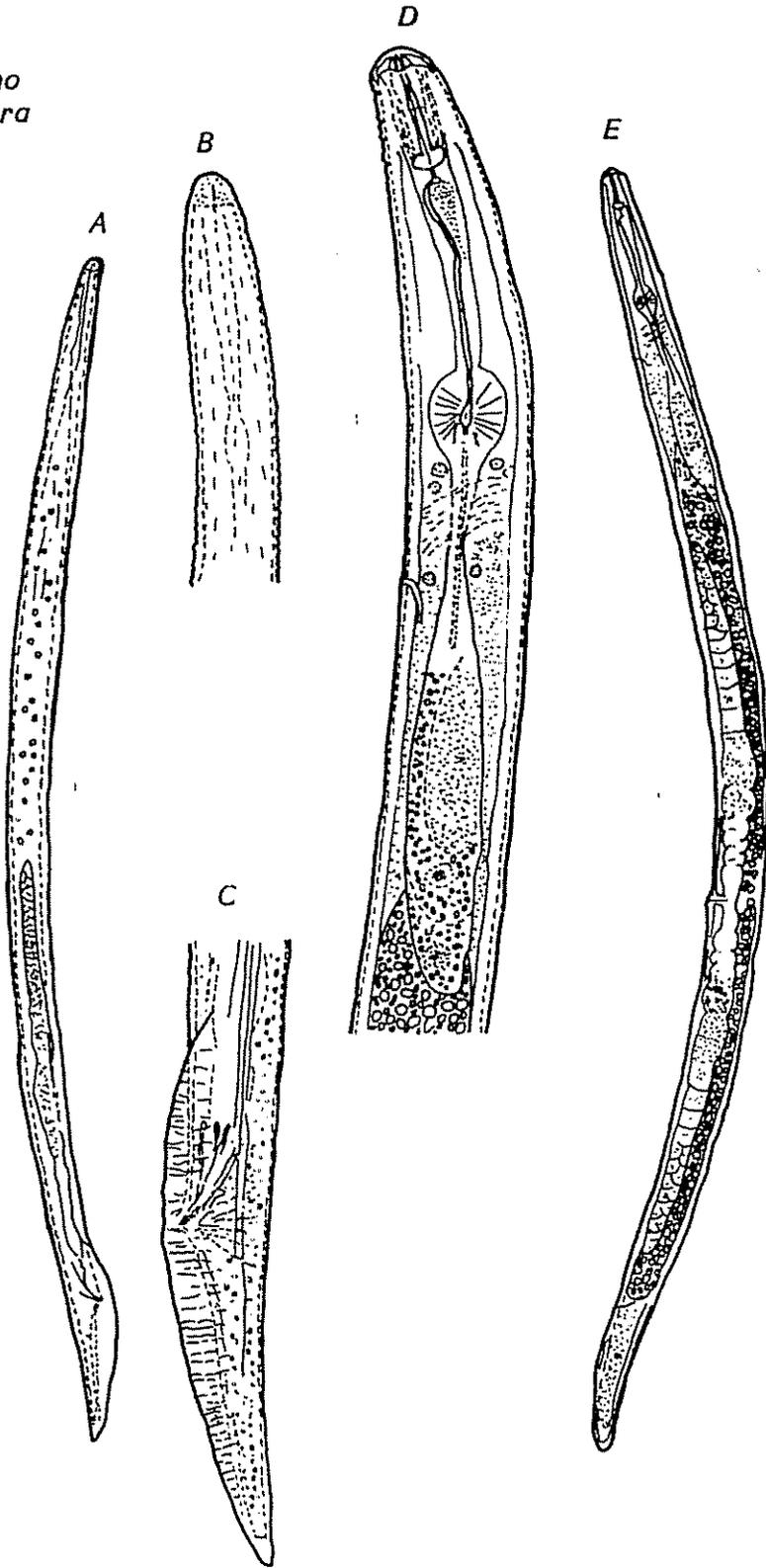


Figura 2. Representación esquemática de *Radopholus similis*

Blake (1966), estudió los cambios histológicos que provoca *Radopholus similis* en raíces de *Musa spp.* Según este autor, el nematodo se posiciona entre las células del parénquima cortical y se alimenta del citoplasma de las células aledañas. El núcleo y el nucleolo aumentan de tamaño. El citoplasma desaparece casi por completo, el núcleo se desintegra y la pared celular se rompe originando cavidades en el tejido. Entonces, el nematodo se mueve a lo largo de éstas en busca de nuevos sitios de alimentación. Las cavidades coalescen y se alargan hasta la endodermis. La endodermis de la raíz de banano es fuerte y densa, especialmente la pared tangencial interna, y constituye una barrera a la entrada del patógeno. La hiperplasia y la hipertrofia no son usuales y la necrosis se confina a las células epidérmicas dañadas y a las que rodean las cavidades o túneles.

### **2.2.1 *Radopholus similis*: importancia económica y síntomas**

Stover y Simmonds (1987) aseguran que después de la Sigatoka Negra, las lesiones por nematodos y la posterior invasión por hongos y bacterias, constituyen la más seria enfermedad de las variedades del subgrupo Cavendish (*Musa AAA*).

El nematodo barrenador *Radopholus similis* es de gran importancia económica en la producción de musáceas comestibles debido a su patogenicidad, amplia distribución geográfica y difícil control (Boncato y Davide, 1980a; Bridge, 1988; Edmunds, 1968; Gómez, 1983; Hutton, 1978; Jiménez, 1963; Luc y Vilardebó, 1961; O'Bannon, 1977; Pessoa, 1973; Pinochet, 1987; Pinochet, 1988a; Pinochet, 1988c; Román *et al*, 1975; Román, 1978; Sarah, 1990; Stover y Fielding, 1958; Tarté y Pinochet, 1981; UPEB, 1979a; UPEB, 1979b; Vilardebó, 1984).

Según Jiménez (1972), este nematodo es el de más amplia distribución en el cultivo del banano del Atlántico de Costa Rica. Por su parte López (1980), quien determinó las especies de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del plátano en Río Frio, Costa Rica, demostró que *Radopholus similis* es la especie más importante en la zona, no sólo por su mayor frecuencia y alta densidad, sino también por ser el responsable del volcamiento o caída de muchas plantas.

Wehunt y Edwards (1968), encontraron que en parcelas infestadas por *Radopholus similis* en América Central, la producción fue de 17.000 lb/acre/año de banano menos que en las no infestadas. Mass (1969) citado por UPEB (1979a), concluyó que en fincas bananeras con un 100% de infestación,

los rendimientos fueron de 30 ton/ha/año, mientras que con un 3% de infestación los rendimientos aumentaron a 73 ton/ha/año. En Costa Rica, Jaramillo y Figueroa (1974), reportaron pérdidas entre un 20 y un 35 % en el cultivo del plátano. Según UPEB (1979a), bajo condiciones severas de infestación, estos porcentajes podrían aumentar a un 50%. Sarah (1989), citado por Blavignac (1989), asegura que en Africa este nematodo es el responsable de pérdidas en el rendimiento que oscilan entre 30 y 75%. La Union Carbide Agricultural Products Company (1986), publicó los siguientes datos sobre pérdidas ocasionadas por *Radopholus*: en México, se reportó una reducción de 50% en la producción; en Puerto Rico, la producción en parcelas de banano no tratadas disminuyó en 25 toneladas métricas por hectárea y en plátano las pérdidas variaron entre 11,2 y 28,6 toneladas métricas por hectárea. Por el contrario, el control de *Radopholus similis* dio origen a una ganancia neta de US\$ 1692 por hectárea en plátano y el uso de nematicidas, en el mismo cultivo, redujo la caída de las plantas en un 9% anual.

Los daños del nematodo se pueden dividir en daños directos e indirectos. Los primeros consisten en la destrucción del sistema radical y el rizoma. López (1980), observó que las plantas atacadas por el nematodo presentaron los síntomas de la enfermedad conocida como "cabeza negra".

Estos se manifiestan con el ennegrecimiento y deterioro de las raíces y la presencia de hendiduras transversales y longitudinales en las mismas. Como consecuencia, las plantas con altos niveles de infestación son más susceptibles al volcamiento (González, 1971; Pinochet, 1988c; Shepherd, 1968 y UPEB, 1979a). López (1980), quien determinó los nematodos asociados al plátano en Río Frio, Costa Rica, asegura que en algunas fincas *Radopholus similis* fue el responsable del volcamiento de hasta un 50% de las plantas.

Los daños indirectos se presentan por la invasión de otros patógenos en las lesiones provocadas por el nematodo. De acuerdo con Figueroa (1982), la interacción interespecifica aumenta la importancia de la necrosis. Loridat (1989), reportó la presencia de *Radopholus similis* y el hongo *Cylindrocladium sp.* en lesiones radicales de banano. Por su parte Pinochet y Stover (1980), encontraron que *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*, *Cylindrocarpon musae* y *Acremonium stromaticum* fueron los organismos más frecuentes en las lesiones ocasionadas por el mismo nematodo. Gómez (1983), mencionó la interacción de *Radopholus similis* con el hongo *Fusarium oxysporum* y la bacteria *Pseudomonas solanacearum*.

### 2.3 Resistencia genética al nematodo barrenador

Aunque el banano y el plátano son de los pocos cultivos en el mundo cuyas variedades utilizadas comercialmente se originaron por evolución natural, afrontan grandes riesgos patológicos. El más importante es la dependencia que tienen los productores de una sola variedad o de pocas variedades susceptibles (FHIA, 1988).

El control de nematodos en América Central y El Caribe se ha realizado, principalmente, por medio de prácticas culturales como el apuntalamiento y, además, por la aplicación de nematicidas (Figueroa, 1982; González, 1971; Gowen, 1979; Pinochet, 1986; Pinochet, 1988c). El efecto detrimental de estos agroquímicos al medio ambiente y a la salud del hombre, han propiciado un cambio en las políticas internacionales de control de plagas y enfermedades. Dentro de este cambio de actitud, varios investigadores consideran que la búsqueda de fuentes de resistencia para el mejoramiento genético de las musáceas comestibles, es una alternativa de control que debe ser considerada (Bridge, 1988; Davide y Marasigan, 1985; Gowen, 1976; Jaramillo, 1988; Pinochet, 1988b; Pinochet, 1988c; Quénéhervé, 1988; Sarah, 1990).

Según Pinochet (1988b), la complejidad genética del material, la posibilidad de alterar o perder características deseables y el alto costo del programa, son factores que restringen el mejoramiento de las musáceas. Aunado a lo anterior, Rowe y Richardson (1975) y Stover y Buddenhagen (1986), consideraron como limitantes el tiempo requerido para desarrollar el programa y la adopción de métodos adecuados para experimentos de evaluación intensiva. En la mayoría de los cultivos, el genetista tiene flexibilidad para escoger la línea parental debido al carácter diploide de las plantas con semillas y polen. Sin embargo en el caso del género *Musa*, las variedades cultivadas para la exportación y el consumo local son triploides y presentan gran esterilidad (FHIA, 1988).

Los esfuerzos en programas de mejoramiento genético en *Musa*, deberían estar dirigidos a la búsqueda de materiales con tolerancia o resistencia a *Radopholus similis*, que posean buenas características agronómicas y un nivel aceptable de resistencia a la Sigatoka Negra (Jaramillo, 1988; Pinochet, 1988c). Sin embargo, las fuentes de resistencia al nematodo barrenador son escasas y como no han sido evaluadas en forma extensiva, su estabilidad en presencia del patógeno se desconoce (Stover y Buddenhagen, 1986). Según Pinochet (1988b), todos los *Musa* AAA y la

mayoría de los *Musa* AAB y ABB son susceptibles. De acuerdo con UPEB (1979a), este nematodo comenzó a adquirir importancia como resultado del reemplazo del cultivar *Musa* AAA cv. 'Gros Michel', que es menos susceptible, por materiales de *Musa* AAA subgrupo 'Cavendish'. Hasta la fecha, no se ha liberado ningún cultivar comercial de banano o plátano resistente a nematodos, aunque existen trabajos interesantes al respecto.

