



Informe anual 2021

Asamblea 2022

Dirección de CENIBANANO-AUGURA

Sebastian Zapata Henao, M.Sc

Investigadores CENIBANANO-AUGURA

Andrés Mauricio Pinzón Núñez, Ph.D., Fitosanidad (desde marzo 2021)

Mónica Patricia David Gonzalez, M.Sc., Fitosanidad (desde abril 2021)

Vicente Rey Valenzuela, M.Sc., Fitosanidad

Luz Edith Argel Roldán, M.Sc., Fitosanidad

Helena Bornacelly Horta, M.Sc., Fitosanidad (Magdalena)

Angela Y. Benavides Martínez, M.Sc., Entomología

Diego Alejandro Londoño Puerta, M.Sc., Fisiología y nutrición vegetal

Eliécer David Díaz Almanza, M.Sc., Agroclimatología

María Luisa Anaya Gómez, Suelos y agricultura de precisión (hasta octubre 2021)

Auxiliares de investigación y asistencia técnica CENIBANANO-AUGURA

Jackson Danilo Osorio Cardona, Suelos y agricultura de precisión

Juan José Pérez Zapata, Suelos y agricultura de precisión

Gloria Marcela Pérez Ochoa, Fitosanidad

Franklin Palacios Zapata, Agroclimatología

Rogelio Hurtado Londoño, Asistencia Técnica, Transferencia y Agrofisiología

Álvaro Martínez T., Asistencia Técnica, Transferencia y Fitosanidad (Magdalena)

Diego Felipe Feria Gómez, Fisiología y nutrición vegetal (desde agosto 2021)

Carlos Alberto Vicente Arenas, Entomología (desde agosto 2021)

Laura Delgado Bejarano, Suelos y agricultura de precisión (desde octubre 2021)

Wilson Alberto Solís Tuberquia, Suelos y agricultura de precisión (hasta julio 2021)

Yina Julieth Sánchez Cabadía, Fisiología y nutrición vegetal (hasta marzo 2021)

Leidy Johana Botero Agámez, Agroclimatología (hasta octubre 2021)

Auxiliares de campo, laboratorio y operarios de CENIBANANO-AUGURA

Alba Rosa Martínez Martínez, Fitosanidad

Yuscelis Martínez Molina, Fitosanidad

Jhon Jairo Herrera Aristizábal, Fitosanidad

Jhojan Reinel Vargas Zuleta, Fitosanidad

Gustavo Mena Palacio, Fitosanidad (q.e.p.d) (hasta abril 2021)

Luis Manuel Arango Hoyos, Fitosanidad (desde agosto 2021)

Candelario Méndez Pérez, Suelos y agricultura de precisión

Juliana Morelos Vargas, Suelos y agricultura de precisión

Jhimmer Andrés Navia Villada, Suelos y agricultura de precisión

Juan Fernando Vitar Monsalve, Suelos y agricultura de precisión

León Ochoa Vásquez, Suelos y agricultura de precisión

Juber Adrián Díaz Gil, Suelos y agricultura de precisión

Estudiantes

Laura Arango Palacio, Pregrado, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid
Luisa Fernanda Pérez Aguirre, Pregrado, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid
Daniel Felipe Ospina Galeano, Pregrado, Universidad Nacional de Colombia
Diego Alexander Calle Zuleta, Pregrado, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid
Yenny Paola Restrepo Restrepo, Pregrado, Universidad de Antioquia
Daniel Osorio Giraldo, Pregrado, Universidad de Antioquia
Diana Henao Ochoa, Magister, Universidad Nacional de Colombia
María del Mar Vásquez Gutiérrez, Magister, Universidad Nacional de Colombia
Flor Yuranny Canacuan Melo, Doctorado, Universidad Nacional de Colombia
Harold Alexander Vargas Hoyos, PostDoctorado, Universidad de Antioquia
Juan Carlos Marín Ortiz, PostDoctorado, Universidad Nacional de Colombia

Investigadores externos y Asistentes de Investigación contratistas

Héctor Alejandro Rodríguez Cabal, Ph.D., Corporación para Investigaciones Biológicas
Javier Mauricio Torres Bonilla, Ph.D., Corporación para Investigaciones Biológicas
Isabel Cristina Calle, M.Sc., Corporación para Investigaciones Biológicas
Liuda Sepúlveda Arango, M.Sc. Universidad de Antioquia
Raquel Juliana Romo Buchelly, M.Sc. Universidad de Antioquia
Alba Yineeth Mosquera, Profesional, Universidad de Antioquia
Cristhian David Grisales, Profesional, Universidad de Antioquia
María Alejandra Villamizar Monsalve, Profesional, Universidad de Antioquia

Docentes y colaboradores externos

Valeska Villegas, Ph.D, Docente Universidad EAFIT
Oscar de Jesús Córdoba Gaona, Ph.D, Docente Universidad Nacional de Colombia
Lilliana María Hoyos Carvajal, Ph.D, Docente Universidad Nacional de Colombia
Verónica Botero Fernández, Ph.D, Docente Universidad Nacional de Colombia
Rafael Arango, Ph.D, Docente Universidad Nacional de Colombia
Profesor Juan Gonzalo Morales, Ph.D, Docente Universidad Nacional de Colombia
Lucia Atehortúa, Ph.D, Docente Universidad de Antioquia
Juan Esteban Pérez Jaramillo, Ph.D, Docente Universidad de Antioquia
Jairo Camilo Quijano, Ph.D, Docente Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid
Luis Fernando Patiño, M.Sc, Docente Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid

Comité Técnico de CENIBANANO

Carlos Aníbal Trujillo Gómez, Gerente Grupo Agrosiete
Ignacio Jiménez Cadavid, Gerente Caaisa
Julio César Gutiérrez, Consultor Técnico Grupo Santamaría
Douglas Erminsu Abaunza Ayala, Jefe de Agricultura C.I. Banacol
Carlos Mario Betancur Tirado, Gerente Cibeles S.A.
Juan Esteban Álvarez Bermúdez, Gerente Grupo 20
Fabián Felipe Fonseca Mercado, Gerente de Productividad C.I. UNIBAN
Gustavo Silva Vanegas, Gerente General C.I. BANAFRUT (hasta septiembre 2021)
José Fernando Jaramillo, Gerente de Operaciones C.I. BANAFRUT (desde octubre 2021)
Emerson Aguirre Medina, Presidente AUGURA
Gabriel Jaime Elejalde Gaviria, Director Regional Urabá AUGURA
Sebastian Zapata Henao, Director de CENIBANANO AUGURA

Compilación y edición del Informe

Sebastian Zapata Henao, Director de CENIBANANO

Tabla de contenidos

1. Línea de investigación en fitosanidad

6

1.1. Sensibilidad *in vitro* de *Pseudocercospora Fijjensis* a los fungicidas en Urabá en el año 2021

7

1.2. Efecto de superposición de programas químicos de manejo de Sigatoka Negra sobre la enfermedad y su agente causal

21

1.3. Servicio de sanidad radicular en la zona de Urabá durante el año 2021

41

1.4. Evaluación *in vitro* de desinfectantes a base de amonio cuaternario como mecanismo de prevención de *Fusarium oxysporum* f. Sp *Cubense* raza 4 tropical

53

1.5. Evaluación del efecto de la luz UV-C como alternativa al manejo de pudrición de corona en Banano Cavendish

84

1.6. Factores de riesgo asociados a la introducción de *Fusarium oxysporum* f. Sp raza 4 tropical

103

1.7. Monitoreo de trampas para *Ceramidia Viridis* en campo experimental de Augura

113

1.8. Evaluación de cuatro tipos de bolsas sobre la incidencia y severidad de Cochinilla y Fumagina en Banano

117

1.9. Colección entomológica de insectos asociados al cultivo de Banano

128

1.10. Incidencia de plagas en banano

135

2. Línea de investigación en fisiología

140

2.1. Sincronización de Banano Cavendish y su efecto sobre algunos componentes de rendimiento

141

2.2. Relación entre la fluorescencia de la clorofila y el rendimiento del Banano CV. Cavendish

147

2.3. Respuesta del pH a la incubación de cales en suelos de Urabá

154

2.4. Evaluación de la emisión foliar en áreas de confluencia de bloques de aspersión aérea

163

3. Línea de investigación en suelos y agricultura de precisión

168

3.1. Servicios técnicos especializados de salud del suelo - Cenibanano

169

3.2. Evaluación del crecimiento de raíces de banano bajo diferentes condiciones de resistencia a la penetración del suelo

185

4. Línea de investigación en agroclimatología

195

4.1. Modelo de evaluación de la humedad del suelo

196

4.2. Modelo de radiación fotosintéticamente activa

206

4.3. Modelo de Sigatoka Negra y clima

210

4.4 Red agrometeorológica bananera

220

4.5 Análisis de variabilidad climática; evaluación y caracterización espacio - temporal de fenómenos de variabilidad climática de importancia en la zona bananera de Urabá y Magdalena

236

5. Línea de investigación en biotecnología

248

5.1. Evaluación de la patogenicidad y la resistencia de fungicidas de diferentes aislamientos de *Pseudocercospora Fijiensis* en variedades susceptibles de *Musa Acuminata* como herramienta para la búsqueda de nuevos blancos para el control de la *Sigatoka Negra*

249

5.2. Caracterización molecular y análisis funcional de genes candidatos de resistencia en *Musa Acuminata* spa. *Burmanicoides* var. *Calcutta 4 (AA)* contra *P. Fijiensis*

269

5.3. Aplicación de metodologías basadas en RNAi para el control de Sigatoka Negra en banano y desarrollo de metodología basada en CRIPR- CAS9 para el estudio de genes en *P. Fijiensis*

278

5.4. Eficacia y mecanismos de acción de inductores de defensa en Banano Cavendish (*Musa AAA*) en el Urabá Antioqueño

297

5.5. Implementación de una plataforma biotecnológica basada en la producción de proteínas para el desarrollo de estrategias de biocontrol de patógenos en el cultivo de plátano (*Musa AA*)

307

5.6. Descripción de la funcionalidad del microbio del plátano y exploración de antagonistas para el manejo de la enfermedad del Moko

329

5.7. Estandarización de una PCR convencional para el diagnóstico de *Dickeya Sp.* en cultivos de banano

367

5.8. Detección temprana de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia Solanacearum* usando espectroscopía de reflectancia en el VIS/NIR

377

6. Laboratorio de diagnóstico de *Fusarium oxysporum* f Sp. *Cubense* raza 4 tropical

385

7. Asistencia técnica, extensión, publicaciones, capacitaciones y transferencia

397

8. IX Congreso Técnico Bananero

409



Fitosanidad

1. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN FITOSANIDAD

1.1. SENSIBILIDAD *in vitro* de *Pseudocercospora fijiensis* A LOS FUNGICIDAS EN URABÁ DURANTE EL AÑO 2021

Autores: Luz Edith Argel Roldán, Vicente Rey Valenzuela, Yuscelis Martínez, Alba Martínez, Luis Arango y Sebastián Zapata Henao

Resumen

La sensibilidad *in vitro* de *Pseudocercospora fijiensis* a siete de los fungicidas sistémicos más utilizados en la zona de Urabá para el control de la sigatoka negra, fue evaluada durante el segundo semestre del año 2021. El monitoreo se realizó a partir de muestras colectadas en dieciséis fincas exportadoras de banano de la zona de Urabá y un testigo procedente de áreas sin aplicación de fungicidas y mediante la descarga de ascosporas en medios de cultivo con diferentes concentraciones de los fungicidas a evaluar, se midió el crecimiento del tubo germinativo y se obtuvieron los valores EC50, que indican la dosis a la cual se está inhibiendo el crecimiento del patógeno. En las fincas comerciales, el tubo germinativo presentó inhibiciones entre un 45 a 72%, que al ser comparados con la muestra silvestre evidenciaron una pérdida de sensibilidad de hasta 33%. El valor EC50 promedio superó el valor de la dosis discriminatoria en el difenoconazol, epoxiconazol y fenpropidín y en los demás grupos químicos este valor se acerca cada vez a dicha dosis. La pérdida de sensibilidad fue más notoria en el grupo de los DMIs (triazoles) y en los SDHI, indicando estos resultados que las moléculas actualmente utilizadas en Urabá para el control de la sigatoka están ejerciendo una mayor presión sobre las poblaciones del hongo gracias al aumento de los ciclos de aplicación. Es prioritario por tanto evaluar nuevas alternativas para el control de sigatoka, en donde se ejerza una menor presión de selección de poblaciones resistentes del patógeno, incluyendo un cambio en frecuencia de aplicación, el fortalecimiento de las labores culturales para disminuir la presión de la enfermedad y la inclusión de nuevas moléculas con menor riesgo de generar resistencia.

Palabras clave: Ingrediente activo, resistencia, EC50, sigatoka negra.

1.1.1. Introducción

La sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*, Morelet), aunque no causa la muerte de la planta, reduce de manera importante el área foliar, lo que causa una disminución en la capacidad fotosintética provocando una reducción del peso del racimo entre un 40 a 50% (Guzmán et al. 2013). El control de esta enfermedad si bien implica prácticas culturales de fitosaneos, se ha basado principalmente en la aplicación periódica de fungicidas, ocasionando una alta presión de selección sobre las poblaciones del

patógeno, que sumado a la alta capacidad de recombinación genética de *P. fijiensis* producen una mayor diversidad genética (Pérez, 2012; Guzmán 2006). Debido a lo anterior, este patógeno es altamente propenso a generar rápidamente resistencia a diferentes grupos químicos y por su capacidad parasítica esa resistencia perdura en el tiempo y se dificulta que las poblaciones recuperen la sensibilidad (Guzmán 2007).

El desarrollo de la resistencia de *P. fijiensis*, reduce la efectividad de los programas de control, cobrando por tanto especial relevancia el monitoreo rutinario y en el tiempo de la sensibilidad a los fungicidas comúnmente utilizados porque permitirá detectar oportunamente cambios en la sensibilidad que este experimentando la población, así como la identificación de individuos resistentes antes que se generalicen en la población, manteniéndolos en una baja frecuencia y de esta manera reducir así el riesgo de aparición de la resistencia, salvaguardando tanto la sanidad y productividad del cultivo como la eficacia en condiciones de campo de las diferentes moléculas químicas (Martínez et al. 2012; Ganry et al. 2012).

Por lo anterior CENIBANANO, que desde el año 2012, hace parte de FRAC, realiza el continuo monitoreo de la respuesta de *P. fijiensis* a los fungicidas, presentando indicadores de riesgo y la medida en que pueden combinarse, para tener una estimación general de la probabilidad de desarrollar resistencia contra los fungicidas actualmente utilizados en la zona de Urabá, brindando así herramientas para la implementación adecuada de programas de control.

1.1.2. Metodología

Para evaluar la sensibilidad de *P. fijiensis* se colectaron fragmentos de hojas en estadio 5-6 de la enfermedad, fueron colectadas entre las semanas 28 a 51, en dieciséis fincas exportadoras de banano ubicadas en los municipios de Chigorodó, Carepa, Apartadó y Turbo (4 fincas por municipio) y con tres diferentes programas de fumigación aérea; adicionalmente se incluyó una población silvestre sin historial de aplicaciones de fungicidas, colectada en el municipio de Mutatá (**Tabla 1**).

Tabla 1. Fincas monitoreadas durante el año 2021.

CHIGORODÓ	CAREPA	APARTADO	TURBO
Bananal	Campo Experimental	Chinita	El Oasis
Finca 1	La Candela	Laureles	Monterrey 3
Luisa Fernanda	Punto Fijo	*Marta María	Panorama
Montecristo	Triganá	*Por Francia	Río Grande
Línea base (Mutatá)			

A partir de tejido foliar con manchas en estadio 6 y presencia de abundantes pseudotecios, se evaluó el efecto sobre la germinación de las ascosporas de *P. fijiensis* de siete (7) fungicidas sistémicos utilizados para el control de sigatoka en Urabá (**Tabla 2**), realizando una descarga de ascosporas sobre medios de cultivo modificados con las diferentes dosis de los fungicidas, de acuerdo a los protocolos utilizados en el laboratorio de CENIBANANO. Posteriormente las muestras se llevaron a cámara húmeda durante 48 horas, tiempo después del cual se realizó la descarga sobre los medios modificados con las dosis y fungicidas a evaluar, seguidamente los platos Petri fueron incubados durante 48 horas a una temperatura de 26-27 °C; transcurrido este tiempo las cajas Petri se almacenan a 8-10 °C hasta la realización de la lectura del crecimiento de los tubos germinativos.

Tabla 2. Fungicidas evaluados durante el año 2021.

GRUPO QUÍMICO	INGREDIENTE ACTIVO
TRIAZOLES	Difenoconazol
	Epoxiconazol
AMINAS	Fenpropimorf
	Fenpropidin
	Espiroxamina
ANILINOPIRIMIDINAS	Pyrimetanil
SDHI	Boscalid

Cada concentración de fungicida se montó por duplicado, midiendo los tubos germinativos de 30 ascosporas por concentración y para la dosis 0 ppm y la dosis discriminatoria de cada fungicida se evaluaron 60 ascosporas. Los resultados obtenidos fueron comparados con la muestra testigo.

Para cada fungicida se calculó el porcentaje de inhibición en la longitud del tubo germinativo en cada concentración evaluada y mediante un análisis de regresión lineal del logaritmo natural se determinó la concentración efectiva media (EC50) de cada finca. El comportamiento de la sensibilidad de *P. fijiensis* en cada concentración evaluada se presentó mediante gráficas.

1.1.3. Resultados y discusión

1.1.3.1. Inhibidores de la Desmetilación (DMIs). Los ingredientes activos difenoconazol y epoxiconazol, presentaron una inhibición promedio del tubo germinativo por debajo del 50%, inhibición que ha sido la más baja desde el año 2016 con valores que variaron para el caso del epoxiconazol entre un 22.98% a un 71.62%; y una reducción en la sensibilidad con relación al testigo del 27.55%; mientras que la

variación en el difenoconazol oscilo entre el 14.71% a un 77.40% y una reducción con relación al testigo del 33.57% (**Figura 1, Tabla 4**).

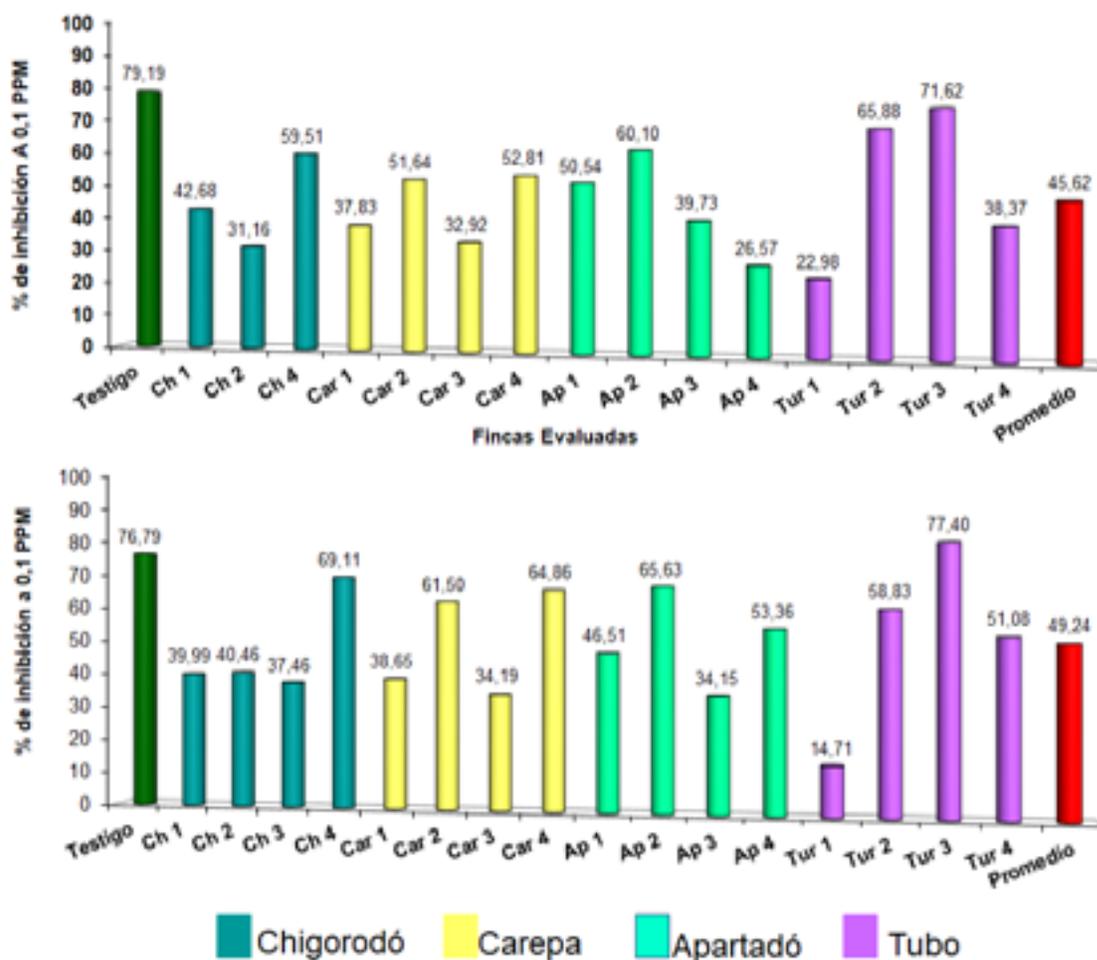


Figura 1. Porcentajes de inhibición del tubo germinativo para (a) difenoconazol y (b) epoxiconazol en siete fincas de Urabá durante el año 2021.

En las poblaciones monitoreadas, los valores promedio obtenidos de la concentración efectiva media (EC50) para los dos triazoles evaluados, estuvo por encima de la dosis discriminadora estipulada para este grupo químico que es de 0.1 ppm, con valores que superaron hasta 33 veces más el valor obtenido para el testigo. En el caso del difenoconazol los valores EC50 variaron entre 0.0450 y 0.28 ppm y un valor promedio de 0.1477 ppm. En el ingrediente activo epoxiconazol estos valores variaron entre 0.02 a 0.48 ppm y en promedio la EC50 fue de 0.1496ppm. Ambos valores promedio, superaron a los obtenidos durante los cuatro años anteriores (**Figura 2, Tabla 5**).

En la muestra silvestre, la inhibición fue mayor al 76% y la concentración efectiva media se mantuvo estable con respecto al año anterior (**Figura 2, Tabla 6 y 7**).

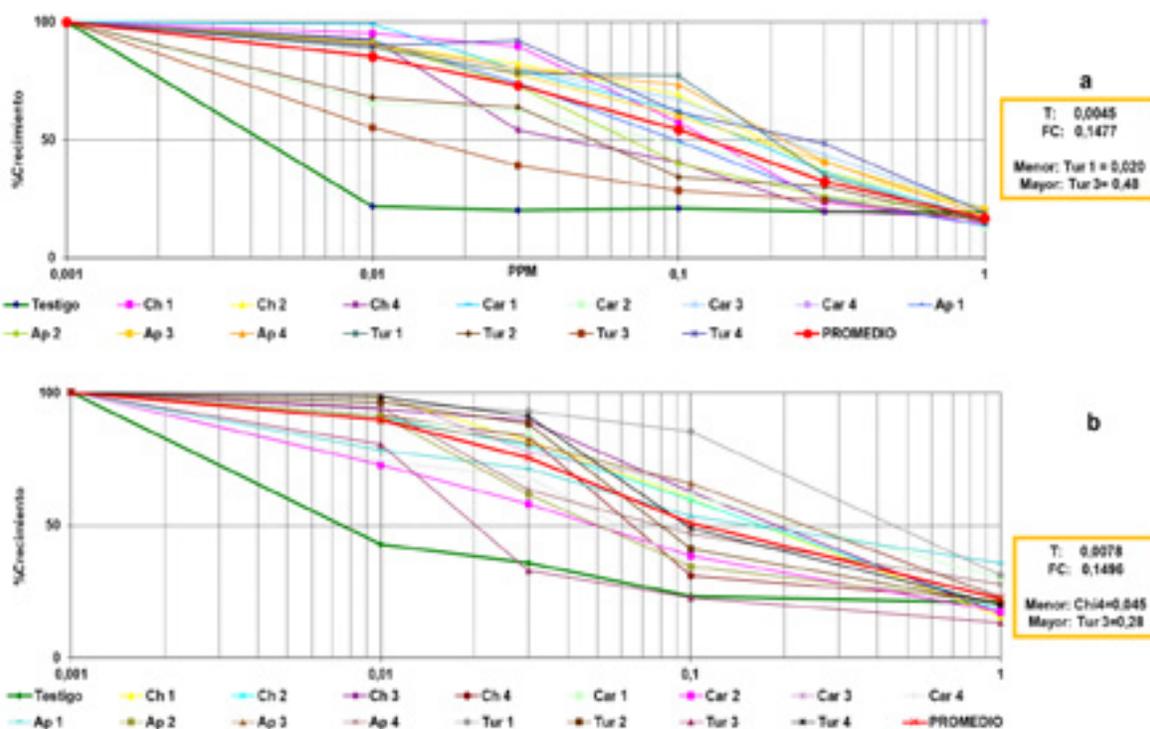


Figura 2. Curvas EC50 para (a) difenoconazol y (b) epoxiconazol, en siete fincas de Urabá, durante el año 2021. T=Testigo, FC=Finca Comercial

El grupo químico de los DMI o triazoles si bien tiene un riesgo medio de pérdida de sensibilidad, presenta resistencia cruzada entre los miembros de este grupo, haciendo que el riesgo de la aparición de la resistencia incremente, más aún si se superan las 8 aplicaciones por año o se aplican más de dos ingredientes activos pertenecientes a este grupo (FRAC, 2021, 2018).

1.1.3.2. Aminas. El porcentaje promedio de inhibición del crecimiento del tubo germinativo para los ingredientes activos fenpropimorf, espiroxamina y fenpropidin presentó un ligero incremento en comparación con el año 2020 (**Tabla 4**) y su comportamiento en las fincas monitoreadas se puede observar en la **figura 3**. Con respecto a la muestra testigo se pudo determinar que presentaron una disminución en la sensibilidad de 16.86, 7.52 y 23.2% respectivamente.

La concentración efectiva media promedio, obtenida para los tres ingredientes activos evaluados evidenció una disminución en comparación con los dos años anteriores, manteniéndose dentro de la dosis discriminadora (1 ppm) en lo que respecta al fenpropimorf y la espiroxamina; mientras que el fenpropidin, sigue superando esa dosis (0,1 ppm) puesto que su valor promedio obtenido fue de

0.1974ppm. Para este grupo químico la respuesta varía entre 3 a 7 veces más que lo obtenido para la finca testigo (**Figura 4, Tabla 5**).

La inhibición del crecimiento del tubo germinativo en la finca testigo supero el 79%, exceptuando el fenpropidin cuyo porcentaje de inhibición fue del 69.46% (**Figura 3**). Al calcular los valores EC50 de la muestra silvestre, se evidenció una disminución con respecto a los dos años anteriores (**Figura 4, Tabla 7**).

El grupo químico de las aminas tiene un riesgo bajo a moderado de generar resistencia, generalmente se encuentra resistencia cruzada dentro del grupo, pero no con otros grupos inhibidores de la biosíntesis del estero, por lo que han sido utilizados por muchos años con un desempeño aceptable (FRAC, 2021). El grupo de banano de FRAC de acuerdo a los datos presentado en la última reunión en 2018, recomienda que no se deben exceder las 18 aplicaciones por año, ni hacer dos aplicaciones consecutivas de este grupo químico.

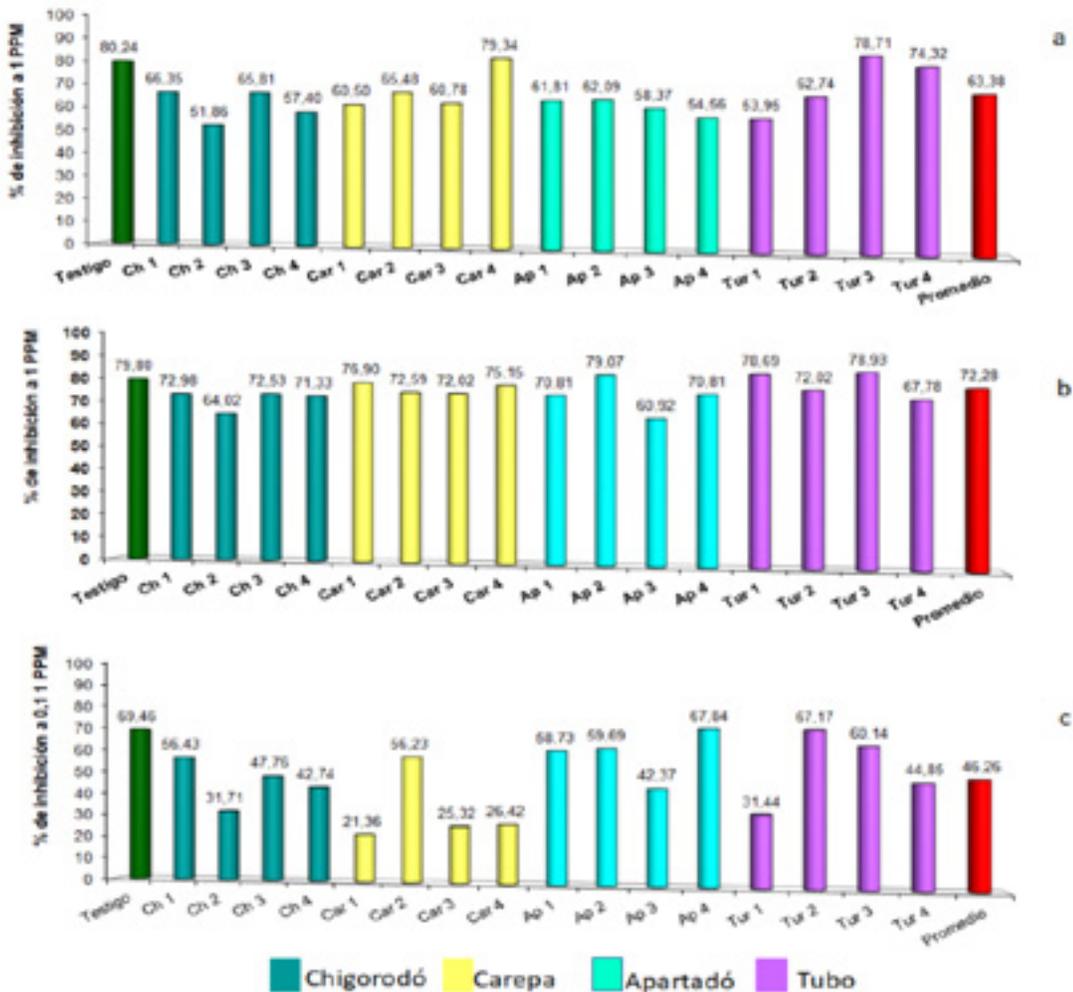


Figura 3. Porcentajes de inhibición del tubo germinativo para las aminas (a) fenpropimorf, (b) espiroxamina y (c) fenpropidin en Urabá durante el año 2021.

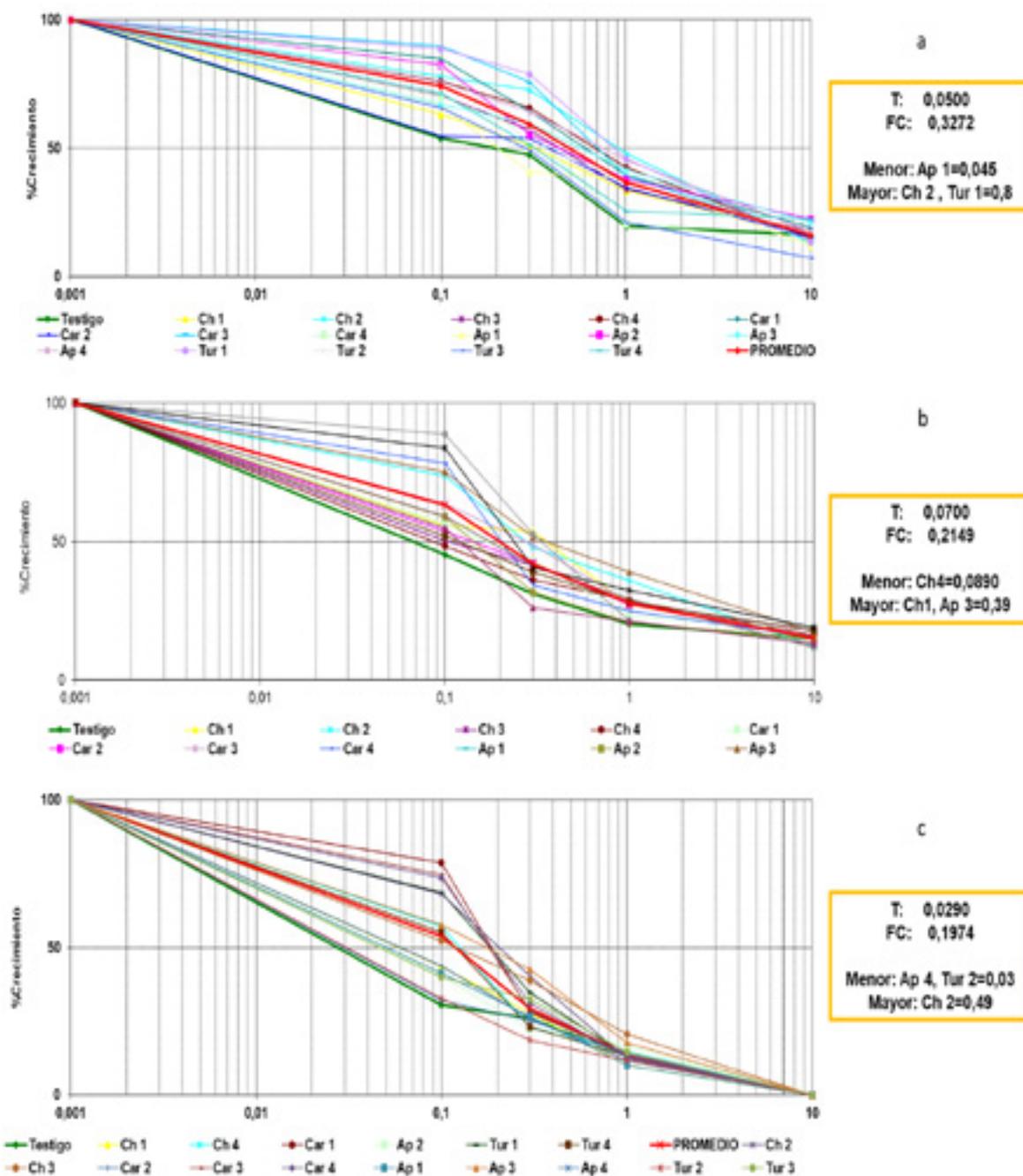


Figura 4. Curvas EC50 para las aminas (a) fenpropimorf, (b) espiroxamina y (c) fenpropidin en Urabá durante el año 2021.