Pinochet (1988b), menciona que desde finales de los años cincuenta hasta finales de los setenta, varios investigadores de Jamaica, Trinidad y Honduras, han evaluado cultivares comestibles de los grupos AAA y AA, en busca de fuentes de resistencia. El Programa de Mejoramiento del Banano de la United Fruit Company, en La Lima, Honduras, hoy bajo la dirección de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), encontró que el diploide *Musa* AA cv. 'Pisang Jari Buaya' presenta genes dominantes de resistencia al nematodo. Estos resultados han sido comprobados por otros autores (Davide y Marasigan, 1985; Pinochet y Rowe, 1978; Wehunt *et al*, 1965). El 'Pisang Jari Buaya' exhibe buenas características agronómicas, pero la ausencia de polen y la poca fertilidad femenina restringieron su uso en polinizaciones cruzadas (Pinochet, 1988b). Después de varios esfuerzos, en 1977 se seleccionó un híbrido

denominado SH-3142, proveniente del cruce PJB ('Pisang Jari Buaya') II-115 x SH-1734 (Pinochet, 1988b). Según Pinochet y Rowe (1979), este es el material más promisorio encontrado hasta la fecha. Posee características importantes como polen fértil y producción de varias semillas por racimo. Una de sus progenies, el SH-3362, forma racimos grandes (24 manos), muestra alto grado de resistencia a la Sigatoka negra, buen sabor y pedúnculos fuertes, pero su comportamiento ante el ataque del nematodo no ha sido bien estudiado. La FHIA (1988), ha publicado los esfuerzos que realizó la institución, en busca de materiales resistentes a nemátodos y a varios patógenos de interés para la agroindustria bananera.

Existen otros estudios, los cuales se mencionan a continuación, en los que se evalúa el comportamiento de los materiales a la infestación del parásito.

Gowen (1976), midió el efecto de *Radopholus similis* y *Helicotylenchus multincinctus* sobre el crecimiento de clones diploides, triploides y tetraploides. Encontró que el clon diploide *Musa* AA cv. 'Sikuzani' fue menos susceptible a ambos parásitos que el *Musa* AA cv. 'Pisang Lilin' y *Musa* AA cv. 'Anai komban'. En el triploide *Musa* AAA cv. 'Highgate' (mutante enano del 'Gros Michel'), se encontró menor cantidad de nematodos que en los tetraploides evaluados y en

los triploides del subgrupo Cavendish (AAA) 'Valery' y 'Robusta'. Los clones de este subgrupo han sido utilizados como testigos de susceptibilidad o controles en las pruebas de evaluación de germoplasma (Davide y Marasigan, 1985; Pinochet y Rowe, 1978; Zem *et al*, 1981). Davide y Marasigan (1985), estudiaron el comportamiento de 78 cultivares de banano inoculados con *Radopholus similis* y *Meloidogyne incognita*. De acuerdo a sus resultados, 25 cultivares fueron resistentes al primero y dentro de ellos el cultivar llamado 'Tanggung' (derivado de *Musa acuminata ssp. malaccensis*, según Valmayor *et al*, 1981), presentó el menor índice de lesión radical, número de lesiones por planta, número de individuos por 25 g de raíz. Según Davide (1980), los cultivares locales *Musa* AA cv. 'Lakatan', *Musa* AAB cv. 'Latundan' y *Musa* BBB cv. 'Cardaba', mostraron algún grado de resistencia al patógeno. Pinochet y Rowe (1978) y Wehunt *et al* (1978), encontraron que los cultivares *Musa* ABB cv. 'Pisang Batuau' y los diploides *Musa* AA 'Pisang Lidi' y 'Pisang Jari Buaya', son generalmente resistentes a *Radopholus similis*. Iryzarry *et al* (1988), comprobaron que el clon de plátano *Musa* AAB cv. 'Lacknau' es susceptible al ataque del nematodo. Por su parte, Zem *et al* (1981), concluyeron que *Musa* AAB subgrupo Pomé cv. 'Prata' y *Musa* AAB cv. 'Mysore' son materiales tolerantes a los nematodos *Radopholus similis* y *Helicotylenchus multicinctus*. El cv.

'Prata' se comportó como el peor hospedante, mientras que en *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Nanicao' la reproducción de los parásitos fue mayor. Pérez *et al* (1986), evaluaron la susceptibilidad de algunos cultivares del género *Musa* a *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae*. Sus resultados indicaron que ante el primer patógeno las variedades del subgrupo Cavendish (AAA) 'Gran Enano' y 'Parecido al Rey' y un tetraploide de *Musa acuminata* fueron menos susceptibles que *Musa* AAA subgrupo 'Cavendish' cv. 'Robusta'. Mientras que, *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Giant Cavendish' y los clones del subgrupo Plantain (AAB) 'Macho 3/4' y 'CEMSA 3/4' presentaron los mayores valores de daño. De acuerdo con Rowe (1990), el clon *Musa* AAA cv. 'Highgate' y los clones *Musa* ABB fueron tolerantes al nematodo barrenador.

Los programas de mejoramiento genético requieren, como primer paso, metodologías que identifiquen los materiales más promisorios. En el caso del género *Musa*, los procedimientos actuales a nivel de invernadero consumen mucho tiempo y recursos, ocupan mucho espacio y no son consistentes entre ellos desde un punto de vista metodológico. Por lo tanto, existe la necesidad de diseñar y adoptar metodologías que superen estas limitaciones y cuyos resultados correspondan a observaciones de campo. Para el caso específico de los nematodos, Sarah *et al* (1992)

han propuesto y evaluado una técnica que cumple los requisitos mencionados y que por lo tanto, puede ser adoptada para este tipo de estudios. La misma utiliza plantas de cultivo de tejidos aclimatadas en invernadero para lograr una prueba precoz y rápida y tener opción a un mayor número de repeticiones. Usando niveles conocidos de inóculo sobre plántulas en recipientes de volumen predeterminado, se observan diferencias en las poblaciones de los patógenos a las ocho semanas después de la inoculación. Las diferencias en el desarrollo de las plántulas y de las raíces se logró incrementando el nivel de inóculo y/o el tiempo entre la inoculación y la observación (10 semanas o más). La técnica es asequible, puede ser usada para evaluar otros nematodos que forman lesiones y se puede adaptar fácilmente para nematodos agalladores. Esta metodología ha sido aplicada con éxito por Blavignac (1989) y Sabatini (1991).

#### 2.4 Cultivo *in vitro* de nematodos

De acuerdo con Zuckerman y Jeyaprakash (1985), los cultivos gnotobióticos se caracterizan porque todas las especies presentes se conocen. Generalmente en los cultivos *in vitro* y, en especial, cuando se utilizan raíces o segmentos de tejidos vegetales, la presencia de bacterias acelera la descomposición de los mismos y contamina a la

especie principal. A este tipo de cultivos se les denomina dixénicos, es decir, existen dos especies además de la especie de interés. Uno de los objetivos de la multiplicación de nematodos bajo condiciones gnotobióticas, es obtener cultivos monoxénicos en los cuales, por definición, existe una sola especie que acompaña a la que deseamos multiplicar.

Los nematodos que atacan a las plantas son parásitos obligados, es decir, necesitan los tejidos del hospedante para poder vivir. Esta característica dificulta su desarrollo en cultivos monoxénicos, limita su estudio como agentes patógenicos y aumenta el costo comparado con el cultivo de hongos (que no sean parásitos obligados) y bacterias (Brodie *et al*, 1988; Mai *et al*, 1988). A pesar de ello, instituciones como la Universidad de Carolina del Norte lograron mantener grandes poblaciones de nematodos cultivados *in vitro* para fines de investigación y enseñanza (Barker, 1988).

Según Lewis y Harshman (1988), los nematodos producidos en laboratorio sirven para incrementar las poblaciones utilizadas en estudios a nivel de invernadero y campo o para actuar como un respaldo si los cultivos en el invernadero se pierden. Además, los estudios de taxonomía, patogénesis,

resistencia, interacción del nematodo con otros organismos, diversidad genética y estabilidad, efectos en hospedantes y biología molecular, se facilitan cuando existen grandes poblaciones de organismos (Barker, 1988; Brodie *et al*, 1988; Einsenback, 1988).

El cultivo monoxénico de nematodos se ha desarrollado sobre plántulas (Einsenback, 1988; Seshardi, 1964; Starr, 1988), explantes (Lewis y Harshman, 1988; Starr, 1988; Thomas, 1959; Wescott, 1988), callos (Assis y Ferraz, 1990; Brown y Vessey, 1985; Lownsberry *et al*, 1967; Riedel *et al*, 1973, Starr, 1988) y tejidos vegetales almacenados. Además, Zuckerman y Jeyaprakash (1985), mencionan el cultivo axénico y el cultivo sobre hongos en nematodos de la superfamilia Aphelenchoidea.

#### **2.4.1 Cultivo de nematodos en raíces u otros segmentos de tejidos vegetales**

El uso de raíces almacenadas para cultivar nematodos *in vitro* es una técnica bastante adoptada, debido principalmente a que no utiliza medios de cultivo elaborados y a los resultados satisfactorios logrados con varias especies de nematodos.

En el caso de *Radopholus similis* el cultivo en secciones radicales de zanahoria ha sido el más practicado. Assis y Ferraz (1989), Blavignac (1989), Inserra y O'Bannon (1975), O'Bannon y Taylor (1968) y Sabatini (1991), reprodujeron a *Radopholus similis* sobre discos de zanahoria y Huettel (1987) describió el procedimiento para su cultivo. Boncato y Davide (1980b), lo multiplicaron utilizando discos de zanahoria colocados en platos petri con agar-agua al 1% y 600 ppm de estreptomycin. Los nematodos experimentaron un mayor aumento en la tasa de reproducción cuando fueron introducidos en la superficie de la zanahoria, que cuando se ubicaron debajo del disco o en la solución de agar cerca del mismo.

Otros nematodos pueden ser multiplicados por medio de esta técnica. Baker (1948) citado por O'Bannon y Taylor (1968), desarrolló varios métodos utilizando tubérculos de papa para cultivar a *Ditylenchus destructor*. Thorne (1961), extendió el cultivo de esta especie con raíces almacenadas de camote, nabo, zanahoria, remolacha y cebolla. Chitambar y Raski (1985), estudiaron el ciclo de vida de *Pratylenchus vulnus* cultivados sobre discos de zanahoria y Moody et al (1973), modificaron la técnica, colocando discos de zanahoria en ausencia de agar agua. Los resultados obtenidos por los investigadores fueron satisfactorios en

ambos casos. Assis y Ferraz (1989), comprobaron que la técnica de discos de zanahoria en platos petri con agar-agua fue adecuada para la reproducción de *Pratylenchus brachyurus*.

En general, después de un período aproximado de dos meses, los tejidos empiezan a deteriorarse y es necesario reemplazarlos (O'Bannon y Taylor, 1968).

### 3. MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en dos partes, una a nivel de laboratorio y la otra a nivel de invernadero. La primera tuvo lugar en el Laboratorio de Nematología y en el de Cultivo de Tejidos del CATIE y la segunda en el invernadero de Nematología de la misma institución, durante el periodo comprendido entre octubre de 1991 y agosto de 1992.

Los materiales y la metodología empleados en cada trabajo, se describen a continuación.

#### 3.1 Evaluación de sustratos para el cultivo *in vitro* de *Radopholus similis*

Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, con el propósito de determinar la capacidad de diferentes tejidos vegetales para la reproducción *in vitro* de *Radopholus similis*.

Los sustratos evaluados fueron: la raíz de la zanahoria (*Daucus carota*), los tubérculos del ñame (*Dioscorea alata*), del camote (*Ipomoea batata*) y de la papa (*Solanum tuberosum*) y los cormelos del tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*).

Para el caso de la zanahoria, se probaron dos condiciones: el uso de un medio agar agua y la ausencia del mismo. El procedimiento para la preparación de los cultivos y el medio, la axenización o desinfección de los nematodos, la inoculación y la incubación de los cultivos, se basó en el propuesto por O'Bannon y Taylor (1968) y Boncato y Davide (1980b) para zanahoria, el cual se detalla en el Anexo 1.

Treinta días después de la inoculación se determinó el número de nematodos presentes en cada frasco. Las zanahorias se cortaron en secciones pequeñas, se colocaron sobre un filtro en un recipiente con agua y una fuente de oxígeno durante 24 horas (*Radopholus similis* es un nematodo que muere rápidamente sin un suplemento de oxígeno). Los nematodos obtenidos se colocaron en 25 ml de agua, se tomó una alícuota de 1 ml y se determinó el número de *Radopholus similis* por frasco.

Se realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey al 1% para comparar los tratamientos. Debido a que la prueba de Bartlett comprobó la heterogeneidad de las varianzas, la variable número de nematodos fue transformada a  $\log_{10} (x+1)$ .

### 3.2 Evaluación de germoplasma de musáceas

Se utilizó un arreglo factorial dentro de un diseño completamente al azar con doce repeticiones. Los factores evaluados fueron tres cultivares y un híbrido de *Musa* y dos tratamientos: plantas inoculadas y plantas sin inocular o testigos.

Los materiales utilizados fueron: los cultivares *Musa* AAA subgrupo Ibota cv. 'Yangambi', *Musa* AAB subgrupo Plantain cv. 'Curraré' y *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Gran Enano' y el híbrido *Musa* AAAB 'Bras-9' (código de la colección *in vitro* del CATIE). Este último fue producido por EMBRAPA en Brasil bajo el código JV 03-15 y proviene del cruce entre *Musa* AAB subgrupo Pomé cv. 'Prata' y *Musa acuminata ssp. burmanicoides* (AA) 'Calcuta 4' (Jaramillo, R. 1992. CATIE. Comunicación personal). Los materiales citados se produjeron por medio de la técnica de cultivo de meristemas, que se encuentra detallada en la publicación de Sandoval (1991).

Las plantas provenientes del laboratorio se colocaron en recipientes con capacidad para 1 L y con suelo tamizado y esterilizado con metabromo 980 (Bromuro de Metilo 980 g/l).

A los 15 días después del trasplante se realizó una aplicación foliar de una solución acuosa preparada con los macro y los micronutrientes de Murashige y Skoog. Después de un período de aclimatación de un mes las plantas más homogéneas fueron seleccionadas e inoculadas. El procedimiento de inoculación se describe en el Anexo 1. Con el propósito de evitar la contaminación entre las plantas, los recipientes se colocaron individualmente sobre un plato de polietileno. El riego se efectuó cada uno o dos días según las necesidades. La temperatura y la humedad se verificaron utilizando un higrotermógrafo. Los datos obtenidos se detallan en el Anexo 2.

A las ocho semanas después de la inoculación se registraron las siguientes variables dependientes: la altura de la planta desde el punto donde se inicia el engrosamiento del cormo hasta el vértice inferior de la 'V' formada por las dos últimas hojas emitidas. El peso fresco total de la planta, el peso fresco y el número de raíces, el número de nematodos por planta y el número de nematodos por gramo de raíz. La extracción de los mismos se realizó por medio de la técnica de Centrifugación y Flotación (Anexo 3). Los nematodos se colocaron en 25 ml de agua, luego se determinó el número de *Radopholus similis* en una alícuota de 1 ml.

Además, se calculó el porcentaje de tejido radical dañado con base en la escala que se especifica a continuación (Blavignac, 1989):

- 0 : menos de 5% del tejido dañado (necrosis)
- 1 : de 5% a 25% del tejido dañado
- 2 : de 25% a 50% del tejido dañado
- 3 : de 50% a 75% del tejido dañado
- 4 : más de 75% del tejido dañado

Los cambios histológicos en las raíces de las plantas afectadas, se comprobaron por medio de cortes longitudinales. El procedimiento para la tinción de los tejidos se presenta en el Anexo 4.

El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de Tukey a los niveles de probabilidad del 1% y del 5%. La variable número de nematodos por planta y número de nematodos por peso de raíces fueron transformadas a  $\log_{10}(x)$ , según la Prueba de Bartlett.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Evaluación de sustratos para el cultivo *in vitro* de *Radopholus similis*

De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 6, Cuadro 1A), la fuente de variación debida al tipo de sustrato afectó significativamente el número de nematodos. El Cuadro 1, muestra el número promedio de nematodos recobrados de los diferentes tejidos y la prueba de Tukey, al nivel de probabilidad del 1%, demostró que las secciones de zanahoria, en presencia o ausencia de agar, constituyen el mejor sustrato para la multiplicación *in vitro* del nematodo barrenador.

Assis y Ferraz (1989), Blavignac (1989), Boncato y Davide (1980b), O'Bannon y Taylor (1968), Sabatini (1991) y Tarté *et al* (1981), reprodujeron a *Radopholus similis* sobre discos de zanahoria en presencia de agar, y Moody *et al* (1973), tuvieron éxito en la multiplicación de *Pratylenchus vulnus* en ausencia del medio agar agua.

Los tratamientos con papa, camote, ñame y tiquisque, que no mostraron diferencias significativas entre sí, presentaron los menores valores de número de nematodos.

Cuadro 1. Número de *Radopholus similis* extraídos de seis sustratos a los 30 días después de la inoculación.

SUSTRATO	NUMERO DE NEMATODOS	INCREMENTO*
ZANAHORIA (con agar)	1163 A*	23.3 x
ZANAHORIA (sin agar)	1090 A	21.8 x
PAPA	10 B	-----
CAMOTE	10 B	-----
ÑAME	11 B	-----
TIQUISQUE	9 B	-----

\*Promedios seguidos por letras iguales no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey al nivel de probabilidad del 1%. Nivel inicial de inóculo: 50 *Radopholus similis*

La contaminación de estos cultivos a nivel de campo limita y dificulta su manejo *in vitro*. El método de desinfección del tejido no es capaz de eliminar los contaminantes endógenos.

Los porcentajes de contaminación en el período comprendido entre la preparación de los cultivos y la inoculación (dos semanas) variaron entre 60 y 70% y entre 20 y 40% en la etapa de reproducción del nematodo (30 días), para el tiquisque y el ñame. En el caso de la papa y el camote, estos porcentajes oscilaron entre 30 y 50% durante las dos primeras semanas, y entre 15 y 25% en la segunda

etapa. En la primera etapa se perdieron 10% de los cultivos de zanahoria, mientras que en el periodo de reproducción del patógeno no se presentaron pérdidas. La papa, el camote, el ñame y el tiquisque una vez inoculados, permanecen menor tiempo en condiciones adecuadas para la multiplicación del patógeno. Los cultivos con zanahoria se pueden mantener en buenas condiciones durante dos meses, los cultivos restantes apenas lograron permanecer aceptables hasta el momento de la evaluación (30 días). En el caso específico del tiquisque, la deshidratación rápida del tejido afecta el contenido de humedad en el recipiente y en consecuencia la reproducción de *Radopholus similis*. Además, los cultivos de nematodos en papa, camote, tiquisque y ñame, que alcanzaron la fecha de evaluación sin contaminación aparente, no presentaron un incremento en el número de nematodos (Cuadro 1). Esto demuestra que no son apropiados para la reproducción *in vitro* de *Radopholus similis*.

En cuanto a la tasa de reproducción *in vitro* del nematodo existen varios trabajos. A continuación se detallan algunos de ellos, para luego establecer una comparación con los resultados del presente experimento. Boncato y Davide (1980), reprodujeron a *Radopholus similis* sobre discos de zanahoria en un medio agar agua con sulfato de estreptomycin y a una temperatura entre 24 y 26 °C. A los 35 días después de la inoculación hubo un incremento en

la población de 50.3 veces. Blavignac (1989), obtuvo un incremento de aproximadamente 25 veces, a los 28 días después de la inoculación y a una temperatura que varió entre 28 y 29 °C. En el presente experimento, el mayor incremento fue de 23.3 veces y correspondió a los cultivos de zanahoria sobre el medio agar agua (Cuadro 1). En las investigaciones citadas anteriormente se utilizaron nematodos de diferentes regiones bananeras. Aunque normalmente existen diferencias metodológicas en los procedimientos de cultivo *in vitro*, las distintas tasas de incremento poblacional, sugieren la existencia de patotipos de *Radopholus similis*. Tarté *et al* (1981), concluyeron que existen dos tipos patogénicos del nematodo en las áreas productoras de América Central y América del Sur. Sus conclusiones se basaron en estudios de incremento poblacional, preferencia a determinados hospederos y presencia de variantes morfológicos.

#### **4.2 Efecto de *Radopholus similis* sobre tres cultivares y un híbrido de *Musa***

La descripción de los resultados y las discusiones se realizó considerando dos grupos de variables. El primero incluye la altura de la planta, el peso fresco de la planta y de las raíces y el número de raíces. Estas se analizaron siguiendo un arreglo factorial dentro de un diseño

completamente al azar. Los factores fueron: tratamiento (plantas inoculadas y plantas sin inocular), y el cultivar. El segundo grupo considera las variables que fueron evaluadas, sólomente en las plantas inoculadas. En este caso, el cultivar fue la única fuente de variación.

Con respecto al primer grupo, la variable número de raíces no mostró efectos significativos (Anexo 6, Cuadro 5A). El factor de variación debido al tratamiento (plantas inoculadas y plantas sin inocular) fue el único que afectó significativamente las variables incluidas en este grupo (Anexo 6, Cuadros 2A, 3A y 4A).

Las plantas libres de inóculo, alcanzaron mayores valores de altura, peso fresco de la planta y peso fresco de las raíces, que las que crecieron en presencia del patógeno (Cuadro 2).

En las Figuras 3, 4 y 5, se compara, respectivamente, la altura, el peso fresco de la planta y el peso fresco de las raíces de los cultivares y el híbrido inoculados, con los testigos. Aunque no se produjeron diferencias significativas entre cultivares, ni entre cultivares dentro de cada tratamiento, se observa, más claramente, el efecto del nematodo anotado en el Cuadro 2, para cada variable y

para cada material. El mismo tiende a ser ligeramente mayor en el 'Gran Enano' que en el 'Yangambi', tanto en la altura de la planta, como en el peso total y radical. Este comportamiento comprueba, que *Radopholus similis* no pierde su capacidad patogénica al ser cultivado *in vitro*, sobre discos de zanahoria (Boncato y Davide, 1980b).

Cuadro 2. Efecto de *Radopholus similis* sobre la altura de la planta, el peso fresco de la planta y el peso fresco de las raíces de *Musa*\* a los 60 DDI

VARIABLE	TRATAMIENTO	
	SIN INOCULAR	INOCULADAS
ALTURA (cm)	21.0	19.3
PESO PLANTA (g)	52.5	47.9
PESO RAIZ (g)	25.8	22.3

\*Cada promedio incluye los tres cultivares y el híbrido dentro de cada tratamiento.

En el segundo grupo de variables, la fuente de variación debida al cultivar provocó diferencias significativas sobre el número de nematodos por planta, el número de nematodos por peso de raíces y el valor de lesión radical (Anexo 6, Cuadros 6A, 7A y 8A, respectivamente).

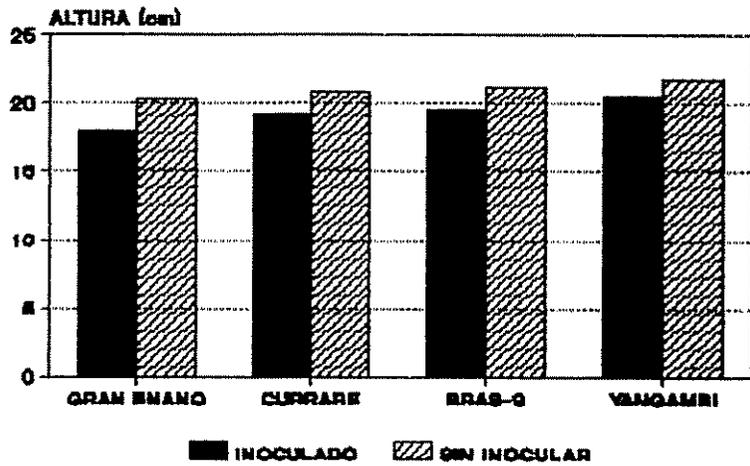


Figura 3. Efecto de *Radopholus similis* sobre la altura de la planta de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 días después de la inoculación (DDI)

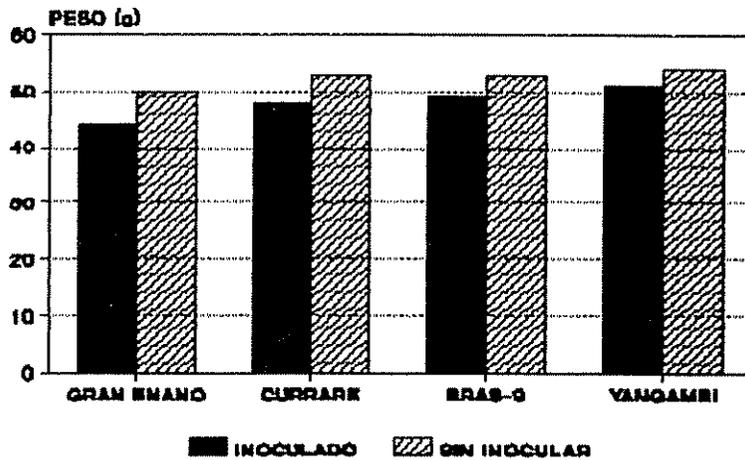


Figura 4. Efecto de *Radopholus similis* sobre el peso fresco de la planta de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 DDI