1.1.3.3. Anilino-pirimidinas (APs). El ingrediente activo pyrimetamil en este período de evaluación mostró un porcentaje promedio de inhibición inferior al 60% con valores que oscilaron entre un 46.09% y un 69.34% y en comparación con la muestra testigo tuvo una disminución en la sensibilidad de 16.5%, evidenciando además una disminución con relación al año 2020 (**Figura 5, Tabla 4**).

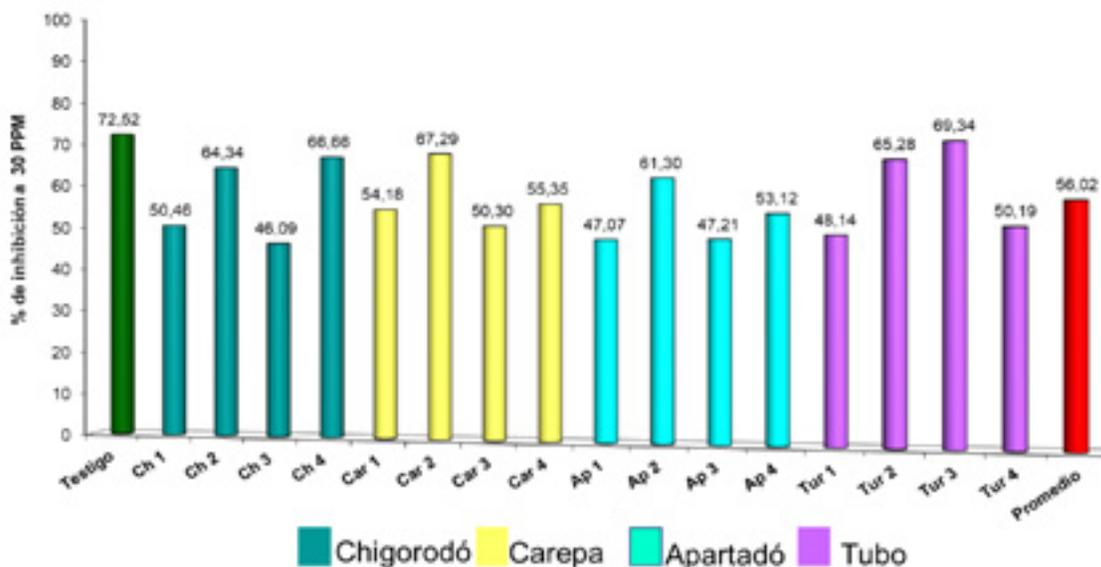


Figura 5. Porcentajes de inhibición del tubo germinativo para el ingrediente activo pyrimetamil en Urabá durante el año 2021.

El valor promedio de la concentración efectiva media para el pyrimetamil fue de 24.06 ppm valor que incrementó casi al doble con respecto al año 2020, pero sigue manteniéndose dentro de la dosis discriminadora que es de 30 ppm para este ingrediente activo. Los valores EC50 obtenidos para las fincas monitoreadas tuvieron una variación entre 6 y 39 ppm y superaron en promedio tres veces el valor obtenido para la finca testigo (**Figura 6, Tabla 5**).

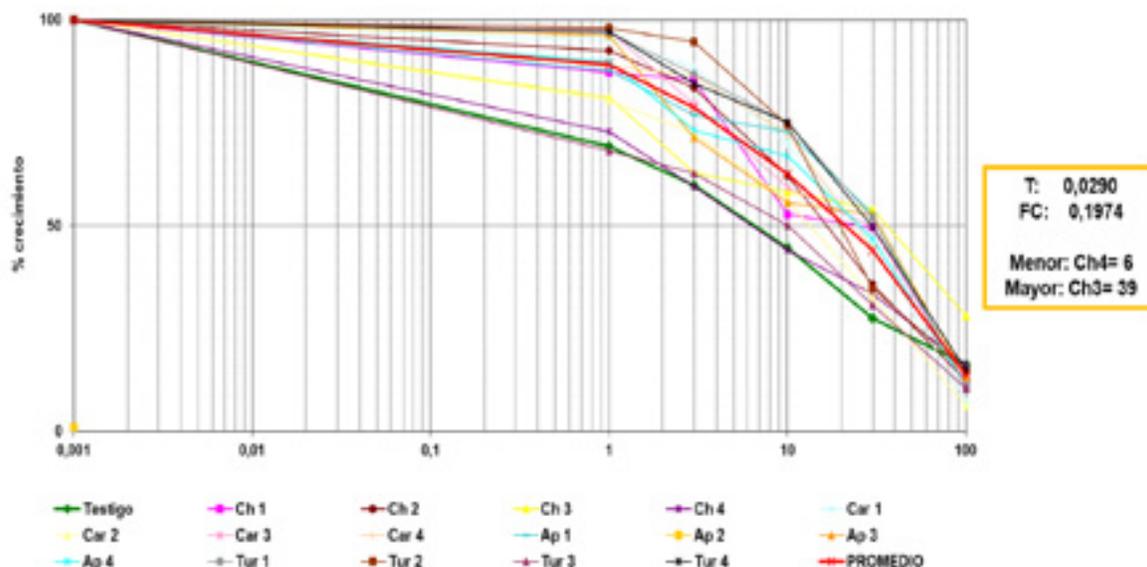


Figura 6. Curvas EC50 para pyrimetamil en Urabá durante el año 2021.

En la muestra silvestre se obtuvo un porcentaje de inhibición del tubo germinativo del 72.52%, valor superior al obtenido el año pasado y el valor EC50 calculado fue 6.9 ppm valor que fue inferior al del año anterior (**Figuras 5 y 6, Tablas 6 y 7**).

Las anilino pirimidinas, presentan un riesgo medio de generar resistencia, por lo que la recomendación es no sobrepasar los 8 ciclos al año sin exceder el 50% del total de los ciclos aplicados, ni realizar aplicaciones consecutivas. Adicionalmente este grupo de fungicidas debe ser aplicado alternado con fungicidas de modo de acción diferente y sin resistencia cruzada (FRAC, 2018).

1.1.3.4. Inhibidores de la SDH (SDHIs). La respuesta de las poblaciones de *P. fijiensis* frente al boscalid, único ingrediente activo de este grupo químico que fue evaluado, mostró una inhibición del tubo germinativo inferior al 58%, dando como resultado una pérdida de sensibilidad con respecto a la muestra testigo de un 14.58% y los porcentajes de inhibición oscilaron entre 31.93 a 69.82% (**Figura 7**).

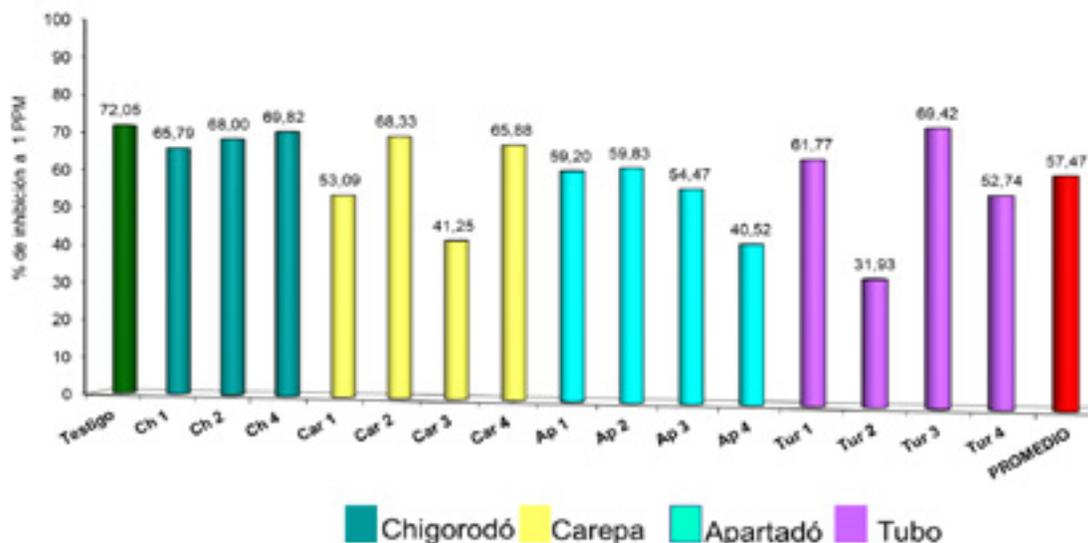


Figura 7. Porcentajes de inhibición del tubo germinativo para boscalid en Urabá durante el año 2021

La concentración efectiva media obtenida para este ingrediente activo estuvo en promedio en 0.9883 ppm, valor que incremento de manera importante con respecto al año anterior, acercándose cada vez más a la dosis discriminadora estipulada que es de 1 ppm y con relación al testigo, este valor fue de 16 veces más. En las fincas monitoreadas los valores EC50 oscilaron entre 0.07 y 4 ppm (**Figura 8, Tabla 5**).

En la muestra silvestre el porcentaje de inhibición fue de 72.05% muy similar al porcentaje obtenido en el año 2020 y el valor EC50 fue de 0.06 ppm, superior al del año anterior (**Figuras 7 y 8, Tabla 6 y 7**).

El grupo de los SDHI al cual pertenece el boscalid, tiene un riesgo moderado a alto de generar resistencia, incluso se han reportado mutaciones puntuales asociadas a la pérdida de sensibilidad en algunas especies de hongos. Lo anterior se evidencia en los reportes presentados por los diferentes laboratorios que monitorean la molécula, incluido CENIBANANO, que indican que esta molécula tiene una reducida sensibilidad in vitro desde el año 2012 en Costa Rica, Ecuador, Colombia y Guatemala (FRAC, 2021); por tanto, la indicación es no superar las 3 aplicaciones al año, que no deben ser consecutivas ni superar el 33% de las aplicaciones (FRAC, 2018).

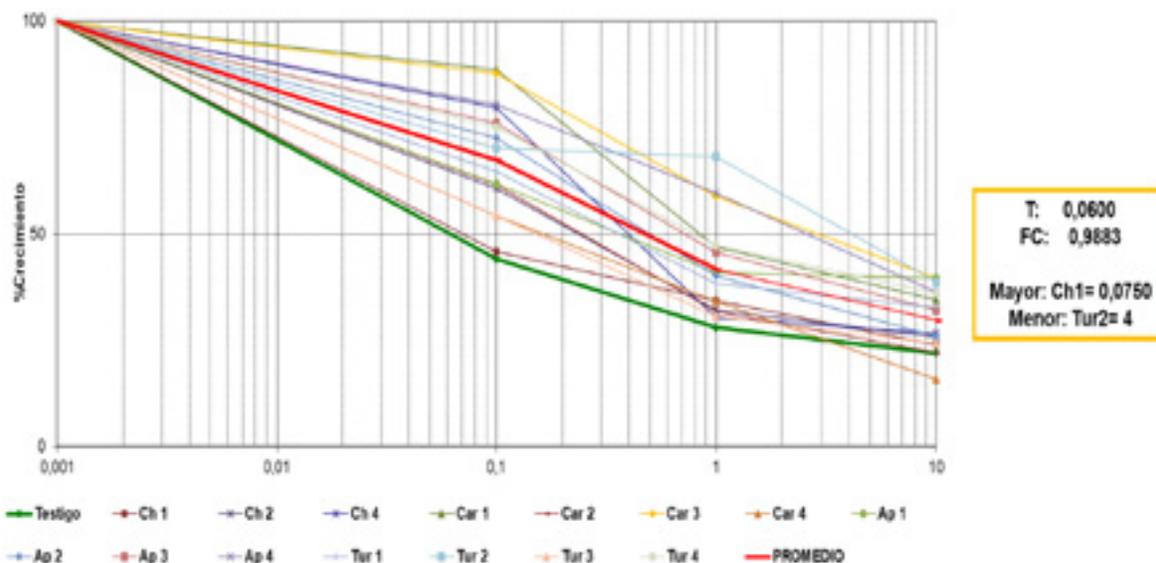


Figura 8. Curvas EC50 para boscalid en Urabá durante el año 2021.

En las **tablas 4 a 7** se presentan los valores históricos promedio desde el 2009 a la fecha, de los porcentajes de inhibición del tubo germinativo de *P. fijiensis* y los valores EC50 tanto para las fincas comerciales como para la muestra testigo.

Tabla 4. Datos históricos entre el año 2009 y 2021 de los porcentajes de inhibición del tubo germinativo de *P. fijiensis* en la zona de Urabá para fincas comerciales.

HISTORICO DE PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE <i>P. fijiensis</i> FINCAS COMERCIALES														
Grupo Químico	Ingrediente activo	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
DMIs (TRIAZOLES) Dosis Discriminatoria (PPM) 0,1	Difenoconazol	50,24	47,76	43,97	36,33	46,10	59,82	35,25	49,10	51,33	54,15	59,56	58,05	45,62
	Epoxiconazol	56,06	44,60	41,24	34,84	36,39	63,26	44,22	56,17	55,93	54,84	57,76	62,49	49,24
AMINAS Dosis Discriminatoria (PPM) 1 0,1 (Fenpropidin)	Fenpropimorf	55,30	61,71	59,08	56,54	52,13	59,47	64,6	61,39	60,93	63,77	55,00	63,07	63,38
	Espiroxamina	71,26	66,24	64,62	55,66	58,54	61,17	70,72	68,99	67,86	69,82	63,06	70,29	72,28
	Fenpropidin							41,99	50,17	57,01	50,50	41,29	40,03	46,26
ANILINOPYRIMIDINAS Dosis Discriminatoria (PPM) 30	Pirimetanil	73,34	60,36	50,36	42,46	55,13	74,5	52,63	70,17	70,09	48,66	59,57	67,66	56,02
SDHI Dosis Discriminatoria (PPM) 1	Boscalid				34,88	51,34	62,27	40,95	59,38	60,35	55,75	61,42	63,08	57,47

Tabla 5. Datos históricos entre el año 2009 y 2021 de los valores EC50 en fincas comerciales de la zona de Urabá.

GRUPO QUÍMICO	INGREINTE ACTIVO	HISTORICO DE VALORES EC50 EN FINCAS COMERCIALES														F.R
		2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021		
DMIs (Triazoles) Máximo 8 aplicaciones/año sin exceder el 50% del total de ciclos	Difenoconazol	0,11	0,1915	0,2054	0,2954	0,2048	0,0613	0,1962	0,1479	0,1294	0,1446	0,0708	0,0694	0,1477	33	
	Epoxiconazol	0,15	0,1442	0,1670	0,2824	0,3138	0,0482	0,2	0,0690	0,0675	0,0986	0,0731	0,0577	0,1496	19	
AMINAS Máximo 15 aplicaciones sin exceder el 50% del total y máximo dos consecutivamente	Fenpropimorf	0,61	0,5091	0,8271	0,7782	0,5984	0,6488	0,3273	0,2344	0,2443	0,2291	0,7083	0,5250	0,3272	6	
	Espiroxamina	0,38	0,4202	0,6495	1,1738	0,8982	0,3858	0,358	0,4173	0,4031	0,2937	0,7525	0,2857	0,2149	3	
	Fenpropidin					-	-	0,4267	0,4795	0,4065	0,1931	0,5458	0,3288	0,1974	7	
ANILINOPIRIMIDINAS Máximo 8 aplicaciones sin exceder el 50%	Primetanil	14,91	22,15	34,64	50,58	22,65	3,3	26	20,45	19,73	29,00	20,06	13,26	24,06	3	
SDHI Máximo 3 aplicaciones al año sin superar el 33% del total y no consecutivamente luego de establecer la línea base, el monitoreo de seguimiento mostró desde 2012 la aparición de pocos aislamientos con una sensibilidad in vitro reducida, originados en Costa Rica y Ecuador, y desde el año 2015 al 2017 se encontraron también algunas cepas adaptadas en Colombia y Guatemala	Boscalid				3,75	1,88	0,4167	2,33	0,7170	0,7661	0,8571	0,4796	0,5629	0,9883	16	

F.R. = Factor de resistencia = $\frac{EC50 \text{ finca comercial}}{EC50 \text{ finca Testigo}}$

Tabla 6. Datos históricos entre el año 2009 y 2021 de los porcentajes de inhibición del tubo germinativo de *P. fijiensis* en la zona de Urabá para la muestra silvestre (Testigo).