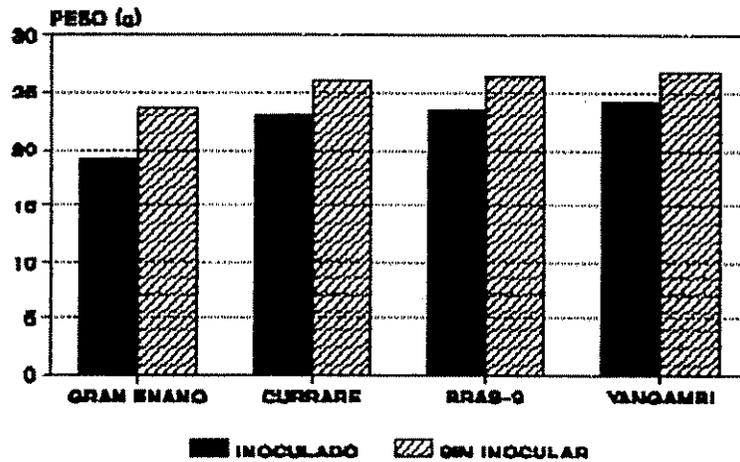


Figura 5. Efecto de *Radopholus similis* sobre el peso fresco de las raíces de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 DDI

Con respecto a la variable número de nematodos por planta, los materiales fueron significativamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey al 1% (Figura 6). El 'Gran Enano' presentó el mayor valor para esta variable, seguido por el 'Curraré', el 'Bras-9' y el 'Yangambi'. El mismo orden se obtuvo para el número de nematodos por peso de raíz (Figura 7). El 'Gran Enano' fue significativamente diferente a todos los demás materiales. No hubo diferencias estadísticas entre el 'Curraré' y el 'Bras-9', ni entre éste último y el 'Yangambi'.

La diferencia del valor de lesión radical entre los materiales evaluados se dio a un nivel de probabilidad del 5% (Anexo 6, Cuadro 8A). El orden, de mayor a menor, fue similar al de las variables anteriores (Figura 8). La prueba de Tukey demostró que el 'Gran Enano' y el 'Yangambi' fueron significativamente diferentes. Este último presentó el menor índice de lesión radical. El 'Curraré' y el 'Bras-9' obtuvieron valores de índice intermedios y no fueron estadísticamente diferentes entre sí, ni con respecto a los otros dos materiales.

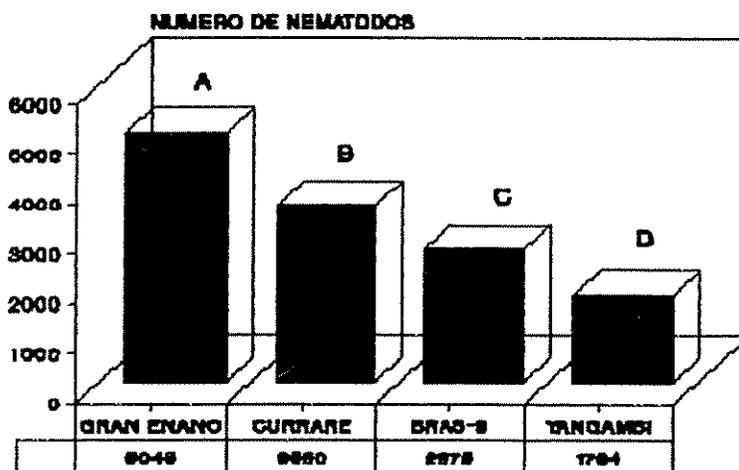


Figura 6. Número de *Radopholus similis* extraídos de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 DDI

Letras iguales sobre las barras, indican que los promedios no difieren significativamente entre sí según la prueba de Tukey al 1%

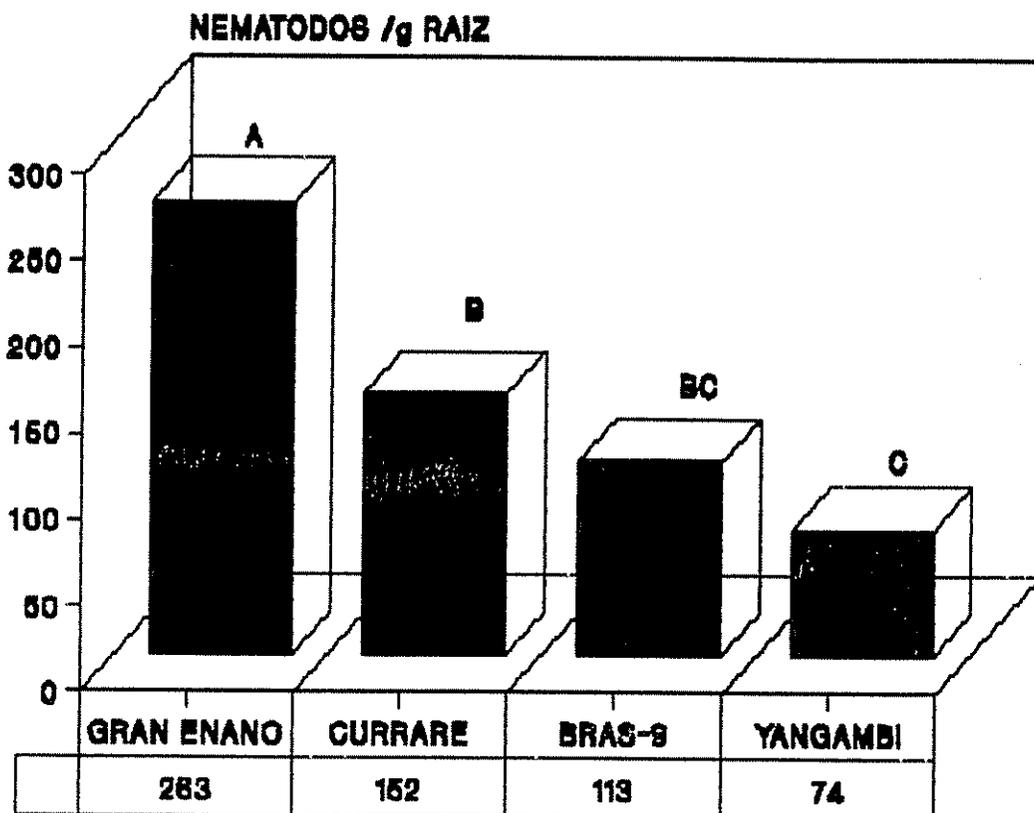


Figura 7. Número de *Radopholus similis* por gramo de raíz extraídos de tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 DDI

Letras iguales sobre las barras, indican que los promedios no difieren significativamente entre sí según la prueba de Tukey al 1%

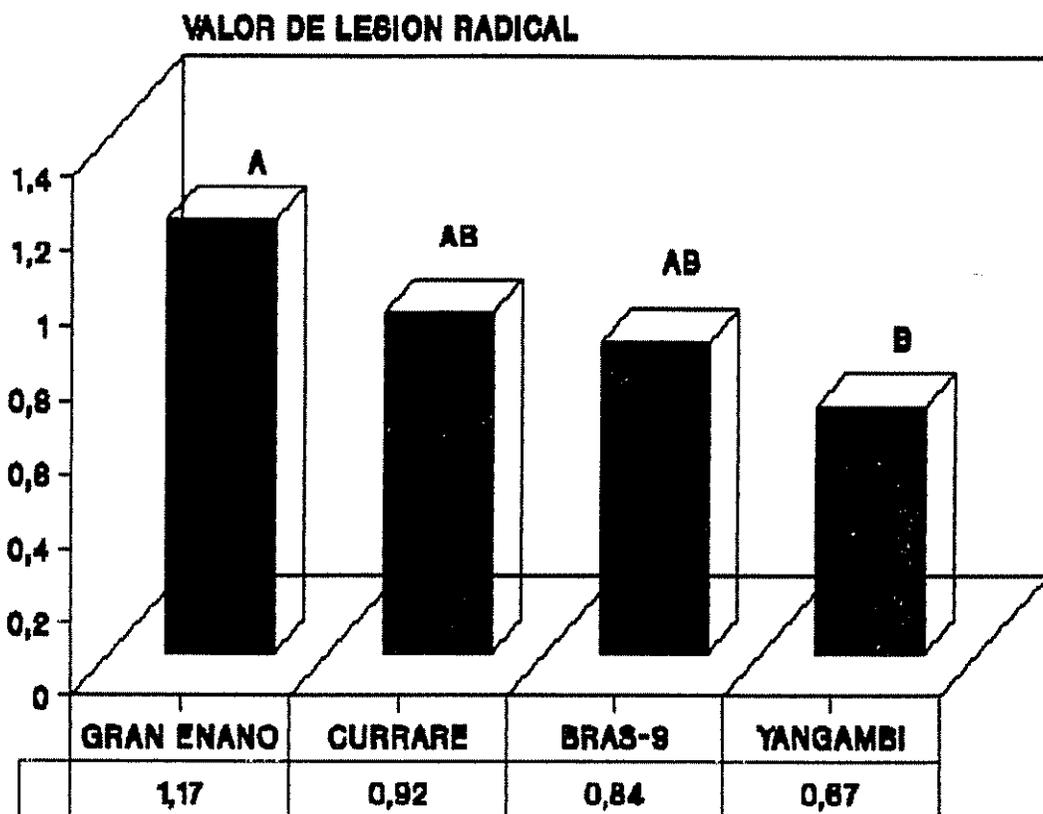


Figura 8. Valor de lesión radical en tres cultivares y un híbrido de *Musa* a los 60 DDI

Letras iguales sobre las barras, indican que los promedios no difieren significativamente entre sí según la prueba de Tukey al 5%

Blavignac (1989), realizó varios experimentos utilizando plantas de cultivo de tejidos y un nivel de inóculo de 100 *Radopholus similis* cultivados en discos de zanahoria y provenientes de Costa de Marfil. A continuación se presentan algunos de sus resultados con el propósito de compararlos con los obtenidos en el presente experimento.

A las nueve semanas después de la inoculación, el número de nematodos por peso de raíz fue de 1042 en las plantas de 'Gran Enano' y 202 en las de 'Yangambi'. Los valores de lesión radical, para los mismos cultivares y en el mismo orden fueron de 1.5 y 1.0. Con respecto a esta última variable, los datos fueron tomados a las seis semanas después de la inoculación.

En el presente experimento, se encontraron 74 nematodos por gramo de raíz en el 'Yangambi' y 263 en el 'Gran Enano' (Figura 7) y valores de lesión radical de 0.67 y 1.17, respectivamente (Figura 8). La evaluación se realizó a las ocho semanas después de la inoculación.

El número de nematodos por peso de raíz y el valor de lesión radical que reportó Blavignac (1989) para ambos cultivos, son mayores que los encontrados en el presente experimento. Aparentemente, los nematodos provenientes de Costa de Marfil, lograron reproducirse mejor en los tejidos

radicales y, por lo tanto, causar más daño que los provenientes de Costa Rica. Sabatini (1991), evaluó el poder patogénico de cuatro poblaciones de nematodos de Costa de Marfil, Guadalupe, Costa Rica y Martinica. Las plantas inoculadas fueron de las variedades 'Poyo' y 'Yangambi' y se concluyó que la población de Costa de Marfil es la más patogénica. La existencia de biotipos de *Radopholus similis* en las áreas productoras de banano, ha sido investigada por varios nematólogos (Edwards y Wehunt, 1971; Pinochet, 1979; Tarté *et al*, 1981).

Blavignac (1989), evaluó cinco cultivares y encontró que la reproducción de *Radopholus* fue menor en las plantas de 'Yangambi'. El número de nematodos por gramo de raíz a las ocho semanas después de la inoculación fue de 375. El cultivar más susceptible fue el *Musa* AAA subgrupo Cavendish 'Poyo', con un valor de 1435 nematodos por gramo de raíz. El autor menciona que estos resultados concuerdan con observaciones de campo en las cuales los rizomas y las raíces del 'Yangambi', presentan menor daño que los de otros cultivares. Agrega que es notoria la importancia de este clon porque se ha encontrado que tiene resistencia a la cercosporiosis, a la marchitez fungosa y al picudo.

Por otro lado, la susceptibilidad del grupo Cavendish (el caso del 'Poyo' en el experimento de Blavignac y el

'Gran Enano' en la presente investigación) ya ha sido mencionada. De acuerdo con UPEB (1979a), *Radopholus similis* comenzó a adquirir importancia como resultado del reemplazo del cultivar *Musa* AAA cv. 'Gros Michel', por materiales más susceptibles pertenecientes al subgrupo Cavendish. La importancia de éstos últimos radica en el hecho de que sirven como testigos de susceptibilidad o controles en este tipo de pruebas. Davide y Marasigan (1985), Pinochet y Rowe (1978) y Zem *et al* (1981), utilizaron el *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Giant Cavendish o Valery' con este propósito.

El 'Bras-9' y el 'Curraré' ocuparon una posición intermedia en la escala de susceptibilidad. En el caso de las variable número de nematodos por peso de raíz y valor de lesión radical, estos materiales no fueron significativamente diferentes, por lo tanto, no se puede afirmar que el 'Bras-9' es el material menos susceptible al ataque del nematodo después del 'Yangambi'. Sin embargo, numéricamente, ocupa la segunda posición de menor a mayor susceptibilidad para las variables número de nematodos por planta, número de nematodos por peso radical y valor de lesión radical.

El 'Bras-9' proviene del cruce entre *Musa* AAB subgrupo Pomé cv. 'Prata' y *Musa acuminata ssp. burmanicoides* AA tipo 'Calcuta 4' (Jaramillo, R. 1992. CATIE. Comunicación

personal). Zem *et al* (1981), concluyeron que el 'Prata' fue el peor hospedero para *Radopholus similis* comparado con *Musa* AAB cv. 'Mysore' y *Musa* AAA subgrupo Cavendish cv. 'Nanicao'. Este último presentó el menor grado de tolerancia. Por otra parte, el 'Bras-9' fue moderadamente resistente a *Mycosphaerella fijiensis* (Galindo *et al*, 1991) y el *Musa acuminata ssp. burmanicoides* AA tipo 'Calcuta 4' se clasificó como resistente al hongo. Estas características son importantes, puesto que un mismo cultivar reúne algún tipo de tolerancia a los dos principales problemas patológicos de los plátanos y los bananos en la zona. Además, el 'Prata' es el cultivar más explotado en Brasil, especialmente en las regiones norte y noreste del país (Alves, 1987). Pinochet (1988c) y Jaramillo (1988) insisten en que los esfuerzos en estudios de mejoramiento genético en musáceas deben estar dirigidos a la búsqueda de materiales, que posean resistencia a *Fusarium*, con tolerancia o resistencia a *Radopholus similis*, con buenas características agronómicas y un nivel aceptable de resistencia a la Sigatoka negra.

Blake (1966), describió los cambios histológicos provocados por la acción patogénica de *Radopholus similis* en raíces de *Musa*. En el presente experimento se observaron y corroboraron las alteraciones sufridas por los tejidos radicales.

Para observar los tejidos internos de la raíz, se realizaron cortes longitudinales y se tiñeron por medio de la técnica safranina-fast green (Anexo 4). Las fotografías aparecen en el Anexo 5. Cuando el nematodo invade las raíces, se ubica entre las células del parénquima cortical. El volumen del citoplasma de las células afectadas disminuye y el núcleo y el nucleolo aumentan de tamaño. Luego, las estructuras citadas anteriormente desaparecen, las paredes celulares se rompen y se forman cavidades a lo largo de los tejidos. Las células que revisten las cavidades o túneles y las células epidérmicas dañadas durante la invasión se necrosan.

## 5. CONCLUSIONES

### 5.1 Reproducción *in vitro* de *Radopholus similis*

De los materiales evaluados, la zanahoria es la mejor opción para multiplicar al nematodo, no solo porque favorece su reproducción, sino porque permanece por más tiempo en condiciones aceptables libre de contaminación.

Considero que la presencia o ausencia de agar en el medio es una decisión del investigador. En ambas situaciones el número de nematodos que se recobraron fue similar. En el primer caso se requiere más material y mayor manipulación para la preparación del medio. Esta última condición podría favorecer las posibilidades de contaminación. Sin embargo, el procedimiento permite la incorporación de un antibiótico. En el segundo caso, aumenta la cantidad de sustrato (secciones de zanahoria) que se necesita para compensar la humedad que suministra el agar y, por lo tanto, la deshidratación de los tejidos podría ser un factor limitante para la reproducción del patógeno. Por otro lado, la manipulación y el gasto de materiales de laboratorio bajo este último sistema son menores.

La papa, el camote, el ñame y el tiquisque, no deben ser utilizados para la multiplicación del nematodo debido a que: a) las probabilidades de pérdidas de los cultivos por

contaminación son altas y mucho mayores que en el caso de la zanahoria (el procedimiento de desinfección utilizado en este trabajo no es capaz de eliminar los contaminantes endógenos), b) los cultivos de nematodos que alcanzaron la fecha de evaluación (30 días después de la inoculación) sin contaminación aparente, no favorecieron la multiplicación del nematodo.

La tasa de incremento poblacional del nematodo en condiciones *in vitro*, es una característica útil para la identificación de patotipos.

## 5.2 Evaluación de germoplasma

El uso de plantas de cultivo de tejidos aclimatadas en el invernadero e inoculadas con 100 *Radopholus similis* a los 30 días después del trasplante, constituye una alternativa reproducible, sencilla y rápida para la evaluación de germoplasma de *Musa*. Permite aumentar el número de repeticiones y de cultivares a evaluar sin ocupar mucho espacio en el invernadero y el número de nematodos requerido es bajo. Aunque Pinochet (1988a), menciona que no es recomendable utilizar plantas provenientes de cultivo de tejidos para este tipo de evaluaciones, los resultados demuestran la factibilidad de esta metodología aunada a las ventajas comparativas que ofrece.

El comportamiento de los materiales está sustentado con lo que reporta la literatura y con algunas observaciones de campo. Las variables altura de la planta, peso fresco de la planta y de las raíces, número de nemátodos por planta y por peso de raíz y valor de lesión radical, permitieron definir una escala de susceptibilidad. El 'Yangambi' fue el cultivar menos susceptible, seguido por el 'Bras-9' y el 'Curraré'. Por el contrario, el cultivar más susceptible fue el 'Gran Enano'.

El 'Bras-9' es un material interesante puesto que es poco susceptible a la *Sigatoka* negra, además es posible que su descendencia del 'Prata' le ha conferido algún tipo de tolerancia a *Radopholus*.

Al incorporar esta metodología dentro de un esquema de mejoramiento genético de musáceas, donde se evalúan constantemente grandes cantidades de materiales, es más práctico y no por ello menos confiable, utilizar las variables número de nemátodos por gramo de raíz y el valor de lesión radical para caracterizar los cultivares. La primera ofrece una estimación de la capacidad del germoplasma como hospedero y corrige el error al comparar plantas que genéticamente presentan peso de raíz diferente. La segunda es quizá la prueba más confiable para demostrar,

a ese nivel, el poder patogénico del nematodo, y además, complementa la interpretación de la primera para establecer las conclusiones.

Los experimentos para evaluar cultivares en el invernadero, son el primer paso en el establecimiento de un programa de mejoramiento genético. El objetivo es identificar los materiales más promisorios dentro de un gran número de posibles fuentes de resistencia a una determinada plaga o enfermedad. De esta forma, el fitomejorador ahorra tiempo y recursos al utilizar, únicamente, los cultivares más prometedores.

## 6. RECOMENDACIONES

### 6.1 Reproducción *in vitro* de *Radopholus similis*

Para lograr resultados satisfactorios en la multiplicación del nematodo, se deben utilizar zanahorias recién cosechadas, bien formadas y sin golpes, además de seguir cuidadosamente el proceso de cultivo *in vitro* que se detalla en el Anexo 1. De esta forma, la contaminación se reduce casi por completo y los tejidos permanecen por un tiempo más prolongado en buenas condiciones.

Asimismo, se recomienda reproducir al nematodo *Pratylenchus coffeae* y estudiar su comportamiento *in vitro*. Según Pinochet (1988c), este nematodo junto con *Radopholus similis* son los más importantes en la zona.

### 6.2 Evaluación de germoplasma

Este tipo de experimento debería incluir, además del control susceptible (germoplasma del subgrupo Cavendish), el material con menor susceptibilidad que se conoce o sus derivados (*Musa* AA cv. 'Pisang Jari Buaya'). De esta forma, el germoplasma se pueden evaluar y ubicar dentro de la escala de susceptibilidad que delimitan los primeros. Además, se puede afinar la escala de valor de

lesión radical. En el presente experimento la misma presentó valores entre 0 (menos de 5% de la superficie radical dañada) y 4 (más del 75% de la superficie radical dañada). El 'Gran Enano' fue el material más susceptible con un valor de lesión radical de 1.17 (en general, los cultivares del subgrupo Cavendish se utilizan como testigos susceptibles). Esto quiere decir, que debido a la duración del experimento y a las características de la metodología empleada, la escala de valor de lesión radical se podría modificar y redefinir categorías entre los actuales valores de daño de 0 y 2.

Considerando la existencia de patotipos de *Radopholus similis* relacionados con las zonas geográficas (Pinochet, 1988c), se debe especificar y caracterizar la población de nematodos que se estudia. Una vez identificadas esas diferencias de patogenicidad, sería más recomendable utilizar el patotipo más agresivo para someter los materiales evaluados a una mayor presión de selección.

En las futuras evaluaciones de germoplasma, se debe incluir a *Pratylenchus coffeae* (en el caso de la situación de América Central y El Caribe), y evaluar su interacción con *Radopholus similis*.

Se recomienda a los institutos de investigación y a los organismos internacionales, que se insista sobre la necesidad de uniformizar las metodologías de evaluación intensiva de germoplasma de *Musa*. En la actualidad, los resultados que se encuentran en la literatura provienen de propuestas metodológicas diferentes. Es posible que esta situación propicie la obtención de resultados diferentes entre los mismos. La recomendación anterior se fundamenta en la necesidad que tienen los programas de mejoramiento de una metodología precoz, que utilice poco material para así ahorrar espacio, mano de obra y recursos y que a la vez sea reproducible y corresponda a las observaciones de campo.

De igual manera, es necesario desarrollar una metodología de campo para la evaluación de germoplasma de *Musa*. De esta forma, los resultados pueden ser comparados a los dos niveles (invernadero y campo) y corroborar el comportamiento de los cultivares evaluados.

## 7. LITERATURA CITADA

- ALVES, E. J. 1987. Aspectos de la producción de banano en Brasil. *In Memoria de la Reunión Regional de INIBAP para América Latina y El Caribe (1987, San José, Costa Rica)*. Editado por Ramiro Jaramillo y Nicolás Mateo. San José, Costa Rica, INIBAP. p. 27-51.
- ASSIS C., M. E.; FERRAZ, S. 1989. Multiplicação 'in vitro' de *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zaeae*, *Radopholus similis* e *Tylenchus spp.* em discos de cenoura. *Nematologia Brasileira (Bra.)* 13(1):31-37.
- \_\_\_\_\_; FERRAZ, S. 1990. Multiplicação de *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zaeae*, *Radopholus similis* e *Tylenchorhynchus sp.* em culturas monoxênicas em calos de alfalfa. *Nematologia Brasileira (Bra.)* 14(1):103-120.
- BARKER, K. R. 1988. Nematode culturing at North Carolina State University. *In Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio)*. [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, Cooperative State Research Service. p. 40-42.
- BLAKE, C. D. 1966. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus*. *Nematologica (EE. UU.)* 12:129-137.
- BLAVIGNAC, F. 1989. Contribution a la mise au point de test d'étude de la sensibilité des bananiers au nematode *Radopholus similis* (Cobb). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur ENSFA, IRFA-CIRAD, Montpellier, Francia. 39 p.
- BONCATO, A. A.; DAVIDE, R. G. 1980a. *Radopholus similis* on Cavendish Banana in Davao del Norte: I. Host range and relative distribution and density. *Philippine Agriculturist* 63(2):111-119.
- \_\_\_\_\_; DAVIDE, R. G. 1980b. *Radopholus similis* on Cavendish Banana in Davao del Norte: II. Culture and pathogenicity. *Philippine Agriculturist* 63(2):120-125.
- BRIDGE, J. 1988. Plant nematode pests of banana in East Africa with particular reference to Tanzania. *In Nematodes and the borer weevil in Bananas: proceedings of a workshop, Bujumbura, Burundi, 1987*. Montpellier, Francia, INIBAP. p. 35-39.