HISTORICOS DE PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE 'P. fijiensis' FINCA TESTIGO														
Grupo Químico	Ingrediente activo	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
DMIs (TRIAZOLES) Dosis Discriminatoria (PPM) 0,1	Difenoconazol	65,84	68,02	73,76	70,02	82,85	81,33	82,18	83,35	75,73	78,60	75,93	80,30	79,19
	Epoxiconazol	67,21	70,39	73,25	73,64	77,94	84,21	78,74	82,12	75,73	75,13	78,14	78,99	76,79
AMINAS Dosis Discriminatoria (PPM) 1 0,1 (Fenpropidin)	Fenpropimorf	64,35	70,16	65,22	49,84	82,06	67,72	77,44	77,47	78,65	79,22	72,79	77,56	80,24
	Espiroxamina	64,89	76,20	69,53	55,57	71,42	74,75	74,1	74,52	75,24	79,60	71,05	76,08	79,80
	Fenpropidin					-	-	70,8	72,62	70,80	72,25	66,29	62,86	69,46
ANILINOPIRIMIDINAS Dosis Discriminatoria (PPM) 30	Pirimetanil	60,67	65,36	60,47	43,64	72,52	77,29	69,73	70,17	70,02	54,22	68,40	70,59	72,52
SDHI Dosis Discriminatoria (PPM) 1	Boscalid				41,98	58,75	69,7	70,13	71,38	73,92	62,82	74,41	72,13	72,05

Tabla 7. Datos históricos entre el año 2009 y 2021 de los valores EC50 en la muestra silvestre colectada en la zona de Urabá.

GRUPO QUÍMICO	INGREDIENTE ACTIVO	HISTORICO DE VALORES EC50 EN FINCA TESTIGO												
		2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021-I
DMIs (TRIAZOLES)	Difenoconazol	0,0070	0,0100	0,0196	0,0070	0,0048	0,0052	0,0047	0,0043	0,0050	0,0050	0,0050	0,0070	0,0045
	Epoxiconazol	0,0100	0,0123	0,0216	0,0065	0,0050	0,0049	0,0045	0,0045	0,0050	0,0050	0,0049	0,0065	0,0078
AMINAS	Fenpropimorf	0,4023	0,3167	0,3833	0,9000	0,0150	0,2000	0,0320	0,0350	0,0345	0,0090	0,0800	0,0900	0,0500
	Espiroxamina	0,3500	0,2933	0,2330	2,6000	0,5500	0,1100	0,0900	0,1400	0,1009	0,0400	0,1500	0,1500	0,0700
	Fenpropidin					-	-	0,0270	0,0250	0,0260	0,0250	0,0320	0,0400	0,0290
ANILINOPYRIMIDINAS	Primethanil	14,3333	18,67	20,00	39,00	11,00	0,18	17,00	13,99	13,00	3,00	9,00	9,00	6,9
SDHI	Boscalid				2,5000	0,6000	0,1500	0,0290	0,0500	0,3450	0,5000	0,0500	0,0540	0,0600

1.1.4. Conclusiones

- Con excepción de los ingredientes activos fenpropimorf y espiroxamina, todos los porcentajes de inhibición del tubo germinativo de *P. fijiensis* obtenidos para los fungicidas evaluados, disminuyeron con relación a los años anteriores, evidenciando pérdidas de sensibilidad con respecto a la muestra testigo entre un 7.52 y un 33.57%.
- Los ingredientes activos difenoconazol, fenpropidin y epoxiconazol fueron las moléculas que menores porcentajes de inhibición del tubo germinativo presentaron y a su vez los que más pérdida de sensibilidad presentaron para esta variable con respecto al testigo.
- Salvo para el grupo de las aminas, la concentración efectiva media EC50 incremento su valor con respecto a los valores obtenidos en el año anterior y estos valores para el difenoconazol, epoxiconazol y fenpropidin superaron el valor estipulado de la dosis discriminatoria.
- El valor EC50 en las fincas comerciales mostró aumentos entre 3 a 33 más con respecto al valor en la muestra silvestre, siendo el grupo químico de los triazoles (difenoconazol, epoxiconazol) y los SDHI (boscalid), los que mayor factor de resistencia evidenciaron.
- En general la sensibilidad de *P. fijiensis* a los diferentes fungicidas evaluados durante al año 2021 y que actualmente son utilizados para el control de sigatoka en la zona de Urabá, se ha visto disminuida de manera importante con respecto a los dos últimos años, sugiriendo esto que las poblaciones del hongo están siendo sometidas una fuerte presión de selección tendiente a la resistencia; presión que se desarrolla por el incremento en los ciclos anuales de aplicación de fungicidas que se ha venido realizando en Urabá. Lo anterior plantea un panorama cada vez más complejo para el control de la enfermedad e insta a tomar medidas urgentes para disminuir la cantidad de ciclos aplicados y a evaluar más herramientas de control que disminuyan la presión sobre las moléculas que actualmente se utilizan, dado que en algunos casos pueden generarse mutaciones puntuales asociadas a la resistencia y que serían irreversibles.

1.1.5. Referencias bibliográficas

- FRAC, Fungicide resistance action committee. (2018). Banana working group meeting minutes 2018. Recuperado de http://www.frac.info/docs/default-source/working-groups/banana-group/group/banana-wg-meeting-minutes-2018---english.pdf?sfvrsn=a554b9a_2
- FRAC. (2021). Code List ©*2021: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including coding for FRAC Groups on product labels). Recuperado de https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2021--final.pdf?sfvrsn=f7ec499a_2
- Ganry, J; de Lapeyre de Bellaire, L; Lescot, T. (2012). An Integrated Approach to Control the Black Leaf Streak Disease (BLSD) of Bananas, while Reducing Fungicide Use and Environmental Impact (en línea). Recuperado de https://cdn.intechopen.com/pdfs/26030/Intech-An_integrated_approach_to_control_the_black_leaf_streak_disease_blsd_of_bananas_while_reducing_fungicide_use_and_environmental_impact.pdf
- Guzmán, M. (2006). Estado actual y perspectivas futuras del manejo de la Sigatoka negra en América Latina, pp. 83- 91. En: Memorias XVII Reunión Internacional ACORBAT, 2006. Acorbat- Acafruta, Joinville, Brasil.
- Guzmán, M. (2007). Estrategias para el manejo de la resistencia de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka negra en banano, a fungicidas triazoles. Tesis M.Sc. San José, CR, UCR. 116 h.
- Guzmán, M; Orozco-Santos, M; Pérez, L. (2013). Las enfermedades Sigatoka de las hojas de banano: dispersión, impacto y evolución de las estrategias de manejo de América latina y el Caribe. XX Reunión internacional de asociación para la cooperación en búsqueda y desenvolvimiento integral de Musáceas (banano y plátano). Fortaleza, Brasil. 98-116p
- Martínez, L; Téliz, D; Rodríguez, C; Mora, A; Nieto, D; Cortés, I; Mejía, D; Nava, C; Silva, G. (2012). Resistencia de fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del sureste mexicano. *Agrociencia*. 46(7): 707-717 (en línea). Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v46n7/v46n7a6.pdf>
- Parker, J; Warrilow, A; Price, C; Mullins, J; Kelly, D; Kelly, S. (2014). Resistance to antifungals that target CYP51. *Journal of Chemical Biology*. 7(4): 143-161.
- Pérez, L. (2012). A holistic integrated management approach to control black sigatoka disease of banana caused by *Mycosphaerella fijiensis*. Manual técnico. FAO. 30 p.

1.2. EFECTO DE SUPERPOSICIÓN DE PROGRAMAS QUÍMICOS DE MANEJO DE LA SIGATOKA NEGRA SOBRE LA ENFERMEDAD Y SU AGENTE CAUSAL

Autores: Vicente Rey Valenzuela, Luz Edith Argel Roldán, Yuscelis Martínez, Alba Martínez, Luis Arango, Jhon Jairo Herrera y Sebastián Zapata Henao

Resumen

La sigatoka negra es la principal enfermedad que afecta el cultivo de banano de exportación en Urabá; su manejo se efectúa mediante prácticas culturales y aplicación de fungicidas; los fungicidas de tipo sistémico promueven la selección de cepas con menor sensibilidad dentro de la población del patógenos, por lo que se consideró de interés estudiar lo que ocurre en zonas en las que confluyen diferentes manejos químicos de la enfermedad. En las tres fincas se encontró menores indicadores de la enfermedad dentro del área en que supuestamente hay deriva de los otros dos programas de aplicación; también, se detectaron en esas zonas poblaciones del patógeno con menores niveles de sensibilidad a algunos ingredientes activos empleados para su control.

1.2.1. Introducción

La sigatoka negra, ocasionada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis* en su estado sexual) es la principal enfermedad foliar en la explotación comercial de plantas de banano en casi todos los lugares en que se le cultiva. Sus efectos se reflejan tanto en la planta: disminución de la fotosíntesis neta y la tasa de transpiración (Hidalgo *et al.*, 2006; Rodríguez-Gaviria y Cayón, 2008), disminución del peso fresco del tejido afectado, su contenido de clorofila y azúcares y la resistencia estomática (Rodríguez-Gaviria y Cayón, 2008), como el producto exportable: disminución del peso de la fruta y su vida verde (Castelan *et al.*, 2012) e, inclusive, afecta la presencia de la pudrición de corona, enfermedad de poscosecha (Ewané *et al.*, 2013). Su efecto se nota más en la época de lluvia que en la seca (Terrero *et al.*, 2020).

Para su control se emplean fungicidas de síntesis química con efecto protectante (multisitio) o sistémico (unisitio); éstos, dadas las características de probabilidad de cambio del microorganismo, seleccionan poblaciones con menos sensibilidad a sí mismos, por lo que se presentan dos efectos: la pérdida de productos por ineficaces (por ejemplo, en Urabá se dejaron de aplicar el benomil en 2000 y las estrobirulinas en 2006) y el aumento de los ciclos aplicados para su control (por ejemplo, en Urabá se pasó de 11 ciclos inicialmente a hasta 43 en la actualidad). En la región de Urabá operan tres compañías para el control de la enfermedad por aplicación de fungicidas, sin coordinación en las áreas en las que se encuentran por su radio de acción, lo que presionaría al patógeno hacia la pérdida de sensibilidad a los productos monositio empleados para su manejo. Esta fue la motivación del estudio cuyos resultados se presentan a continuación.

1.2.2. Materiales y métodos

Las evaluaciones se efectuaron en los sitios de linderos comunes de tres cultivos de banano de exportación ubicados en Churidó, en los que cada uno tiene un plan de control químico de la sigatoka negra diferente al de los demás; en cada cultivo se evaluaron hasta 10 plantas semanales en dos zonas diferentes: una, el lindero (Lnd), (**Figura 1**), se definió a partir del punto común de límite entre los tres predios, con un radio de 50 metros, definido a partir del estudio de deriva; la otra, el interior (Int), se tomó para cada cultivo en sitios en los cuales no se esperaba que aplicaciones a otro cultivo afectaran el comportamiento de la enfermedad. Se empleó el método de evaluación de Stover modificado por Gauhl en plantas con bacota recién emitida; la información recolectada en campo se procesó en Excel® 18.2110.13110.0. La información del promedio ponderado de infección (PPI) se transformó por arcoseno. Los análisis estadísticos se efectuaron en R 4.1.2 bajo la interfaz RStudio 2021.09.0+351, con los paquetes lmtest 0.9-39 y agricolae 1.3-5, para las áreas bajo la curva, mediante la función audps. La información incluye los datos hasta la semana 50/2021.

Adicionalmente, se determinó el número de hojas en plantas con racimos de 9, 10 u 11 semanas en cada zona de cada cultivo.

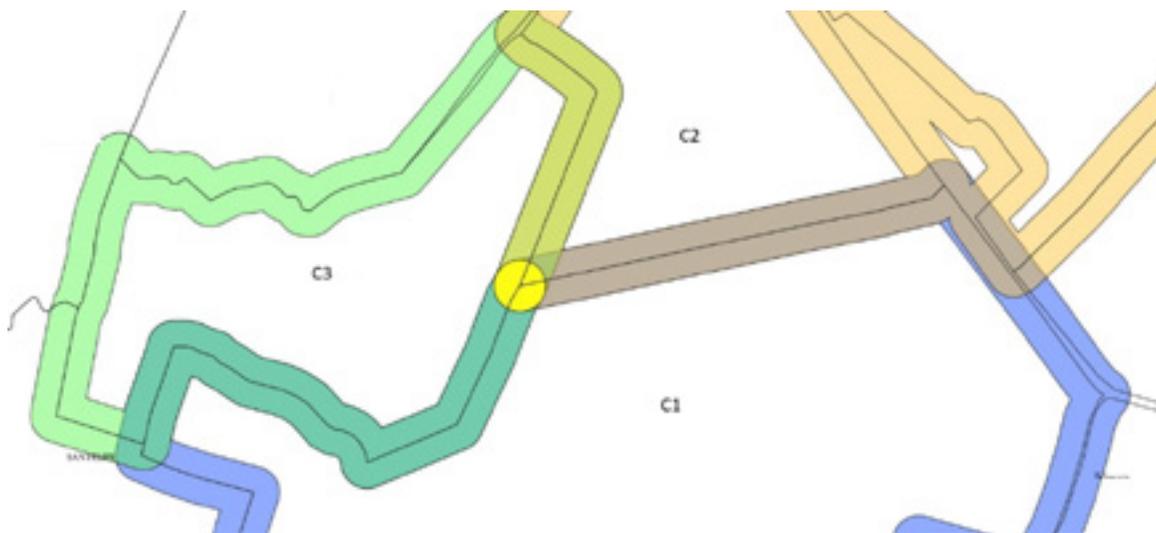


Figura 1. Croquis de los tres cultivos seleccionados para el estudio. El círculo amarillo es la zona común de presunta fumigación de otros programas de control químico. Los bordes en color representan el límite de 50 m en los que se podría esperar deriva del otro programa de control.

Para la determinación de la sensibilidad de poblaciones del patógeno a fungicidas de tipo sistémico se tomaron dos muestras de cada zona y cada cultivo en las semanas 32 y 45; para este informe sólo se tienen los resultados del primer muestreo. Las muestras se procesaron en el laboratorio de Cenibanano, donde se realizó el estudio del efecto de diferentes ingredientes activos de control de la enfermedad de tipo

un sitio, mediante las técnicas convencionales. Los datos obtenidos se procesaron en Excel®.

La información de ciclos aéreos de fungicidas aplicados para el control de la sigatoka negra se obtuvo hasta las semanas 43, para la plantación C1, 38 para C2 y 42 para C3. Para retar al patógeno se utilizaron los ingredientes activos difenoconazol y epoxiconazol (grupo DMIs), fenpropimorf, spiroxamina y fenpropidin (grupo aminas), pyrimetanil (grupo APs) y boscalid (grupo SDHIs).

1.2.3. Resultados y discusión

1.2.3.1. Efecto sobre la enfermedad

1.2.3.1.1. Promedio ponderado de infección (PPI). En la **figura 2** se presenta el área bajo la curva de progreso semanal de este indicador. Independientemente del cultivo en particular, se puede observar que al inicio de las evaluaciones (semanas 14-15/2021), los valores del indicador eran muy similares entre las zonas, mientras que, con el paso del tiempo, la diferencia acumulada se hizo mayor en cada evaluación. Esto se nota especialmente a partir de la semana 21/2021, sin tomar en cuenta qué tipo de manejo químico tiene la enfermedad; no se cuenta con datos de la semana anterior a la mencionada, debido a indisposición médica del auxiliar de campo. No se cuenta con datos climatológicos de la localidad, pero la climatología reportada en el Campo Experimental de Augura en las semanas 17 a 20/2021 totalizaron 337.5 mm, con mínimo semanal de 54.8 mm en la semana 20 y máximo de 141.4 en la 19, con lo que las condiciones fueron favorables para la enfermedad; abril (semanas 13-17) se comportó de forma normal, con leve aumento acumulado de precipitaciones según el histórico 1981-2010 (109.7%), mientras que mayo se comportó por encima del promedio (147.3%).

De otra parte, también es común a las tres plantaciones el que en la zona del lindero común a las tres la enfermedad sea en general menos severa que en la zona donde no se espera influencia de ningún otro programa de control químico.

No se midió la cantidad de producto aplicado en cada ciclo de fumigación por dos motivos: uno, se carecía de la información de los momentos de aplicación y dos, carencia de tiempo para hacerlo. Por lo tanto, no se tiene certeza ni de la calidad de la aplicación propia ni de las derivas, pero se asume, por las líneas de vuelo (**Figura 3**) que serían adecuadas para el establecimiento del ensayo en esa localidad.

En resumen, se nota un efecto común en las tres plantaciones, probablemente debido a condiciones climatológicas favorables a la enfermedad, con lo que se plantea que hay menor o mayor efecto de algún programa químico de control de la enfermedad, pero que la enfermedad es gobernada por las condiciones ambientales del lugar donde se encuentren las plantas susceptibles.

Estadísticamente, no existe una respuesta tan uniforme del parámetro evaluado a través de las semanas de evaluación (**Tabla 1**), como el parámetro PPI, a pesar de que los datos analizados se derivan de él. Sin embargo, se considera de mayor relevancia la consecuencia epidemiológica del hecho de tener más severidad (tejido foliar afectado) en una zona que en otra del respectivo cultivo. Este aspecto se puede apreciar en la **Figura 4**, en la que se muestra el acumulado del área bajo la curva de progreso del PPI hasta la semana 50/2021; es notoria la diferencia entre zonas, independiente del programa de control químico de la enfermedad.



Figura 2. Evolución semanal acumulativa del PPI en cada cultivo y zona de la ubicación bajo estudio. 2021.



Figura 3. Líneas de vuelo para la aplicación aérea de fungicidas para el control químico de la sigatoka negra en cada cultivo del ensayo.

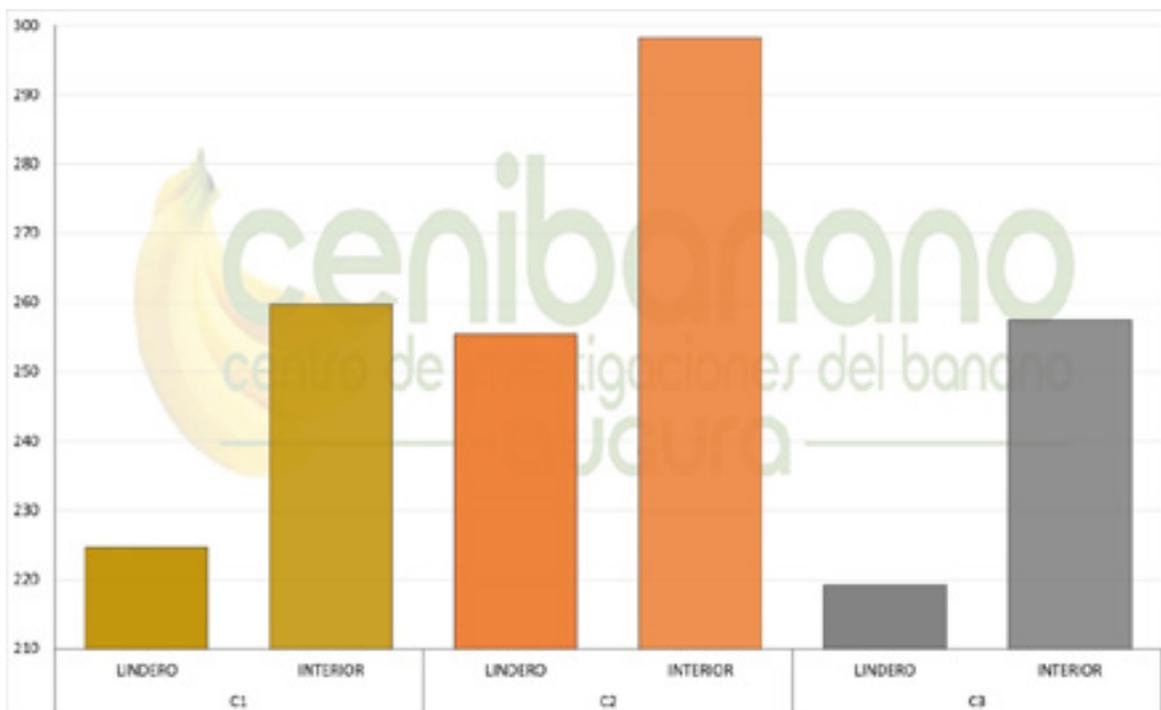


Figura 4. Área bajo la curva de progreso acumulada del PPI s14-s50 por zona y cultivo. 2021.

Tabla 1. Diferenciación estadística (Dif estad Tukey 5%: ns =no significativa, *=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001) de los datos semanales de la transformación arcoseno (asenPPI) del promedio ponderado de infección (PPI) por plantación evaluada por sigatoka negra en el bloque Churidó, en las zonas de lindero (Lnd) o interior (Int), 2021. Los datos PPI y asenPPI se aproximaron a dos decimales para su registro en esta tabla.

Sem	PLANTACIONES														
	C1					C2					C3				
	PPI		asenPPI		Dif estad	PPI		asenPPI		Dif estad	PPI		asenPPI		Dif estad
	Lnd	Int	Lnd	Int		Lnd	Int	Lnd	Int		Lnd	Int	Lnd	Int	
14	0.77	0.91	0.09	0.09	ns	0.75	0.84	0.09	0.09	ns	0.77	0.91	0.09	0.09	ns
15	0.75	0.90	0.09	0.09	*	0.83	0.75	0.09	0.09	ns	0.73	0.86	0.08	0.09	*
16	0.61	0.85	0.08	0.09	**	0.72	0.82	0.08	0.09	ns	0.82	0.80	0.09	0.09	ns
17	0.67	0.87	0.08	0.09	*	0.71	0.67	0.08	0.08	ns	0.67	0.79	0.08	0.09	ns
18	0.59	0.67	0.08	0.08	ns	0.64	0.59	0.08	0.07	ns	0.59	0.76	0.08	0.08	ns
19	0.50	0.55	0.07	0.07	ns	0.58	0.57	0.08	0.07	ns	0.49	0.62	0.07	0.08	ns
21	0.41	0.58	0.06	0.07	**	0.45	0.59	0.07	0.08	ns	0.45	0.60	0.07	0.08	*
22	0.73	0.65	0.08	0.08	ns	0.98	1.07	0.10	0.10	ns	0.49	0.64	0.07	0.08	ns
23	0.76	0.83	0.09	0.09	ns	0.94	1.20	0.10	0.11	**	0.62	0.77	0.08	0.09	*
24	0.87	0.92	0.09	0.10	ns	1.07	1.11	0.10	0.10	ns	0.66	0.82	0.08	0.09	*
25	0.92	0.94	0.10	0.10	ns	1.23	1.29	0.11	0.11	ns	0.80	0.74	0.09	0.08	ns
26	1.04	1.11	0.10	0.10	ns	1.26	1.31	0.11	0.11	ns	0.85	0.90	0.09	0.09	ns
27	1.00	1.13	0.10	0.11	ns	1.17	1.40	0.11	0.12	*	0.83	1.13	0.09	0.11	***
28	0.96	1.13	0.10	0.11	ns	1.15	1.32	0.11	0.11	ns	0.88	1.18	0.09	0.11	**
29	1.06	1.44	0.10	0.12	***	1.15	1.29	0.11	0.11	*	0.92	1.05	0.09	0.10	ns
30	1.04	1.08	0.10	0.10	ns	1.03	1.41	0.10	0.12	***	0.92	1.20	0.10	0.11	***
31	1.12	1.11	0.10	0.10	ns	1.07	1.19	0.10	0.11	ns	1.16	1.18	0.11	0.11	ns
32	0.92	1.13	0.10	0.11	**	1.10	1.48	0.10	0.12	***	0.97	1.25	0.10	0.11	*
33	0.94	1.09	0.10	0.10	*	1.15	1.31	0.11	0.11	ns	1.05	1.26	0.10	0.11	**
34	0.63	0.86	0.08	0.09	*	0.98	1.09	0.10	0.10	ns	1.04	1.23	0.10	0.11	*
35	0.88	1.21	0.09	0.11	**	1.06	1.15	0.10	0.11	ns	1.04	0.92	0.10	0.09	ns
36	0.95	1.08	0.10	0.10	ns	1.01	1.14	0.10	0.11	ns	0.95	0.96	0.10	0.10	ns
37	0.96	1.01	0.10	0.10	ns	1.16	1.14	0.11	0.11	ns	0.91	1.19	0.09	0.11	**
38	0.89	1.08	0.09	0.10	ns	1.24	1.32	0.11	0.11	ns	1.00	1.05	0.10	0.10	ns
39	0.92	1.25	0.09	0.11	**	1.07	1.38	0.10	0.12	*	1.12	1.15	0.11	0.11	ns
40	0.99	1.23	0.10	0.11	**	1.12	1.32	0.11	0.11	*	1.05	1.30	0.10	0.11	ns
41	1.20	1.39	0.11	0.12	*	1.20	1.34	0.11	0.12	ns	1.26	1.22	0.11	0.11	ns
42	1.00	1.09	0.10	0.10	ns	0.95	1.14	0.10	0.11	ns	0.79	1.01	0.09	0.10	*
43	0.83	1.08	0.09	0.10	**	1.14	1.35	0.11	0.12	ns	0.83	1.08	0.09	0.10	**
44	0.77	1.00	0.09	0.10	**	1.06	1.20	0.10	0.11	ns	0.80	1.07	0.09	0.10	***
45	1.15	1.15	0.11	0.11	ns	0.90	1.31	0.09	0.11	***	1.12	1.26	0.11	0.11	ns
46	0.85	1.11	0.09	0.10	**	1.05	1.46	0.10	0.12	***	0.84	1.06	0.09	0.10	**
47	1.06	1.02	0.10	0.10	ns	1.11	1.63	0.10	0.13	***	0.90	1.08	0.09	0.10	*
48	0.88	0.94	0.09	0.10	ns	0.88	1.31	0.09	0.11	***	0.86	1.05	0.09	0.10	*
49	0.94	0.98	0.10	0.10	ns	1.00	1.36	0.10	0.12	**	0.80	1.00	0.09	0.10	*
50	0.97	1.15	0.10	0.11	**	0.96	1.17	0.10	0.11	***	0.83	1.06	0.09	0.10	*

1.2.3.1.2. Hoja más joven infectada (YLI). Al igual que el indicador anterior, YLI fue mejor (en este caso mayor área bajo la curva) en la zona limítrofe común de los cultivos estudiados que en el área particular de cada uno (Figuras 5 y 6). La diferencia semanal acumulada es inferior al indicador PPI: a semana 50/2021, las variaciones fueron del 6.21% vs 13.50% para YLI y PPI respectivamente en C1, 9.63% vs 14.33% en C2 y 7.23% vs 14.85% en C3.

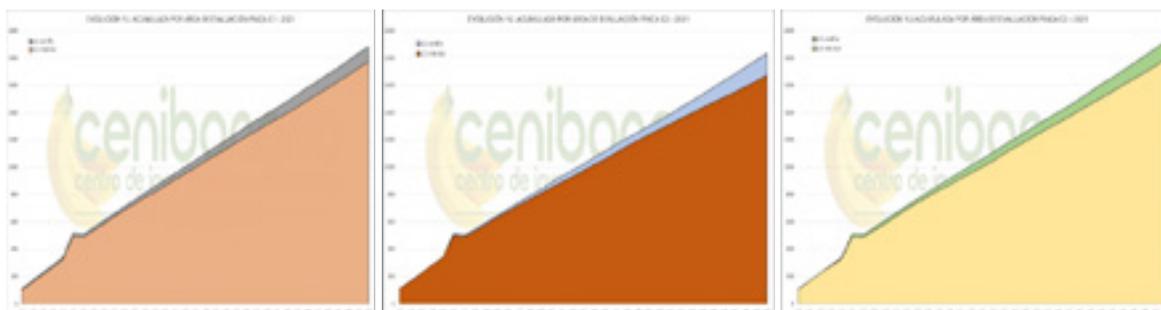


Figura 5. Evolución semanal acumulada del área bajo la curva de la hoja más joven infectada (YLI) por zona y cultivo, hasta la semana 50/2021.

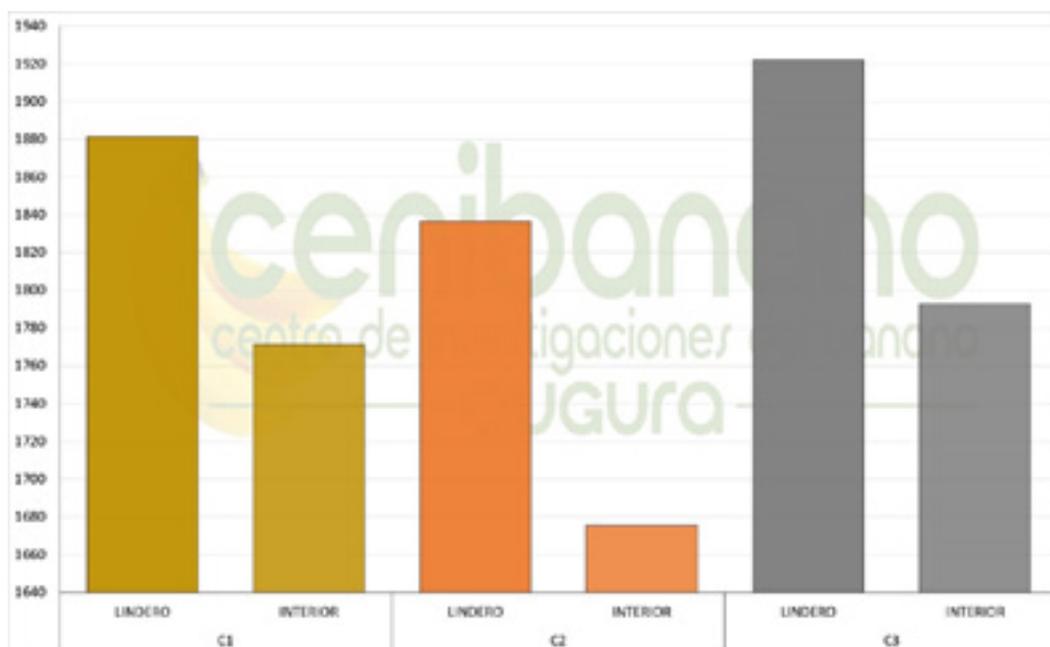


Figura 6. Área acumulada hasta la semana 50/2021 del indicador YLI por zona y cultivo.

1.2.3.1.3. Hoja más joven manchada (YLS). Este indicador se comportó de forma similar al anterior: a semana 50/2021 (**Figura 7**) las diferencias a favor de la zona de lindero fueron del 6.64%, 6.17% y 6.31%, para C1, C2 y C3, respectivamente. Esto parece indicar que este indicador es más susceptible a las condiciones ambientales que a la influencia de posible deriva de programas ajenos a los de cada plantación.

A pesar de esto, el indicador es mejor en la zona limítrofe común de las tres fincas que en el área que no se espera efecto de deriva proveniente de los otros cultivos **(Figura 8)**. De nuevo, el indicador de la enfermedad es mejor en el área teóricamente compartida de aplicación de fungicidas para el control de la sigatoka negra que en el área particular de cada cultivo.



Figura 7. Acumulado semanal del área bajo la curva para YLS por zona y finca.2021.



Figura 8. Acumulado del área semanal promedio de YLS por zona y cultivo hasta la semana 50/2021.

1.2.3.1.4. Hojas a emisión de bacota. El acumulado semanal del número de hojas por planta a emisión de bacota tuvo la menor diferenciación entre zonas (Figura 9): 0.95%, 1.61% y 1.05% a la semana 50/2021.



Figura 9. Acumulado semanal del área bajo la curva del número de hojas por planta a emisión de bacota, por zona y plantación. 2021

Como con los anteriores indicadores, los mejores resultados se obtuvieron en las zonas de lindero común de las plantaciones (**Figura 10**).

1.2.3.1.5. Hojas en plantas con diferentes edades de racimo. En la figura 11 se puede observar el comportamiento del acumulado semanal hasta la semana 50/2021 del número de hojas en plantas con racimos de 9, 10 u 11 semanas de edad. Sin ninguna excepción, los mejores valores se obtuvieron en la zona común de límite de los cultivos.

Al discriminar las plantas que no cumplirían con el número mínimo de hojas para cosecha (5), se nota que hay mayor proporción de ellas en las zonas no influenciadas por aplicaciones de otro cultivo; sólo en dos de las tres fincas se presentaron plantas con esta condición: en una de ellas la proporción fue igual en las dos zonas, mientras que en la otra fue mayor en la zona interior. Esta evaluación se efectuó en total en casi 600 plantas, con un reparto bastante homogéneo entre los tres cultivos (**Tabla 2**).