- BRODIE, B. B.; MAI, W. F.; SPIVEY, R. S.; KO, M. P. 1988. Culturing of phitonematodes at Cornell. *In* Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio). [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 57-71.
- BROWN, M. S.; VESSEY, C. J. 1985. Rearing of *Radopholus similis* on banana fruit callus. *Revue de Nématologie (Francia)* 8(2):188-189.
- CHAMPION, J. 1967. Notes et documents sur les bananiers et leur culture. Tome I Botanique et génétique des bananiers. Paris, Francia, IFAC. 214 p.
- CHITAMBAR, J. J.; RASKI, D. J. 1985. Life history of *Pratylenchus vulnus* on carrot discs. *Journal of Nematology (EE. UU.)* 17(2):235-236.
- DAVIDE, R. G. 1980. Influence of cultivars, age, soil texture and pH on *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis* in banana. *Plant Disease Reporter (EE. UU.)* 64(6):571-573.
- \_\_\_\_\_; MARASIGAN, L. Q. 1985. Yield loss assesement and evaluation of resistance to the nematodes: *Radopholus similis* Thorne and *Meloidogyne incognita* Chitwood. *The Philippine Agriculturist* 68(3):335-349.
- DROPKIN, V. H. 1980. Introduction to plant nematology. Jhon Zilley & Sons. EE. UU. 293 p.
- EDMUNDS, J. E. 1968. Nematodes associated with bananas in the Windsward Island. *Tropical Agriculture (Tri.)* 45(2):119-124.
- EDWARDS, D. I.; WEHUNT, E. J. 1971. Host range of *Radopholus similis* from banana areas of Central America with indications of additional races. *Plant Disease Reporter (EE. UU.)* 55:415-418.
- EINSENBACK, J. D. 1988. Virginia Tech root-knot nematode culture collection. *In* Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio). [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 13-19.
- FAO. 1991. Yearbook production. FAO Statistics Series No. 99. Roma, Italia. Vol. 44. 283 p.
- FIGUEROA, A. 1982. *Nematología*. ASBANA (C. R.) 6(17):8, 13, 17, 19.

- FUNDACION HONDUREÑA de investigación agrícola (FHIA). 1988. Programa Internacional de Mejoramiento Genético de Banano y Plátano. In Reporte FHIA 1986-1987. La Lima, Honduras. p. 17-24.
- GALINDO, J. J.; GONZALEZ, J. V.; ESCALANT, J. V.; JARAMILLO, R. 1991. Evaluación de la resistencia a *Mycosphaerella fijiensis* de germoplasma de *Musa*. In Programa de Mejoramiento Genético de Cultivos Tropicales (Informe Anual). CATIE. s. p.
- GOMEZ, T. J. 1983. Nematodos fitoparásitos y su importancia económica en plantas de plátano en Colombia. In Seminario sobre Plátano (1, 1983, Manizales, Col.). Memorias. Manizales, Universidad de Caldas. p. 80-96.
- GONZALEZ, C. 1971. Los nematodos. Agroindustria (C. R.) 1(11):28-29.
- GOWEN, S. R. 1979. Some considerations of problems associated with the nematode pests of banana. Nematropica (EE. UU.) 9(1):79-91.
- \_\_\_\_\_. 1976. Varietal responses and prospect for breeding nematode resistant banana varieties. Nematropica (EE. UU.) 6(2):45-49.
- HUETTEL, R. N. 1987. Cultivo en discos de zanahoria. In Fitonematología. Manual de Laboratorio. Ed. por B.M. Zuckerman, W. F. Mai y M. B. Harrison. Trad. por N. Marbán-Mendoza. Turrialba, C. R., CATIE. p. 171-173.
- \_\_\_\_\_; DICKSON, D. W. 1981. Parthenogenesis in the two races of *Radopholus similis* from Florida. Journal of Nematology (EE.UU.) 13:13-15.
- HUTTON, D. G. 1978. Influence of rainfall on some plantain nematodes in Jamaica. Nematropica (EE. UU.) 8(2):34-39.
- INSERRA, R. N.; O'BANNON, J. H. 1975. Rearing migratory endoparasitic nematodes in citrus callus and roots produced from citrus leaves. Journal of Nematology (EE. UU.) 7:261-263.
- IRIZARRY, H.; RIVERA, E.; RODRIGUEZ, J. A.; BEAUCHAMP, I DE CALONY Y DRAMAS, D. 1988. The lacknau plantain: a high yielding cultivar with field resistance to the corm weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar). Journal Agriculture of the University of Puerto Rico 72(3):353-363.

- JARAMILLO, R. 1988. Comments on nematological research on *Musa* spp. in Latin America and the Caribbean. In *Nematodes and the borer weevil in Bananas: proceedings of a workshop, Bujumbura, Burundi, 1987.* Montpellier, Francia, INIBAP. p. 41-46.
- \_\_\_\_\_; FIGUEROA, A. 1974. Análisis armónico de la densidad de población de *Radopholus similis* (Cobb) Thorne en la zona bananera de Guápiles, Costa Rica. *Turrialba (C. R.)* 24(4):402-407.
- JIMENEZ, M. F. 1963. Estudio de los nematodos parásitos del banano en la variedad Giant Cavendish (*Musa cavendishii* Lambert) y de sus poblaciones. Tesis Ing. Agr. San José, C. R., Universidad de Costa Rica. 124 p.
- \_\_\_\_\_. 1972. Fluctuaciones anuales de la población de *Radopholus similis* en la zona bananera de Pococi, C. R. *Nematropica (EE. UU.)* 2(2):33-40.
- LEON, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. 2 ed. San José, C. R., IICA. 445 p.
- LEWIS, S. A.; HARSHMAN, D. C. 1988. Nematode culturing at Clemson University. In *Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio).* [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 30-35.
- LOPEZ, J. A. 1976. Los nematodos parásitos del cultivo del banano, su ecología y control. *Augura (Colombia)* 2(5):4-16.
- LOPEZ, R. 1980. Determinación de los nematodos fitoparásitos asociados al plátano (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*, AAB) en Rio Frio. *Agronomía Costarricense (C. R.)* 4(2):143-147.
- LORIDAT, P. 1989. Etude de la microflore fongique et des nématodes associés aux nécroses de l'appareil souterrain du bananier en Martinique. Mise en évidence du pouvoir pathogène du genre *Cylindrocladium*. *Fruits (Francia)* 44(11):587-598.
- LOWNSBERRY, B. F.; HUANG, C. S.; JOHNSON, R. N. 1967. Tissue culture and maintenance of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus*. *Nematologica (EE. UU.)* 13:390-394.
- LUC, M.; VILARDEBO, A. 1961. Les nématodes associés aux bananiers cultivés dans l'Ouest Africain. I. Espèces parasites. Dommages causés. *Fruits (Francia)* 16(5):205-219.

- MAI, W.; RIEDEL, R. M.; RABATIN, S. C. 1988. Introduction. In Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio). [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 3-4.
- MATEILLE, T. 1992. Contribution à l'étude des relations hôte-parasite entre le bananier *Musa acuminata* (groupe 'AAA') et trois nématodes phytophages: *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus* et *Hoplolaimus pararobustus* (Tylenchida). Paris, Francia, ORSTOM. 251 p.
- MOODY, E. H.; LOWNSBERY, B. F.; AHMED, J. M. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. Journal of Nematology (EE. UU.) 5(3):225-226.
- O'BANNON, J. H. 1977. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. Journal of Nematology (EE. UU.) 9(1):16-25.
- \_\_\_\_\_; TAYLOR, A. L. 1968. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. Phytopathology 58: 385.
- PEACHEY, J. E. 1969. Nematodes of tropical crops. Inglaterra, Commonwealth Agricultural Bureaux. 355 p.
- PEREZ, J. A.; VALDES, S.; MOLA, G. 1986. Comportamiento varietal del plátano (*Musa sp.*) al ataque de los nematodos *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae*. Ciencia y Técnica en la Agricultura. Protección de plantas (Cuba) 9(4):13-21.
- PESSOA, C. O. 1973. Estudio evaluativo de cuatro nematicidas sistémicos en el tratamiento de rizomas de banano (*Musa acuminata* AAA). Tesis Ing. Agr. San José, C. R., Universidad de Costa Rica. 59 p.
- PINOCHET, J. 1979. Comparasion of four isolates of *Radopholus similis* from Central America on Valery bananas. Nematropica (EE. UU.) 9:40-43.
- \_\_\_\_\_. 1986. A note on nematode control practices on bananas in Central America. Nematropica (EE. UU.) 16(2):197-203.
- \_\_\_\_\_. 1987. La variabilidad de *Radopholus similis* en banano en las diferentes regiones productoras del mundo. In Reunión ACORBAT (7, 1985, San José, Costa Rica). Memorias. Ed. por José J. Galindo y Ramiro Jaramillo. Turrialba, C. R., CATIE. p. 175-182. (Serie Técnica. Boletín Técnico No. 121).

- \_\_\_\_\_. 1988a. A method for screening bananas and plantains to lesion forming nematodes. *In* Nematodes and the borer weevil in Bananas: proceedings of a workshop, Bujumbura, Burundi, 1987. Montpellier, Francia, INIBAP. p. 62-65.
- \_\_\_\_\_. 1988b. Comments on the difficulty in breeding bananas and plantains for resistance to nematodes. *Revue de Nematologie* (Francia) 11(1):3-5.
- \_\_\_\_\_. 1988c. Nematodes problems in *Musa* spp.: Pathotypes of *Radopholus similis* and breeding for resistance. *In* Nematodes and the borer weevil in Bananas: proceedings of a workshop, Bujumbura, Burundi, 1987. Montpellier, Francia, INIBAP. p. 66-70.
- \_\_\_\_\_; ROWE, P. R. 1978. Reaction of two banana cultivars to three different nematodes. *Plant Disease Reporter* (EE. UU.) 62(8):727-729.
- \_\_\_\_\_; ROWE, P. R. 1979. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. *Nematropica* (EE. UU.) 9(1):76-78.
- \_\_\_\_\_; STOVER, R. H. 1980. Fungi in lesions caused by burrowing nematodes on bananas and their root and rhizome rotting potential. *Tropical Agriculture* (Tri.) 57(3):227-232.
- QUENEHERVE, P. 1988. Problems and outlook on nematological research on *Musa* sp. in Côte d'Ivoire. *In* Nematodes and the borer weevil in Bananas: proceedings of a workshop, Bujumbura, Burundi, 1987. Montpellier, Francia, INIBAP. p. 71-74.
- RIEDEL, R. M.; FOSTER, J. C.; MAI, W. F. 1973. A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Nematology* (EE. UU.) 5(1):71-72.
- RIVAS, X.; ROMAN, J. 1985. Oogenesis and reproduction of a *Radopholus similis* population from Puerto Rico. *Nematropica* 15:19-25.
- ROMAN, J. 1978. Nematodos del bananero y el platanero. *In* Fitonematología Tropical. Mayaguez, P.R. Estación Experimental Agrícola Río Piedras. p. 93-111.
- \_\_\_\_\_; RIVAS, X.; RODRIGUEZ, J.; DRAMAS, D. 1975. The effect of nematicide treatment on yield and production of ratoon crops in plantains. *Nematropica* (EE. UU.) 5(2):28.