En cuanto a edades de racimos, en C1 sólo se encontraron plantas fuera de norma con racimos de 11 semanas, mientras que en C2 se encontraron plantas con racimos de 10 y 11 semanas (12.99% y 19.29%, respectivamente).

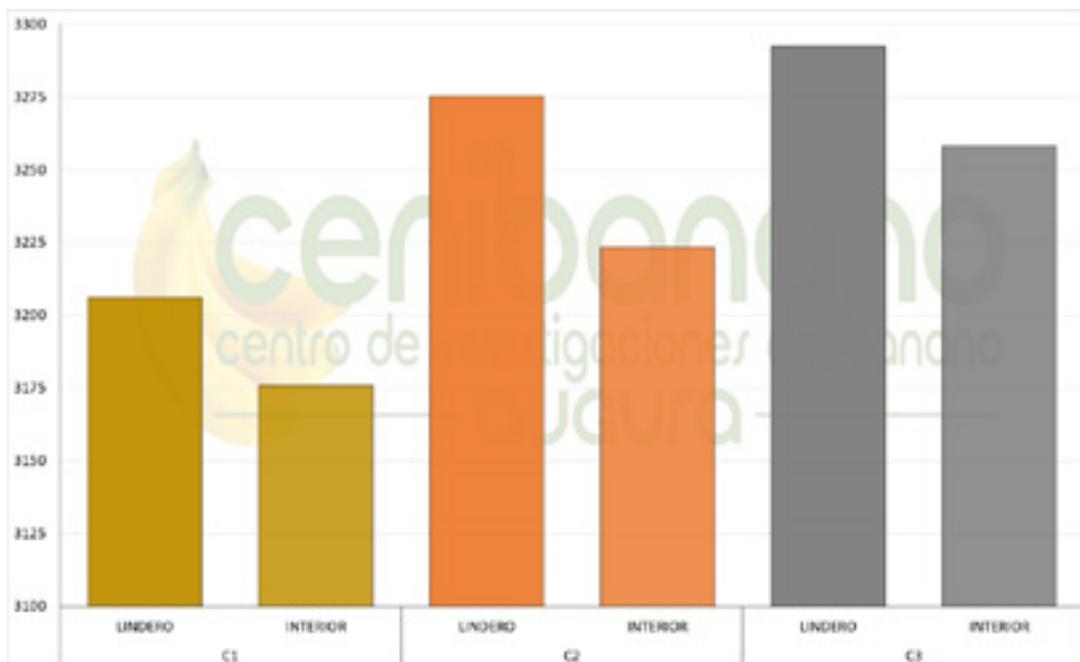


Figura 10. Acumulado del área bajo el número de hojas a bacoteo hasta la semana 50/2021 por zona y cultivo.

Tabla 2. Características de ubicación de plantas con menos de 5 hojas y racimos de tres edades. Churidó, 2021.

UBICACIÓN	INCIDENCIA**	FINCA	UBICACIÓN	INCIDENCIA**
Confluencia	12,66%	C1	Confluencia	10,00%
Interior	17,86%		Interior	10,00%
		C2	Confluencia	13,56%
			Interior	18,35%

* Edades evaluadas: 9, 10 y 11 semanas ** Según plantas evaluadas por edad/semana

n = 5910 plantas s14-50/2021	C1 = 33,25%
	C2 = 32,84%
	C3 = 33,91%

En resumen, todos los indicadores de la sigatoka negra en la zona común de lindero entre las tres fincas para la sigatoka negra fueron mejores que en las zonas de control exclusivas de cada cultivo. Esto indicaría influencia de aplicaciones externas en cada cultivo.

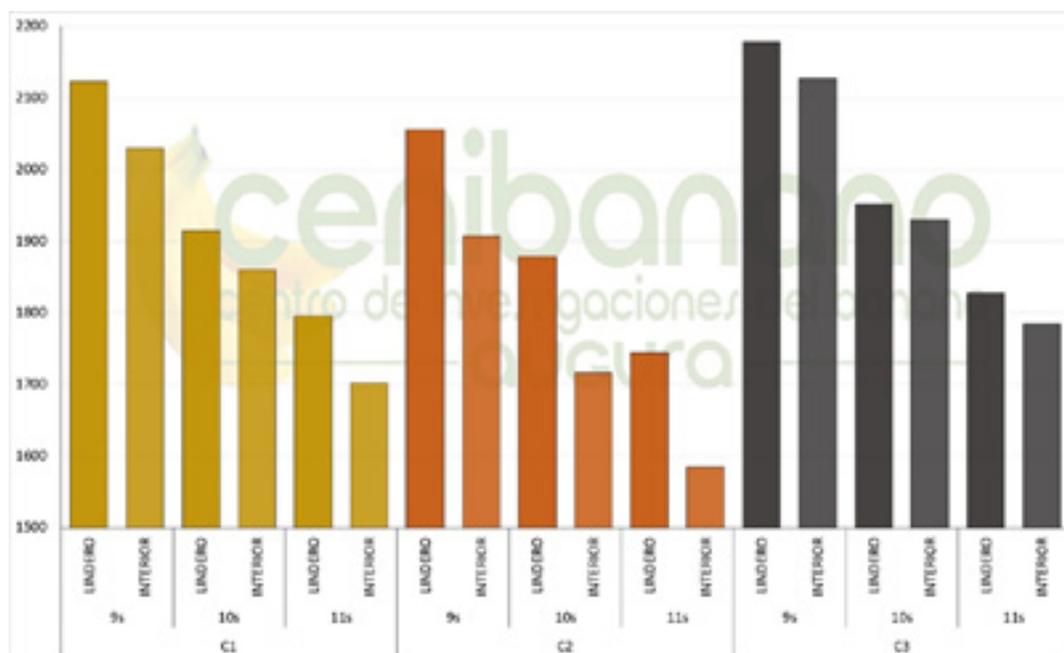


Figura 11. Acumulado del promedio del número de hojas en plantas con racimos de 9, 10 u 11 semanas de edad por zona y cultivo.

1.2.3.2.Efecto sobre el patógeno. A continuación, se presentan los resultados de la primera muestra tomada para determinar la sensibilidad de las poblaciones del patógeno a diferentes activos aplicados en las tres plantaciones del estudio.

1.2.3.2.1.Inhibidores de la desmetilación (DMI). Dentro del grupo de los fungicidas con acción DMI se evaluaron dos activos; otros fungicidas aplicados de este grupo incluyeron flutriafol, fenbuconazol, propiconazol, tebuconazol y triadimenol. Hasta la semana 32 el difenoconazol se aplicó 4 veces en C1 y en C2 y 1 vez en C3; de las aplicaciones mencionadas, hubo aplicaciones relativamente cercanas espaciadas 6 días entre C3 y C2 en las semanas 21 y 22, 10 días entre C1 y C2 en las semanas 26 y 27 y una aplicación el mismo día en C1 y C2 en la semana 32; en tanto, epoxiconazol sólo se empleó una vez en C3. Dado que este activo no debería aplicarse por restricciones de la Comunidad Europea, no se considera en los resultados.

En la **figura 11** se muestran los valores de la EC_{50} . Como se aprecia, se requieren dosis más altas de difenoconazol (cercanas al doble) para lograr la inhibición del 50% de las ascosporas en las zonas limítrofes comunes al menos de dos de las tres plantaciones, dada la carencia de datos para uno de los cultivos, que, hasta la semana de muestreo, hizo el menor número de aplicaciones con este fungicida.

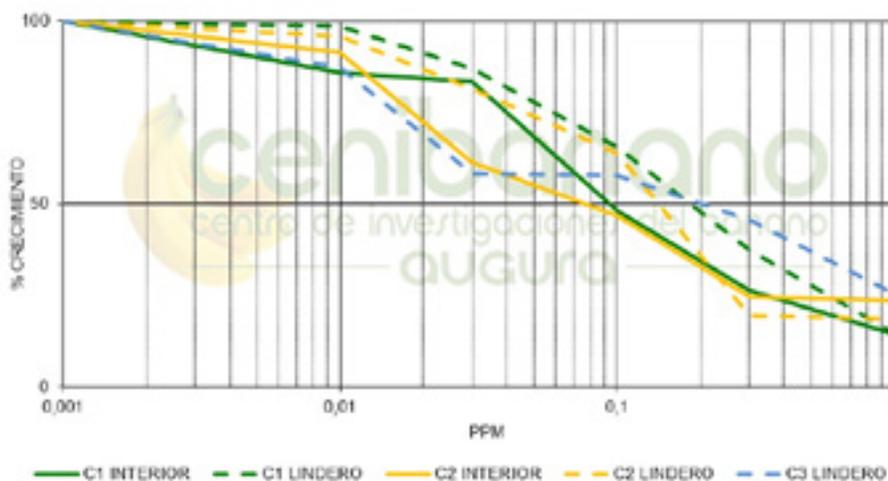


Figura 11. Efecto de diversas concentraciones de difenoconazol sobre el crecimiento del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis* en muestras tomadas en la semana 32/2021.

En la **figura 12** se registra el comportamiento por clases de porcentaje de inhibición del crecimiento del tubo germinativo de ascosporas del patógeno para este ingrediente activo.



Figura 12. Distribución por clases del porcentaje de inhibición de la germinación de ascosporas de *P. fijiensis* para el bloque Churidó por zona y cultivo. 2021.

Para las plantaciones que más uso hicieron de este activo hasta la recolección de las muestras, se detectó en la zona limítrofe porcentajes de inhibición más bajos que en el interior de los cultivos, situándose aún en el primer escalón de las clases. Esto no ocurrió con la otra plantación, en la que variaron sólo los valores de cada una de las tres clases detectadas.

Todo lo anterior apunta a que se están originando poblaciones del patógeno con menor sensibilidad al ingrediente activo en las plantaciones que más lo utilizan y en la zona en la que habría fumigación cruzada con los vecinos.

1.2.3.2.2. Aminas. Las aminas evaluadas por sensibilidad fueron fenpropimorf, spiroxamina y fenpropidin, las únicas disponibles en el mercado. De estos activos evaluados se hicieron hasta la colecta de las muestras un ciclo, un ciclo y cuatro ciclos, respectivamente, en C1; cuatro ciclos, ningún ciclo y seis ciclos en C2; y un ciclo, ningún ciclo y dos ciclos en C3. En cuanto a aplicaciones cercanas de diferentes programas de manejo se presentaron para fenpropimorf una con dos días de diferencia en las semanas 14 y 15 en C2 y C1; para la única aplicación de spiroxamina se presentó con 3 días de diferencia una aplicación posterior de fenpropidin en C3 en las semanas 22 y 23; para fenpropidin un ciclo con cuatro días de diferencia en las semanas 7 y 8 en C2 y C1, otro ciclo con tres días en la semana 13 en C2 y C3, otro con cinco días en la semana 23 en C3 y C1, otro con cuatro días en las semanas 28 y 29 en C1 y C2, además en la misma semana 28 un día antes de la aplicación en C1 se había aplicado un ciclo de fenpropimorf en C3.

En la **figura 13** se presentan los gráficos de determinación de EC_{50} para estos ingredientes activos. Lo primero que se puede observar es que hay un comportamiento de la EC_{50} diferente para las aminas de más tiempo de presencia (fenpropimorf y spiroxamina) en el abanico de opciones químicas de control de la sigatoka negra respecto a la más recientemente introducida (fenpropidin). Para las dos primeras, los valores del indicador se encuentran muy cercanos en cada activo, excepto para la zona del lindero común en C3 para el fenpropimorf y la zona interna de C2 para la spiroxamina; para fenpropidin los menores valores se presentaron para la zona de lindero común en las plantaciones C2 y C3, al paso que el mayor valor se dio en la zona interna de C2.

En la **figura 14** se presenta la distribución de rangos de inhibición para los tres ingredientes activos de este grupo de fungicidas de manejo de la sigatoka negra. En las zonas propia de C2 y del lindero común de C1 se hicieron registros correspondientes al rango de menor inhibición para fenpropimorf y fenpropidin, respectivamente. En contraste, la spiroxamina presentó valores en la mitad superior del conjunto de rangos. Es notoria la baja efectividad de este activo de una forma que se podría deducir, en orden ascendente, la zona del lindero común en C1, el interior de C2, el interior de C1, la zona del lindero común de C3 y la de C2.

En este grupo de fungicidas surge que el más reciente y de mayor uso presenta distribuciones de rangos de inhibición menos efectivos que los otros componentes del grupo. Además, se presentaron inhibiciones en el menor rango en C2 y C1 para, de nuevo se hace referencia, fenpropimorf y fenpropidin. Dados estos resultados, a pesar de las recomendaciones de uso de aminas por parte de FRAC, y su implementación en los programas de manejo de la sigatoka negra en, al menos, el bloque Churidó, se sugiere reconsiderar la aplicación de estos activos en forma de bloque o ciclos consecutivos, sin importar su ordenación; en C1 esto ocurrió una vez hasta la colecta

de la muestra, mientras que en C2 se registraron 3 veces ciclos consecutivos de estos dos ingredientes activos; una alternativa, si se considera necesario hacer bloques de aplicación de este grupo de fungicidas, sería sustituir uno de ellos (en lo posible el fenpropidin) por la spiroxamina.

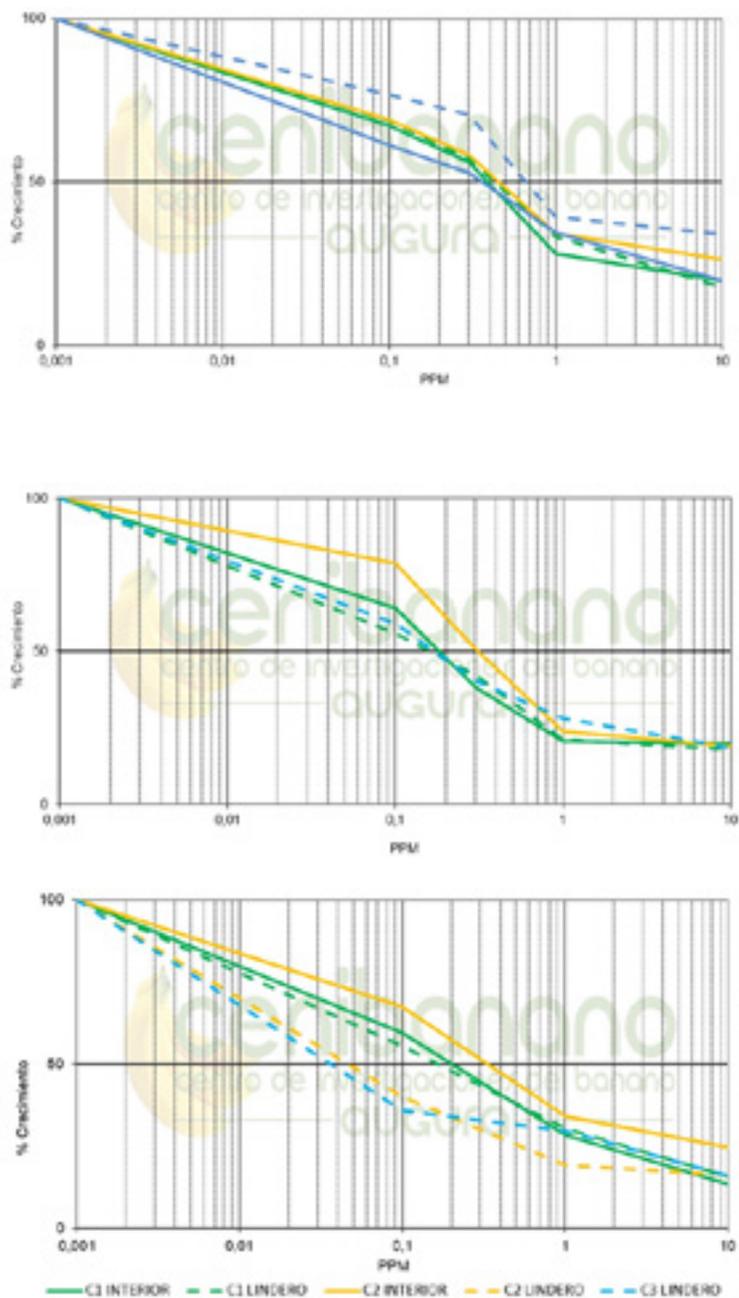


Figura 13. Efecto de diversas concentraciones de fenpropimorf (arriba), spiroxamina (centro) y fenpropidin (abajo) sobre el crecimiento del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis*, por zona y cultivo del bloque Churidó. 2021.

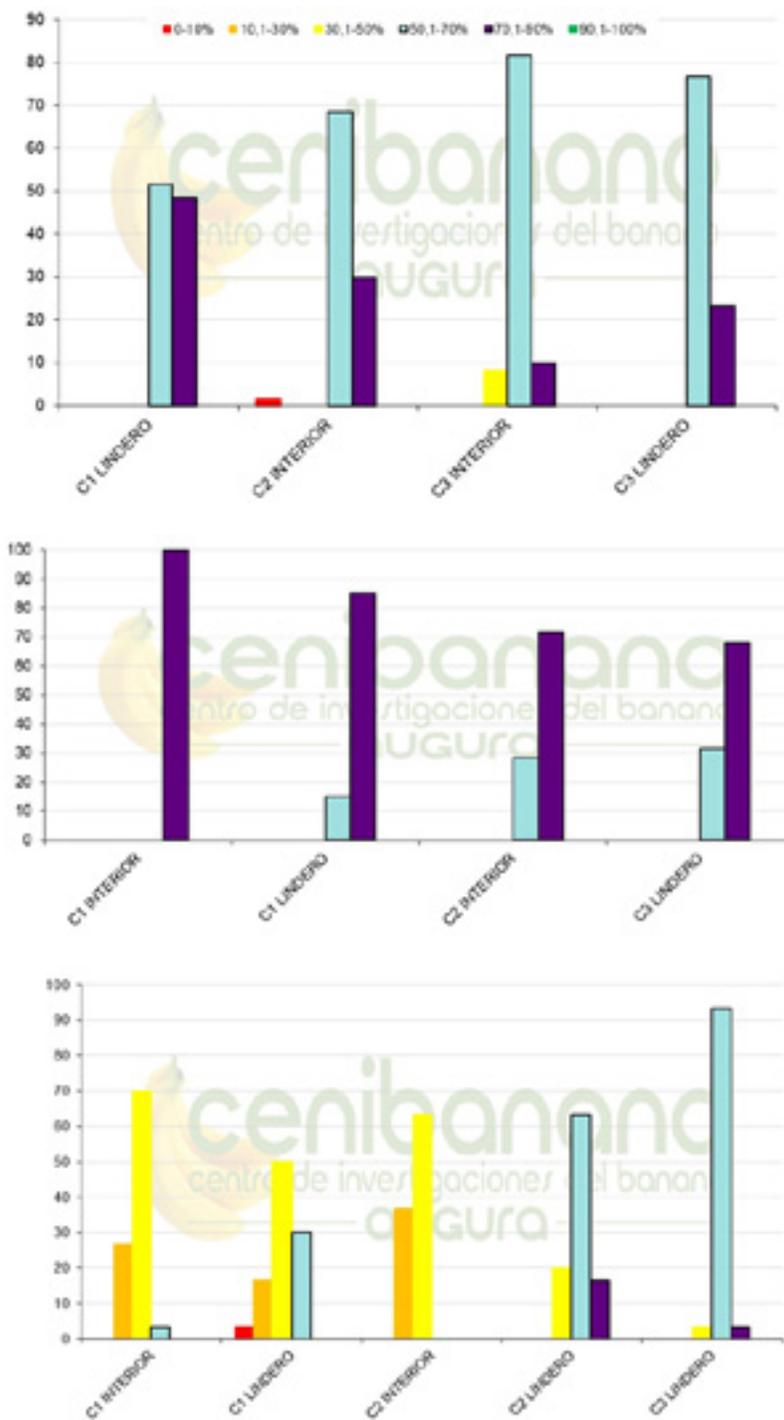


Figura 14. Distribuciones de rangos de inhibición del crecimiento del tubo germinativo de *P. fijiensis* en presencia de fenpropimorf (arriba), spiroxamina (centro) o fenpropidin (abajo) por zona y cultivo. Churidó, 2021.

1.2.3.2.3. Anilino pirimidinas (APs). El pyrimetanil se empleó, hasta la semana 32/2021, cuatro veces en C1 y dos veces en C2 y C3. Ciclos seguidos se presentaron únicamente en las semanas 3 y 4, con una diferencia de 3 días, en C1 y C2.

La EC_{50} presentó una amplia variación según el cultivo (**Figura 15**), siendo la de $C2 > C3 > C1$; hay datos comparativos entre las dos zonas sólo para uno de los cultivos, con valores que se podrían considerar similares entre la zona limítrofe común a los tres cultivos y la zona propia o exclusiva del cultivo.

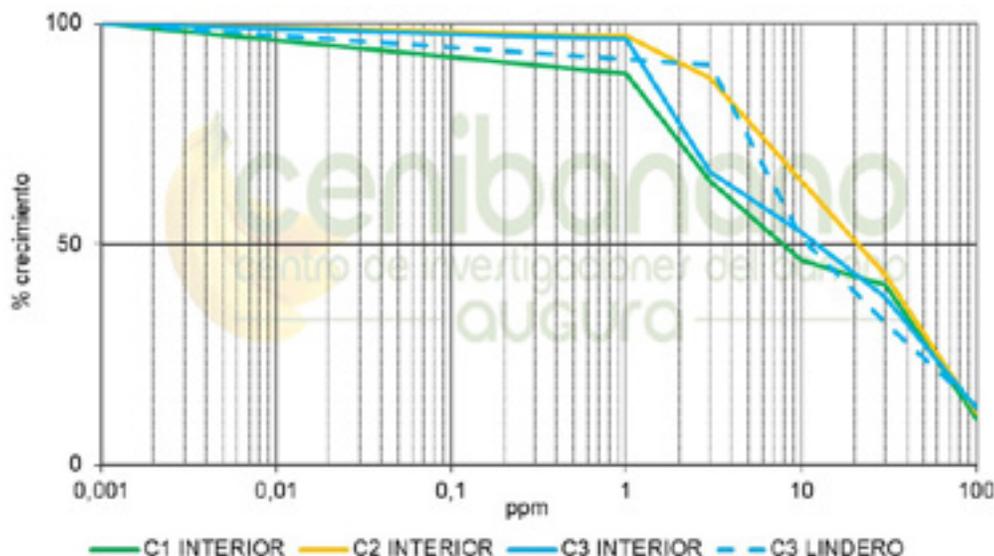


Figura 15. Comportamiento del crecimiento del tubo de germinación de ascosporas de *P. fijiensis* a diversas concentraciones de pyrimetanil por zona y cultivo del bloque Churidó. 2021.

De otra parte, en todas las zonas de las que se dispone de información, se observa la presencia de valores inferiores al 50% de inhibición (**Figura 16**); para este ingrediente activo de nuevo es una zona limítrofe común en la que se presentan los valores menos deseables. Sorprendentemente, los valores menos malos del conjunto se dieron en la misma plantación, en su zona propia. Comparativamente para las mismas zonas, el mejor comportamiento se observó $C3 > C1 > C2$.

Para este ingrediente activo el comportamiento de la EC_{50} fue mayor en el cultivo con más ciclos registrados e intermedio en efectividad. La carencia de datos completos no permite hacer conclusiones más precisas.

1.2.3.2.4. Inhibidores de la succinil-deshidrogenasa (SDHI). De este grupo de fungicidas empleados para el manejo de sigatoka negra se evaluó el boscalid; otro fungicida aplicado perteneciente a este grupo fue el isopyrazam. Del activo analizado se hicieron dos ciclos en C1 y uno en C2 y en C3 hasta la semana del primer muestreo. Las aplicaciones más cercanas de boscalid fueron con 14 días de diferencia entre C3 y C1, en las semanas 18 y 20/2021.

La EC_{50} , como en el caso del grupo anterior, se mostró bastante dispersa (Figura 17): datos contrastantes se observan en los cultivos C2 y C1, así como entre las zonas limítrofes comunes y las propias de cada finca.

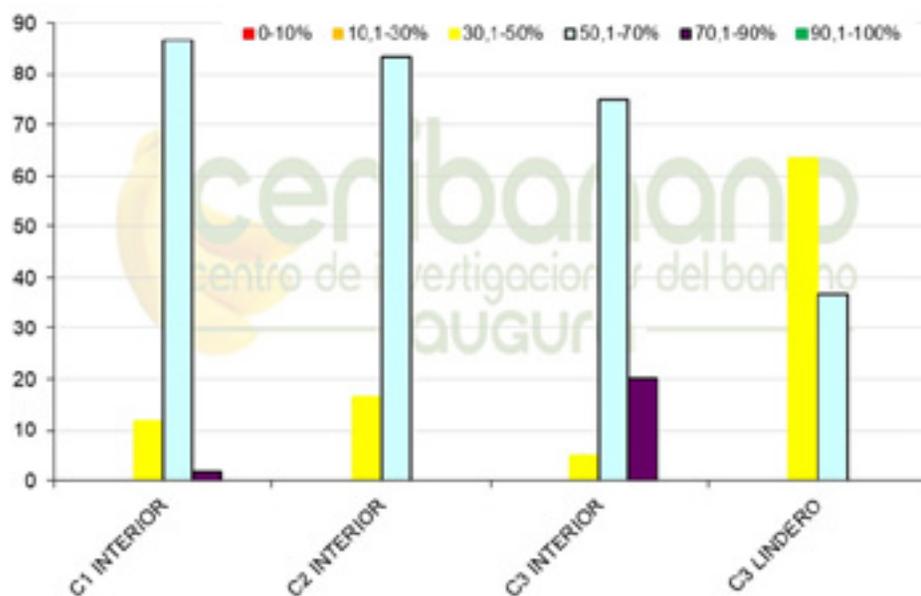


Figura 16. Distribución por rangos de la inhibición de crecimiento del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis* en presencia de pyrimetaniil. Bloque Churidó, Apartadó. 2021.

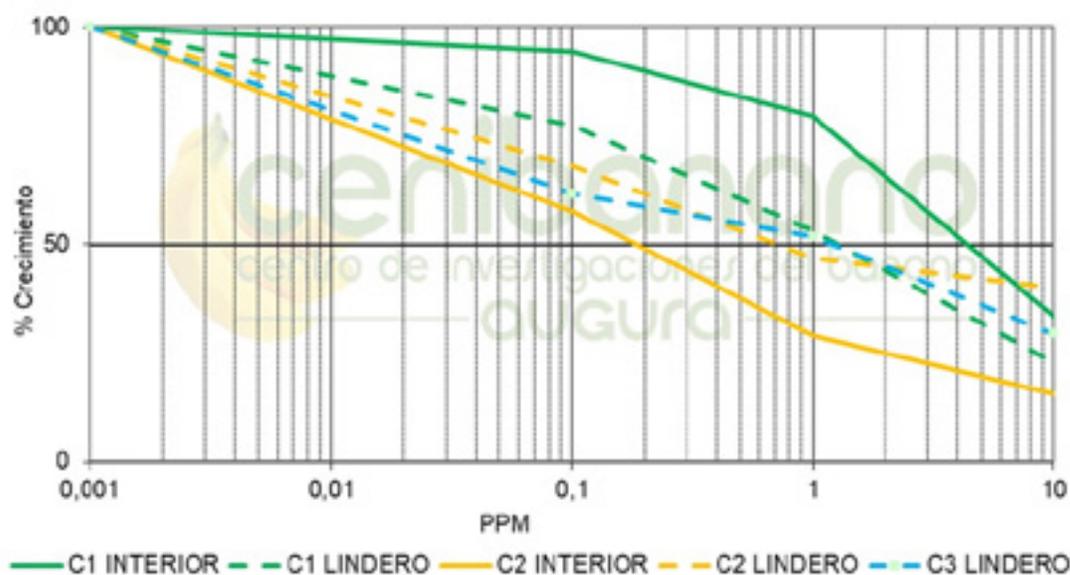


Figura 17. Efecto de diferentes dosis de boscalid sobre la inhibición del crecimiento del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis* de muestras tomadas en el bloque Churidó, semana 32/2021.

En efecto, para este activo se muestran resultados de menor dosis letal media en interior respecto a la zona limítrofe común (C2) y todo lo contrario en C1. Aparentemente, C1 parece llevar la delantera en evolución de pérdida de sensibilidad a este activo, por lo que podría considerarse su restricción de uso; los resultados de su efectividad (**Figura 18**) confirmarían esta afirmación.

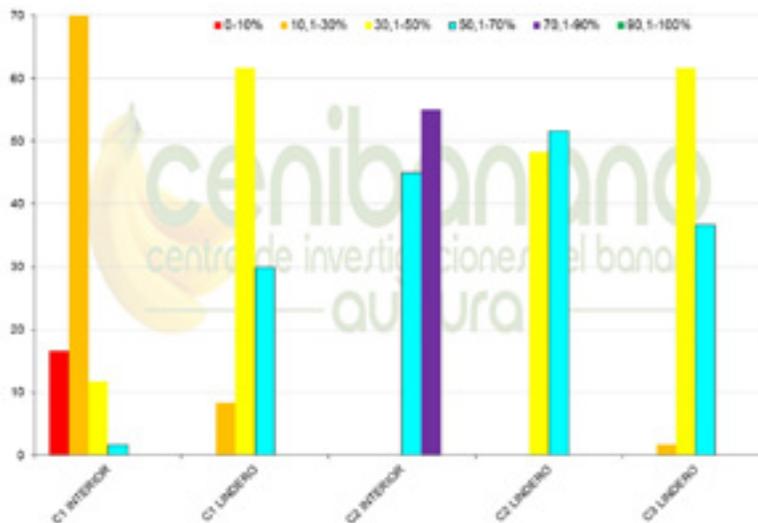


Figura 18. Agrupación por clases de inhibición del crecimiento del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis* frente a la presencia de boscalid. Churidó, 2021.

En efecto, la única zona con datos en el rango más bajo de la clasificación pertenece a la zona propia de C1. Adicionalmente, los datos en los linderos comunes de C2 son de menor calidad que los de su zona propia, situación contraria a lo que muestra C1. Al comparar las zonas comunes de las tres fincas, se observan datos de mejor comportamiento en $C2 > C3 > C1$.

En conjunto, los resultados para este ingrediente activo sugieren que sería aconsejable limitar la aplicación de esta molécula en C1.

Los resultados obtenidos hasta el momento marcan que debería haber una coordinación que evite aplicaciones cercanas del mismo ingrediente activo en los diferentes cultivos, principalmente en el caso de difenoconazol y del fenpropidin. El análisis del segundo muestreo será clave para aclarar más este aspecto.

1.2.4. Conclusiones

- Los resultados de las evaluaciones de la enfermedad indican que hay un efecto diferencial de control de la sigatoka negra en las zonas en las que podrían influir los otros programas de control químico, lo que supondría el efecto de la deriva desde las otras plantaciones. El efecto de la defoliación y la enfermedad se manifiestan, esta vez sí dependiendo de la finca, principalmente en el área en la que no se espera efecto de otros programas de control, lo que reforzaría lo afirmado anteriormente.
- Los resultados obtenidos hasta el momento marcan que debería haber una coordinación que evite aplicaciones cercanas del mismo ingrediente activo en los diferentes cultivos, principalmente en el caso de los ingredientes activos difenoconazol y fenpropidin. Sin embargo, el análisis del segundo muestreo será clave para aclarar más este aspecto.

1.2.5. Referencias bibliográficas

- Castelan FP, Saraiva LA, Lange F, de Lapeyre de Bellaire L, Cordenunsi BR, Chillet M. 2012. Effects of Black Leaf Streak Disease and Sigatoka Disease on fruit quality and maturation process of bananas produced in the subtropical conditions of southern Brazil. *Crop Protection* 35:127-131.
- Ewané CA, Chillet M, Castelan F, Brostaux Y, Lassois L, Essoh Ngando J, Hubert O, Chilin-Charles Y, Lepoivre P, de Lapayre de Bellaire L. 2013. Impact of the extension of black leaf streak disease on banana susceptibility to post-harvest diseases. *Fruits* 68:351-365.
- Hidalgo M, Tapia A, Rodríguez W, Serrano E. 2006. Efecto de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (*Musa* sp. AAA, cv. Valery). *Agronomía Costarricense* 30:35-41.
- Rodríguez-Gaviria PA, Cayón G. 2008. Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano. *Agronomía colombiana* 26:256-265.
- Terrero Y PI, Peñaherrera V SL, Bustamante G AJ, Cedeño G GA, Solórzano A RF, Cedeño G GA. 2020. Inducción de resistencia a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y su relación con el rendimiento de plantas de banano (*Musa* AAA) Williams. *Revista Espamciencia* 11:80-87.

1.3. SERVICIO DE SANIDAD RADICULAR EN LA ZONA DE URABÁ DURANTE EL AÑO 2021

Autores: Luz Edith Argel Roldán, Jhojan Vargas, Yuscelis Martínez y Alba Martínez

Resumen

Durante el año 2021, entre las semanas 12 a la 51, se realizaron 20 servicios de sanidad radicular, con una colecta de 222 distribuidas en 11 fincas exportadoras de banano de la zona de Urabá. El muestreo fue realizado por personal de CENIBANANO, siguiendo el protocolo establecido para tal fin y basándose en la información de cada finca, proporcionada por el productor. Las muestras fueron llevadas al laboratorio para determinar las cantidades de raíces totales (RT), funcionales (RF) y no funcionales (%RNF), así como los porcentajes de necrosis, la cantidad de los principales nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de banano y, adicionalmente se obtuvieron las frecuencias en términos de porcentaje, de las cantidades de los rangos establecidos para los parámetros evaluados. Los resultados evidenciaron que las zonas muestreadas se encuentran en un estado entre regular y deficiente, en cuanto a cantidad de raíces totales y funcionales y con un porcentaje promedio de raíces vivas de 74,39% considerado como regular para el cultivo de banano. Así mismo, los porcentajes de necrosis están en un rango medio y las cantidades de nemátodos fitopatógenos supera de manera moderada los umbrales establecidos, siendo *Radopholus similis* el nemátodo más predominante.