- ROWE, P. R. 1988. New genetics combinations in breeding bananas and plantains resistant to disease. In Identification of genetic diversity in the genus *Musa*: proceedings of an international workshop, Los Baños, Philippines, 1988. Ed. by R. L. Jarret. Montpellier, Francia, INIBAP. p. 114-123.
- \_\_\_\_\_; RICHARDSON, D. L. 1975. Breedings bananas for disease resistance, fruit quality and yield. Boletín No. 2. La Lima, Honduras, SIATSA. 42 p.
- SABATINI, C. 1991. Etude de la sensibilité des bananiers a *Radopholus similis* (Cobb, 1913) (Nematoda Pratylenchidae) Contribution a la mise au point d'un test de criblage variétal et approche del réponses physiologiques de la plante aux attaques de ce nématode. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur ENSFA, IRFA-CIRAD, Montpellier, Francia. 37 p.
- SANDOVAL, J. 1991. Micropropagación de plátano y banano (*Musa AAB, AAA*) en el CATIE. Informe Técnico No. 186. Turrialba, C. R., CATIE. 24 p.
- SARAH, J. L. 1990. Les nématodes et le parasitisme des racines de bananiers. Fruits Numéro spécial, Spécial Bananas IRFA. p. 60-67
- \_\_\_\_\_; BOISSEAU, M.; BLAVIGNAC, F.; SABATINI, C. 1992. A laboratory technique for screening *Musa spp.* germplasm for resistance to nematodes. In Reunión Anual de Nematólogos de los Trópicos Americanos (24., 1992, Islas Canarias). 1992. Programas y Resúmenes. Islas Canarias, España. 47 p.
- SATTLER Z., R. 1990. Análisis del crecimiento y de la productividad de tres cultivares de musáceas de los grupos AAA, AAB y ABB desarrollados en el trópico húmedo de Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Turrialba, C. R., CATIE. 168 p.
- SESHARDI, A. R. 1964. Investigations of the biology and life cycle of *Criconemoides xenoplax* Raski, 1952 (Nematoda:Criconematidae). Nematologica (EE. UU.) 10:540-562.
- SHEPHERD, K. 1968. Banana breeding in the West Indies. PANS (G. B.) 14(4):370-379.
- SIMMONDS, N. W. 1962. The evolution of the bananas. New York, John Willey & Sons, Inc. 170 p.
- SOTO, M. 1985. Bananos: cultivo y comercialización. San José, C. R., LIL. 627 p.

- STARR, J. L. 1988. Maintenance of nematode culture at Texas A & M. University. *In* Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio). [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 43-47.
- STOVER, R. H. Y BUDDENHAGEN, I. W. 1986. Banana breeding: polyploidy, disease resistance and productivity. *Fruits* (Francia) 41(3):175-191.
- \_\_\_\_\_ ; FIELDING, M. J. 1958. Nematodes associated with root injury of *Musa* spp. in Honduras banana soils. *Plant Disease Report* (EE. UU.) 42(8):938-940.
- \_\_\_\_\_ ; SIMMONDS, N. W. 1987. Bananas. 3 ed. G. B., Longman Scientific & Technical. 468 p.
- TARTE, R.; Pinochet, J.; Gabrielli, C.; Ventura, O. 1981. Differences in population increase, host preferences and morphological variants among isolates of banana race of *Radopholus similis*. *Nematropica* (EE. UU.) 11(1):43-52.
- \_\_\_\_\_ ; PINOCHET, J. 1981. Problemas nematológicos del Banano. *Contribuciones a su conocimiento y combate*. Panamá, UPEB. 32 p.
- TAYLOR, A. L. 1968. *Introducción a la nematología vegetal aplicada*. Roma, FAO. 131 p.
- THORNE, G. 1961. *Principles of Nematology*. New York, McGraw-Hill. 553 p.
- UNION CARBIDE AGRICULTURAL PRODUCTS COMPANY (EE.UU). 1986. *Parasitic nematodes of bananas, citrus, coffee, grapes and tobacco*. North Carolina, EE.UU. 71 p.
- UPEB. 1979a. Evaluación del daño ocasionado por el nematodo *Radopholus similis* en los cultivares de banano Gran Nain y Valery. *In* Programa Coordinado de Investigaciones: proyectos. Panamá. p 18-25.
- \_\_\_\_\_. 1979b. Reconocimiento e identificación de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo del plátano. *In* Programa Coordinado de Investigaciones: proyectos. Panamá. p 44-53.
- VALMAYOR, R. V.; RIVERA, F. N.; LOMULJO, F. M. 1981. Philippine banana cultivar names and synonyms. *Bulletin No. 3*, Institute of Plant Breeding University of the Philippines at Los Baños, Philippines. 16 p.

- VILARDEBO, A. 1984. Problèmes scientifiques posés par *Radopholus similis* et *Cosmopolites sordidus* en cultures bananières des zones francophones de production. *Fruits (Francia)* 39(4):227-233.
- WEHUNT, E. J.; HUTCHINSON, D. J. Y EDWARDS, D. I. 1965. Reaction of *Musa acuminata* to *Radopholus similis*. *Phytopathology (EE. UU.)* 55:1082.
- \_\_\_\_\_ ; HUTCHISON, D. J.; EDWARDS, D. I. 1978. Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Journal of Nematology (EE. UU.)* 10 (4): 368-370.
- \_\_\_\_\_ ; EDWARDS, E. I. 1968. *Radopholus similis* and other species on bananas. In *Tropical Nematology*. Ed. by Grover C. Smart, Jr. and V. G. Perry. Florida, Gainesville, Universidad de Florida Press. p. 1-19.
- WESTCOTT III, S. W.. 1988. *In vitro* culture of *Criconebella xenoplax*. In *Conference on Nematodes Culturing (1988, Worthington, Ohio)*. [Proceedings]. Edited by R. M. Riedel, S. C. Rabatin, T. A. Wheeler. Worthington, Ohio, CSRS. p. 20-25.
- ZEM, A. C.; ALVES, E. J.; LORDELLO E., L. G.; MONTEIRO, A. R. 1981. Susceptibilidade das bananeiras Prata e Mysore aos nematóides *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus*. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Bra.)* 38:569-578.
- ZUCKERMAN M., B.; JEYAPRAKASH, J. 1985. Recent advances in plant nematode gnotobiology. In *Fitonematología Avanzada I*. Ed. por Nahúm Marbán Mendoza e Iván J. Thomason. México, Colegio de Postgraduados. p. 67-89.

8. ANEXOS

## ANEXO 1

### CULTIVO MONOXENICO DE RADOPHOLUS SIMILIS SOBRE ZANAHORIAS (el procedimiento para los otros cultivos es el mismo)

#### Preparación de los frascos:

Se autoclavó una solución de agar al 1% y se adicionó 500 ppm de Sulfato de Estreptomicina (Streptomycin sulfate (streptomycin sesquisulfate) de la Sigma Chemical Company), cuando la solución estuvo a una temperatura aproximada de 50 °C (lo anterior se presenta en el momento en que el recipiente con el agar se puede sujetar con las manos). El antibiótico se diluyó en agua destilada y se agregó al agar por medio de una jeringa desechable y un filtro Millipore Millex-GS Non-pyrogenic sterile 0,22 µm. Se depositaron 20 ml de la solución en frascos de vidrio con las siguientes dimensiones: 7.0 cm de altura, 5.5 cm de diámetro y un volumen aproximado de 120 ml (en estos frascos se comercializan los productos 'Gerber').

#### Preparación de las zanahorias:

Las zanahorias recién cosechadas, sin lesiones ni deformaciones, se sumergieron en alcohol a 95° por tres minutos (se introdujo un tenedor en el extremo proximal de la zanahoria para facilitar su manejo). Se flamearon hasta que el alcohol se consumió, se les eliminó el extremo distal y la cáscara utilizando un pelador de verduras, y se cortaron en porciones o discos de 0.5 a 1.0 cm de espesor. Se depositaron tres discos por frasco. En el caso de los cultivos de zanahoria sin agar, se colocaron cuatro discos por frasco para aumentar la humedad en el sistema. Los frascos se sellaron con parafilm para evitar la deshidratación y la entrada de organismos y se almacenaron en la oscuridad dentro de una incubadora y a una temperatura que varió entre 26 y 28 °C. Dos semanas después, los cultivos libres de contaminación fueron inoculados.

#### Preparación de los nematodos:

Los nematodos provenientes de raíces de banano y/o de cultivos monoxénicos fueron axenizados de la siguiente manera (el procedimiento se resume en la Figura 1A):

Se introdujeron en microtubos (tubos de microcentrifugación Eppendorf de 1.5 ml) con agua estéril y se centrifugaron por tres minutos a 2500 revoluciones por minuto. Se eliminó el sobrenadante y se adicionó Cloruro de Mercurio (Mercury (ic) Chloride (crystal) de la Fisher

Scientific Company) al 0.01%. Después de centrifugar bajo las mismas condiciones citadas, se eliminó el sobrenadante y se adicionó agua estéril repitiendo la centrifugación. Se redujo el volumen de agua, se agregó Sulfato de Estreptomycin a razón de 2 g/l y se centrifugó de la misma manera. Se eliminó el sobrenadante y se lavó dos veces con agua estéril, repitiendo las centrifugaciones entre cada lavado. Después de agregar el agua y cada solución y antes de centrifugar, se agitó el microtubo para homogenizar el contenido.

#### Inoculación:

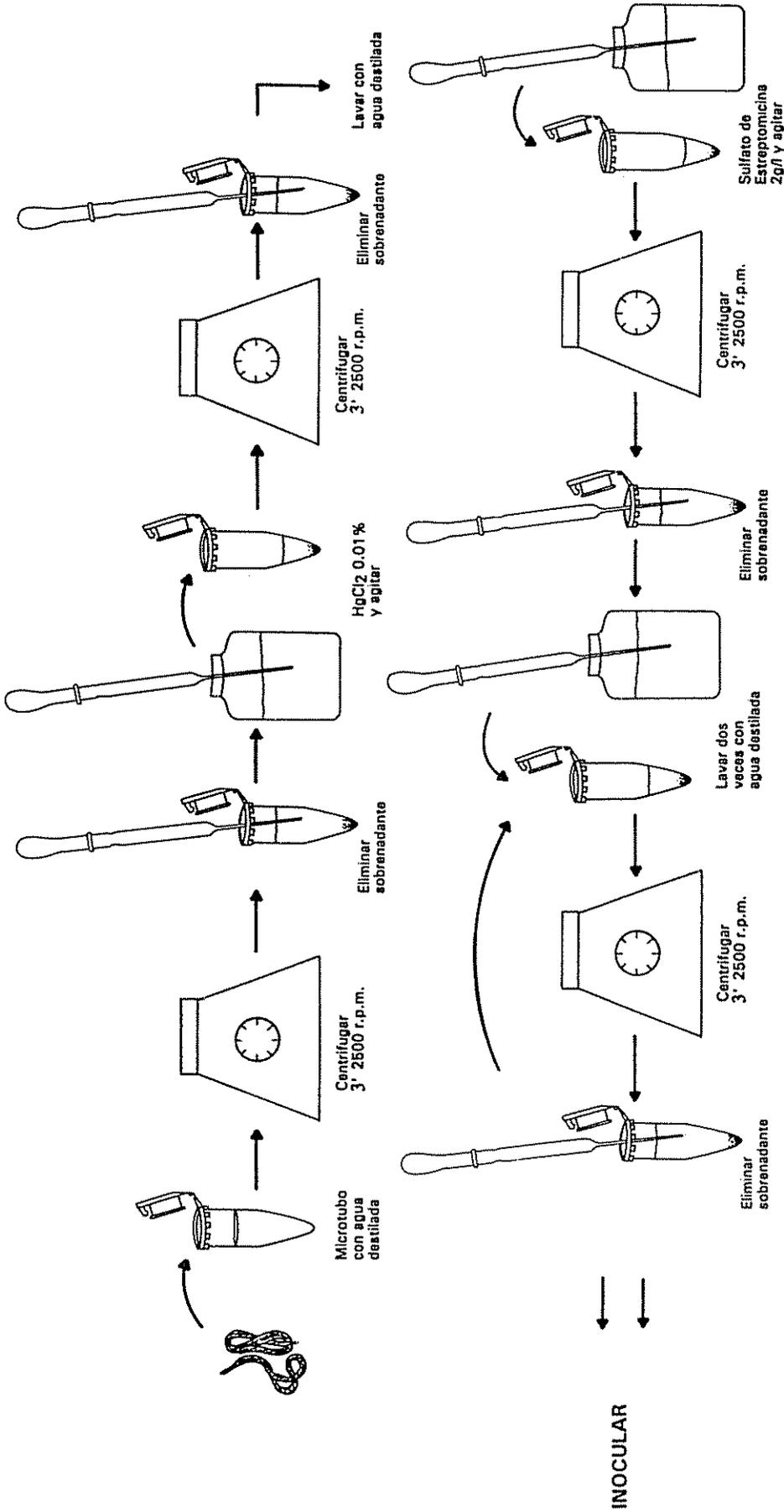
Utilizando nematodos provenientes de los cultivos monoxénicos, se realizaron las diluciones y los conteos necesarios para alcanzar un nivel de inóculo constante de acuerdo a las necesidades metodológicas.

La inoculación se realizó con una pipeta en la base del pseudotallo y el instrumento se lavó con agua entre cada inoculación. Se verificó el nivel de inóculo entre cada grupo de cuatro plantas inoculadas. En el caso de las pruebas de laboratorio el inóculo se colocó sobre los discos de zanahoria y los otros sustratos. Previo a la inoculación, los nematodos se observaron al microscopio para verificar su pureza, cantidad y actividad. Se inocularon 100 *Radopholus similis* sobre las plantas de *Musa* y 50 sobre los discos de zanahoria y de los otros cultivos. El volumen de inoculación varió entre 200 y 250  $\mu$ l y entre 100 y 150  $\mu$ l para los experimentos de invernadero y laboratorio, respectivamente.

Cuando fue posible, las operaciones se realizaron dentro de una cámara de flujo laminar y cerca de un mechero.

#### Incubación:

Los cultivos sellados con parafilm se mantuvieron en la oscuridad y a una temperatura que varió entre 26 y 28° C por 30 días.



\*Exceptuando la centrifugación, los demás pasos se realizan en una cámara de flujo laminar cerca de una fuente de calor.

Figura 1A. Procedimiento para la desinfección de Radopholus similis

## ANEXO 2

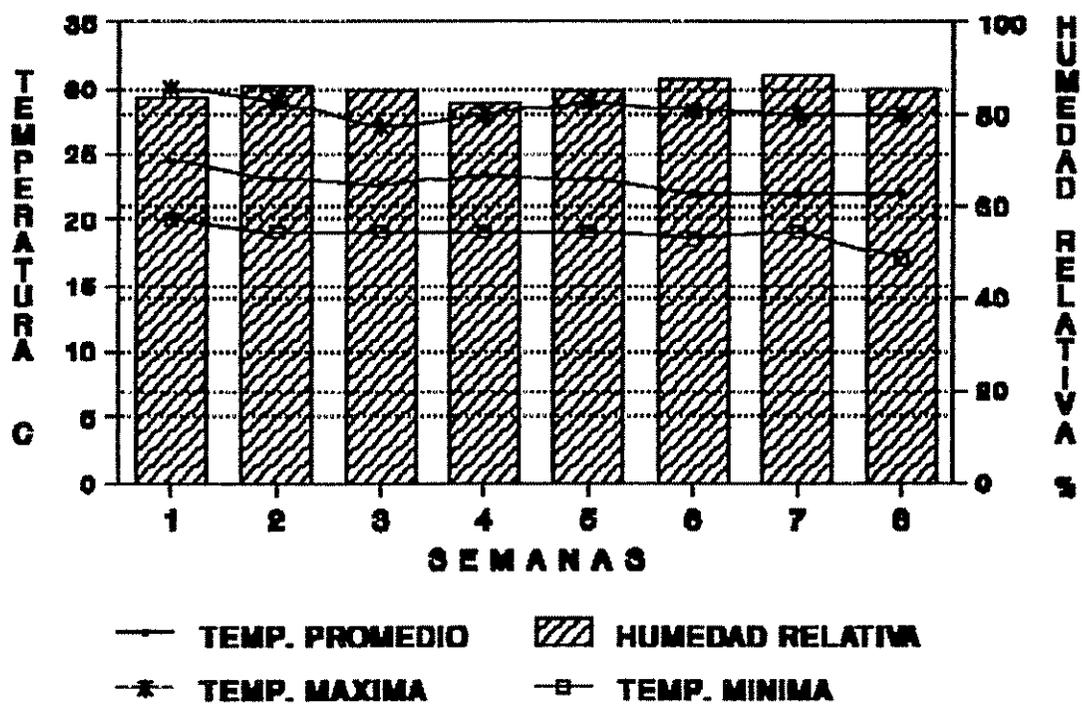


Figura 2A. Humedad relativa, temperatura promedio, mínima y máxima durante el periodo experimental

### ANEXO 3

#### TECNICA DE FLOTACION Y CENTRIFUGACION CON SOLUCION AZUCARADA PARA LA EXTRACCION DE NEMATODOS

Se tomaron las raices de la planta y se lavaron con agua corriente. Se cortaron en pedazos de 0.5 a 1.0 cm, se homogenizó y se tomó una muestra de 25 g para ser procesada.

La muestra se licuó durante 30 segundos con 100 ml de agua. Se colocó un tamiz de 100 sobre uno de 400 y se vertió la suspensión. Se hicieron lavados sobre el tamiz de 100 y el residuo que quedó en el de 400 se pasó a tubos de centrifuga. Después de 5 minutos de centrifugación a 2000 rpm se eliminó el sobrenadante y se adicionó una solución de azúcar (471 g de azúcar/l de agua). Se centrifugó durante un minuto utilizando las mismas revoluciones por minuto. El sobrenadante se vertió sobre una criba de 400 y se lavó por debajo de la misma para eliminar el exceso de azúcar.

El residuo se colocó en un recipiente con un volumen de agua de 25 ml y se tomó una alicuota de 1 ml para determinar el número de nematodos.

## ANEXO 4

**METODOLOGIA SAFRANINA-FAST GREEN PARA EL MONTAJE PERMANENTE  
DE RAICES**

De las plantas previamente inoculadas con *Radophalus similis*, se seleccionaron raíces con síntomas y se lavaron cuidadosamente con agua corriente. Se cortaron en secciones de 5 mm y se introdujeron en FAA (formalina, alcohol 60° y ácido acético). Después de 48 horas se colocaron en las soluciones que se especifican a continuación:

SUSTANCIA	CONCENTRACION	TIEMPO (horas)
ALCOHOL BUTILICO TERCIARIO (ABT)	50%	2
ABT	70%	toda la noche
ABT	80%	2
ABT	85%	1
ABT	90%	1
ABT	95%	1
ABT	100%	toda la noche
ABT	100%	2 a 4
ABT	puro	2 a 4
ABT+PARAFINA LIQUIDA	1:1	1
PARAFINA PURA (sucia)	----	3
PARAFINA PURA	----	2
PARAFINA PURA	----	2

Una vez que las secciones de raíz fueron infiltradas en parafina, se realizaron cortes a 12 micras utilizando un micrótopo de rotación. Las secciones se montaron en

portaobjetos y se tiñeron. La tinción se realizó por medio de la técnica de la safranina-fast green, la cual se detalla a continuación:

---

SUSTANCIA	TIEMPO
XILENO PURO	10 m
XILENO PURO	10 m
XILENO-ALCOHOL	5 m
ALCOHOL ABSOLUTO	3 m
ALCOHOL 95°	3 m
ALCOHOL 70°	3 m
SAFRANINA	30 m
AGUA	5 seg
ALCOHOL 70°	3 m
ALCOHOL 90°	3 m
ALCOHOL 95°	3 m
ALCOHOL 100°	3 m
FAST GREEN	15 seg
ALCOHOL 100°	3 m
XILENO-ALCOHOL	3 m
XILENO	5 m

---

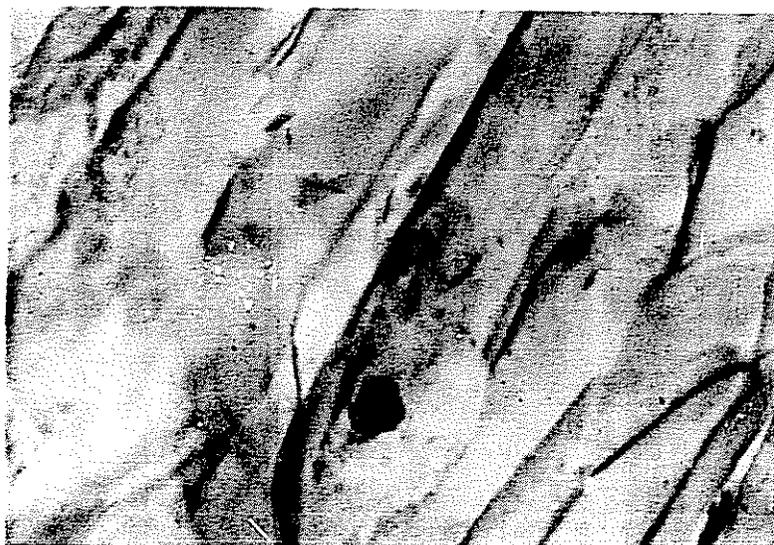
\* m: minutos  
 seg: segundos

ANEXO 5

3A



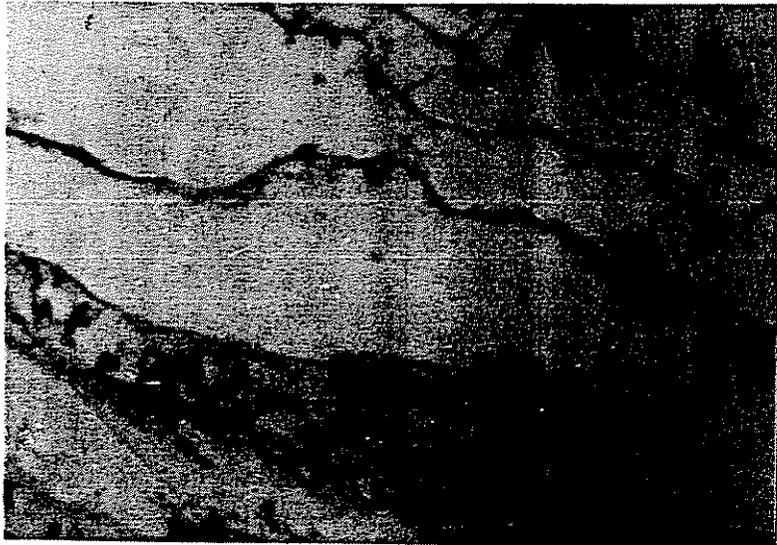
4A



5A  
(a)



5A  
(b)



## ANEXO 6

Cuadro 1A. Análisis de varianza del número de nematodos en diferentes sustratos

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
SUSTRATOS	5	26.670	5.334	1559.626	0.0001
ERROR	24	0.082	0.003		
TOTAL	29	26.752			

C. V. = 3.40%

Cuadro 2A. Análisis de varianza de la altura de la planta

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR*	3	10.872	3.624	0.6237	
TRATAMIENTO	1	81.955	81.955	14.1040	0.0003
INTERACCION	3	5.458	1.819	0.3131	
ERROR	88	511.349	5.811		
TOTAL	95	609.634			

C. V. = 12.01%

\* para efectos de la presentación del cuadro, se anota como fuente de variación el cultivar, sin embargo, se evaluaron tres cultivares y un híbrido.

Cuadro 3A. Análisis de varianza del peso fresco de la planta.

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	41.658	13.886	0.2325	
TRATAMIENTO	1	775.775	775.775	12.9865	0.0005
INTERACCION	3	282.579	94.193	1.5768	0.2007
ERROR	88	5256.844	59.737		
TOTAL	95	6356.856			
C. V. = 15.26%					

Cuadro 4A. Análisis de varianza del peso fresco de las raices.

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	166.365	55.455	1.8639	0.1416
TRATAMIENTO	1	1357.510	1357.510	45.6262	0.0001
INTERACCION	3	23.115	7.705	0.2590	
ERROR	88	2618.250	29.753		
TOTAL	95	4165.240			
C. V. = 22.60%					

Cuadro 5A. Análisis de varianza del número de raíces por planta

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	10.115	3.372	1.7461	0.1634
TRATAMIENTO	1	4.594	4.594	2.3791	0.1266
INTERACCION	3	11.615	3.872	2.0051	0.1191
ERROR	88	109.917	1.931		
TOTAL	95	196.240			

C. V. = 9.49%

Cuadro 6A. Análisis de varianza del número de nematodos por planta

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	7.1275	2.3758	83.05	0.0001
ERROR	44	1.2587	0.0286		
TOTAL	47	8.3863			

C. V. = 2.11%

Cuadro 7A. Análisis de varianza del número de nematodos por peso de raíz

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	9.0084	3.0028	27.83	0.0001
ERROR	44	4.7468	0.1078		
TOTAL	47	13.7552			

C. V. = 6.51%

Cuadro 8A. Análisis de varianza del valor de lesión radical

FUENTE DE VARIACION	G. L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR F	P > F
CULTIVAR	3	1.563	0.521	3.313	0.0285
ERROR	44	6.917	0.157		
TOTAL	47	8.479			

C. V. = 44.26%