Palabra clave: Necrosis, Raíz funcional, Fitonemátodos

1.3.1. Introducción

Las raíces constituyen el vínculo entre la planta y el suelo, proporcionando anclaje y garantizando la absorción de agua y nutrientes. Las raíces en banano, además son fuente de reguladores de crecimiento y contribuyen determinantemente en el crecimiento de los hijos de sucesión (Price 1995). No obstante, el deterioro del sistema radicular en banano es ocasionado por diferentes factores climáticos, edáficos como por ejemplo los altos niveles freáticos, sistemas de drenajes deficientes, alta compactación, elevados contenidos de sales, entre otros y, por factores biológicos como la disminución de la actividad biológica del suelo y la presencia de nemátodos (Chávez y Araya, 2009).

El estado radicular del cultivo de banano en la zona de Urabá, se ha venido evaluado desde hace algunos años, evidenciando un sistema radicular pobre. Sin embargo, se requiere de mayor información que permita establecer el estatus de raíces para la zona de Urabá, lo que hace necesario implementar un monitoreo continuo bajo las condiciones particulares de cada finca, que permita correlacionar cuales son los

factores que están limitando el desarrollo de las raíces y como esas correlaciones afectan la productividad.

Por lo anterior CENIBANANO durante el año 2021 continuó realizando el servicio de evaluación radicular como una herramienta a nuestros productores, que les permitan identificar las zonas más críticas a nivel radicular, a la vez que puedan asociar esos resultados con análisis de salud del suelo y la productividad en sus fincas, priorizando de esta manera las zonas de manejo y optimizando sus recursos.

1.3.2. Materiales y métodos

El Servicio de sanidad radicular se realizó entre las semanas 12 y 51 en once (11) fincas exportadoras de banano de la zona de Urabá, colectando un total de 222 muestras en 798,74 ha netas. Tres (3) de las fincas se muestrearon por completo, mientras que en las otras ocho (8), por solicitud del productor solo se realizó la evaluación en algunos lotes y en tres (3) de esas ocho fincas, la evaluación de sanidad radicular de esos lotes se realizó en cuatro ocasiones, con una frecuencia de cada dos meses.

A partir de la solicitud y la información proporcionada de la finca (Cartografía, análisis de nutrición, datos de productividad, etc.) se programó la visita de nuestro técnico para realizar el muestreo, cumpliendo con todos los protocolos de bioseguridad asociados a FOC R4T y COVID-19. En la **tabla 1** se presenta un resumen del servicio ofrecido de sanidad radicular durante el año 2021.

Tabla 1. Relación de los servicios de sanidad radicular realizado en once fincas productoras de banano de exportación en Urabá durante el año 2021.

N° SOLICITUD	Municipio	AREA NETA	N° MUESTRAS EVALUADAS
SR-01	Carepa	190,28	50
SR-02*	Chigorodó	36,529	10
SR-03*	Turbo	26,29	8
SR-04*	Turbo	28,92	8
SR-05	Apartadó	73	24
SR-06	Turbo	56,46	16
SR-07	Turbo	17,21	4
SR-08	Turbo	22,15	6
SR-09	Turbo	29,97	8
SR-10	Turbo	16,4	5
SR-11	Turbo	26,31	5

SR-12*	Chigorodó	36,529	10
SR-13*	Turbo	26,29	8
SR-14*	Turbo	28,92	8
SR-15*	Chigorodó	36,529	10
SR-16*	Turbo	26,29	8
SR-17*	Turbo	28,92	8
SR-18*	Chigorodó	36,529	10
SR-19*	Turbo	26,29	8
SR-20*	Turbo	28,92	8
TOTAL ANALIZADO		798,74	222
Solicitudes			20
N° Fincas			11
N° de Informes			20

*Tres fincas evaluadas en cuatro períodos del año

La evaluación de sanidad radicular se siguió la metodología propuesta por Araya y Calvo (2001), la cual consistió en realizar un recorrido en zig-zag para seleccionar 5 plantas en estado de floración, con máximo ocho días de haber emitido la inflorescencia y no más de dos brácteas abiertas. Para la colecta de las raíces, en cada planta se realizó una cajuela del tamaño del palín (17x17x30 cm) ubicada en el intervalo entre la planta madre y el hijo de sucesión. Las muestras de raíces se colectaron evitando que las plantas a muestrear estuvieran cerca del cable o de canales, dado que estas zonas tienen condiciones diferentes bajo las cuales no está toda la población de plantas. En cada finca se tomó al menos una muestra por lote; si el área del lote superaba las 5 Ha netas, se sugirió la colecta de 2 muestras por lote. La totalidad de las raíces presentes en cada sitio de muestreo se depositaron en una bolsa plástica debidamente marcada con el número del lote y el código asignado y posteriormente fueron llevadas al laboratorio de CENIBANANO para continuar con la evaluación. Las variables evaluadas fueron: cuantificación de las raíces totales (RT), las raíces funcionales (RF) y las raíces no funcionales (RNF), estableciendo el porcentaje de raíces funcionales (%RF), porcentaje de necrosis en las raíces funcionales (%NRF), así como la extracción y posterior cuantificación al microscopio óptico de las principales especies de nematodos fitoparásitos que afectan el cultivo de banano como son *Radopholus similis*, *Helycotilenchus*, *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Hoplolaimus* y *Rotylenchus*.

1.3.3. Resultados y discusión

Los niveles óptimos de cantidad de raíces totales y cantidad de raíces funcionales se determinaron teniendo en cuenta el rango establecido por Araya y Calvo (2001), como se detalla en la **tabla 2**.

Tabla 2. Valores de referencia determinados por Araya y Calvo (2001) para clasificar la cantidad de raíces totales (RT), raíces funcionales (RF), porcentaje de raíces funcionales y porcentaje de necrosis, en plantaciones bananeras.

	Deficiente	Regular	Adecuado
Raíz Total (RT)	<70 g/planta	70-90 g/planta	> 90 g/planta
Raíz Funcional (RF)	<60 g/planta	60-75 g/planta	> 75g/planta
% Raíz Funcional	<70%	70-85 %	>85%
% Necrosis	≥30%	≥15% y <30%	<15

1.3.3.1. Raíces Totales. En las 222 muestras analizadas durante el año 2021, la cantidad de raíces totales presentó valores que oscilaron entre 3,33 y 162,6g/planta, con un valor promedio de 84,29 g/planta, el cual se considera como regular.

De las muestras analizadas, el 27,48% se ubicaron en el rango deficiente, con valores que variaron entre 56,3 y 66,68 g/planta al obtener el valor promedio de cada servicio analizado; un 35,14% de las muestras se ubicaron en el rango regular y el **37,39%** restante de las muestras analizadas presentaron niveles adecuados de raíces totales, con valores promedio de los servicios analizados que oscilaron entre 95,33 y 105,4 g/planta (**Tabla 3, Figura 1**).

Tabla 3. Datos promedio de cantidad de raíces totales (RT) y raíces funcionales (RF), porcentaje de raíz funcional (%RF) y porcentaje de necrosis (%NRF) de los diferentes servicios de sanidad radicular realizados en once diferentes fincas de banano evaluadas durante el año 2021 en la zona de Urabá.

ADECUADO	REGULAR	DEFICIENTE
----------	---------	------------

N° Servicio	Municipio	RF (g/p)	RT (g/p)	%RF	% Necrosis RF	Total Fitoparásitos
SR-01	Carepa	59,65	75,41	78,30	19,42	43.320
SR-02	Chigorodó	69,58	102,20	67,89	35,57	61.200
SR-3	Turbo	68,15	77,95	86,76	13,51	59.200
SR-4	Turbo	49,83	71,40	70,63	6,04	41.700
SR-5	Apartadó	73,23	95,33	76,21	16,72	41.913
SR-6	Turbo	82,30	105,49	77,36	25,34	53.300
SR-7	Turbo	49,65	63,6	77,65	16,71	58.200
SR-8	Turbo	64,13	89,70	71,84	32,67	52.667
SR-9	Turbo	55,50	79,98	69,75	22,49	45.950
SR-10	Turbo	59,00	103,32	56,81	34,17	50.480
SR-11	Turbo	44,68	66,68	66,74	26,93	39.280
SR-12	Chigorodó	53,92	84,32	63,93	27,53	35.040
SR-13	Turbo	57,20	64,13	88,60	19,34	50.900
SR-14	Turbo	41,03	56,30	73,87	40,64	47.450
SR-15	Chigorodó	67,92	103,74	65,30	26,25	43.280
SR-16	Turbo	62,85	74,53	84,36	11,98	26.850
SR-17	Turbo	64,78	85,25	74,29	34,33	46.300
SR-18	Chigorodó	56,2	85,96	64,45	32,07	38.120
SR-19	Turbo	80,50	95,88	84,37	13	35.990
SR-20	Turbo	57,88	89,85	62,13	29,70	33.550
PMD GRAL		62,78	84,29	74,39	22,92	44.603

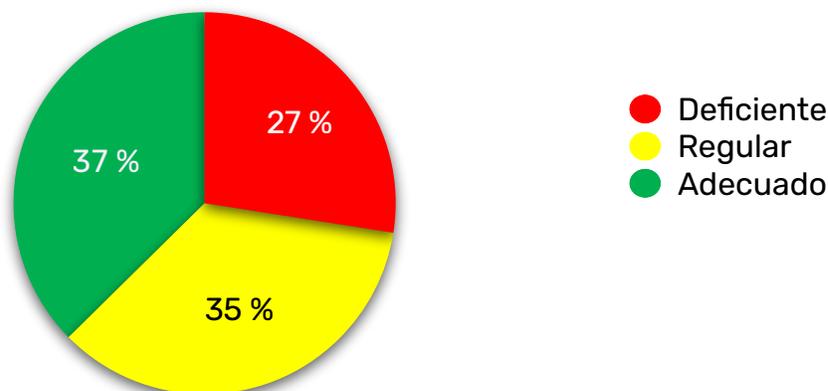


Figura 1. Frecuencia (%) de la cantidad de raíces totales en 222 muestras analizadas procedentes de once fincas de banano durante el año 2021 en la zona de Urabá, de acuerdo a los rangos establecidos por Araya y Calvo (2001).

1.3.3.2. Raíces funcionales. El muestreo realizado en la zona de Urabá, asociados al servicio de sanidad radicular evidenció que, en las 222 muestras, las raíces funcionales presentaron una variación entre 2 y 132,6 g/planta con un valor promedio para esta variable de 62,78 g/planta (**Tabla 3**), que de acuerdo a lo establecido por Araya & Calvo (2001) se considera como un nivel regular (**Tabla 2**).

De acuerdo a los rangos establecidos para las raíces funcionales, el 49,55% del total de las muestras analizadas están en el rango deficiente con valores promedio de los servicios analizados entre 41,03 y 59,65 g/planta, un 28,38% de las muestras se ubicaron en el rango regular y el restante 22,07% de las muestras, evidenciaron un nivel adecuado de cantidad de raíces funcionales con valores que variaron entre 80,5 y 82,3 (**Tabla 3, Figura 2**).

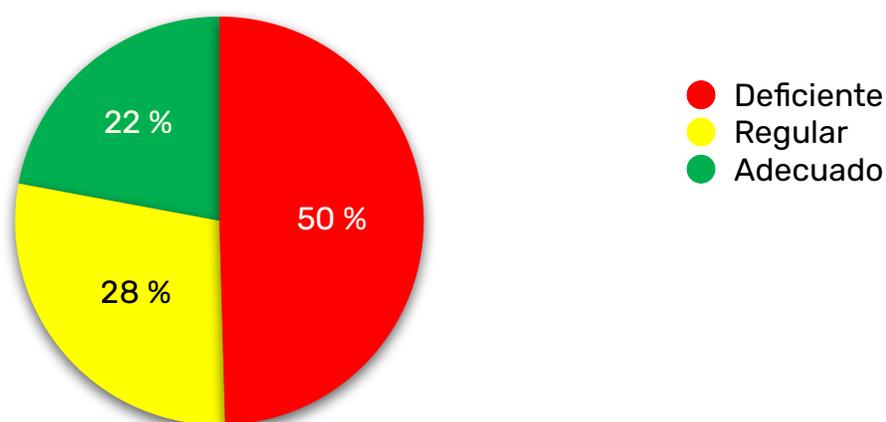


Figura 2. Frecuencia (%) de la cantidad de raíces funcionales en 222 muestras analizadas procedentes de once fincas de banano durante el año 2021 en la zona de Urabá, de acuerdo a los rangos establecidos por Araya y Calvo (2001).

Al observar las raíces funcionales en términos de porcentaje, se observa que, de las 222 muestras de raíces analizadas en la zona de Urabá durante el año 2021, en promedio son funcionales hasta en un 74,39% con porcentajes que en promedio para cada uno de los servicios analizados variaron entre 56,81 y 88,60% (La variación de las muestras fue entre 12,99 y 96,84% -datos no mostrados-) (**Figura 3**)

La muerte de raíces funcionales, estuvo en promedio en 25,61% con porcentajes promedio que variaron en los 20 servicios realizados entre 11,4 y 43,19% (**Figura 3**); mientras que la variación entre las 222 muestras fue entre 3,16 y 87,01% (datos no mostrados).

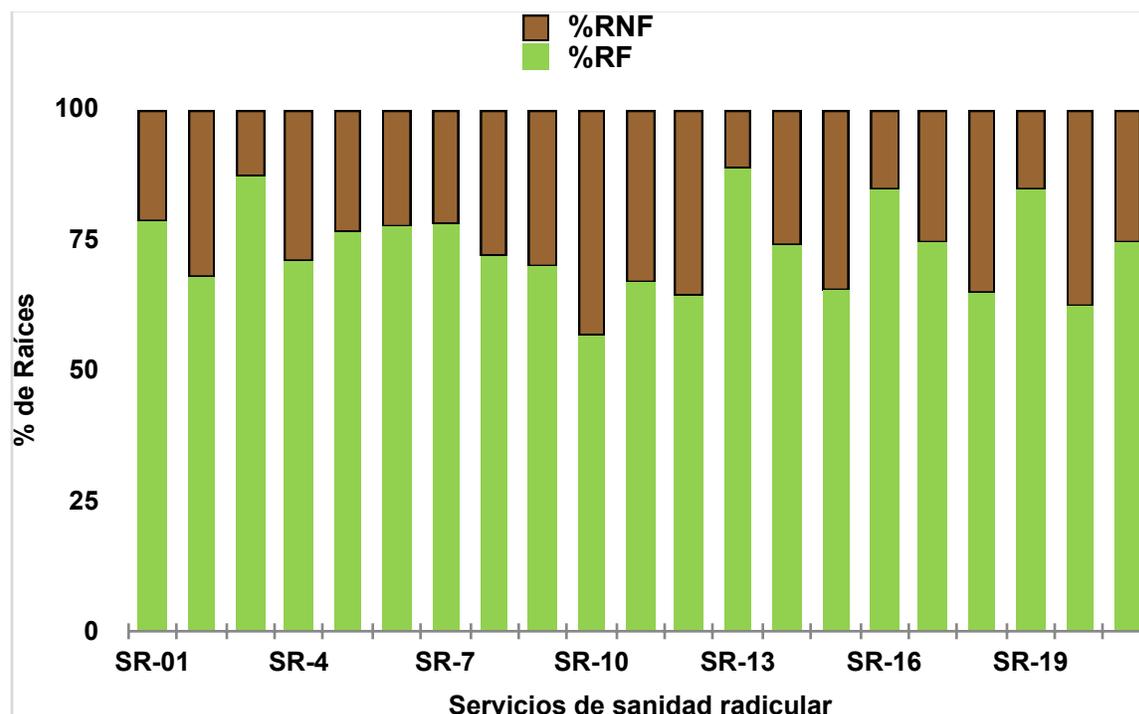


Figura 3. Porcentaje promedio de raíces funcionales vs. raíces no-funcionales (muertas) de los 20 servicios (222 muestras) de sanidad radicular realizados en once fincas bananeras en la zona de Urabá durante el año 2021.

1.3.3.3. Nemátodos fitoparásitos. La necrosis de las raíces funcionales está asociada principalmente por el daño que causa el nematodo *Radopholus similis*, considerado uno de los que mayor afectación tiene sobre las raíces del cultivo de banano. De los datos obtenidos se determinó que, en las once fincas evaluadas en la zona de Urabá durante el año 2021, el porcentaje de necrosis promedio de todas las muestras analizadas fue del 22,92%, con valores promedio para los servicios analizados que oscilaron entre 6,04 y 40,64% (Figura 4). Para las 222 muestras esta variable osciló entre 0, y 72% de necrosis (datos no mostrados).

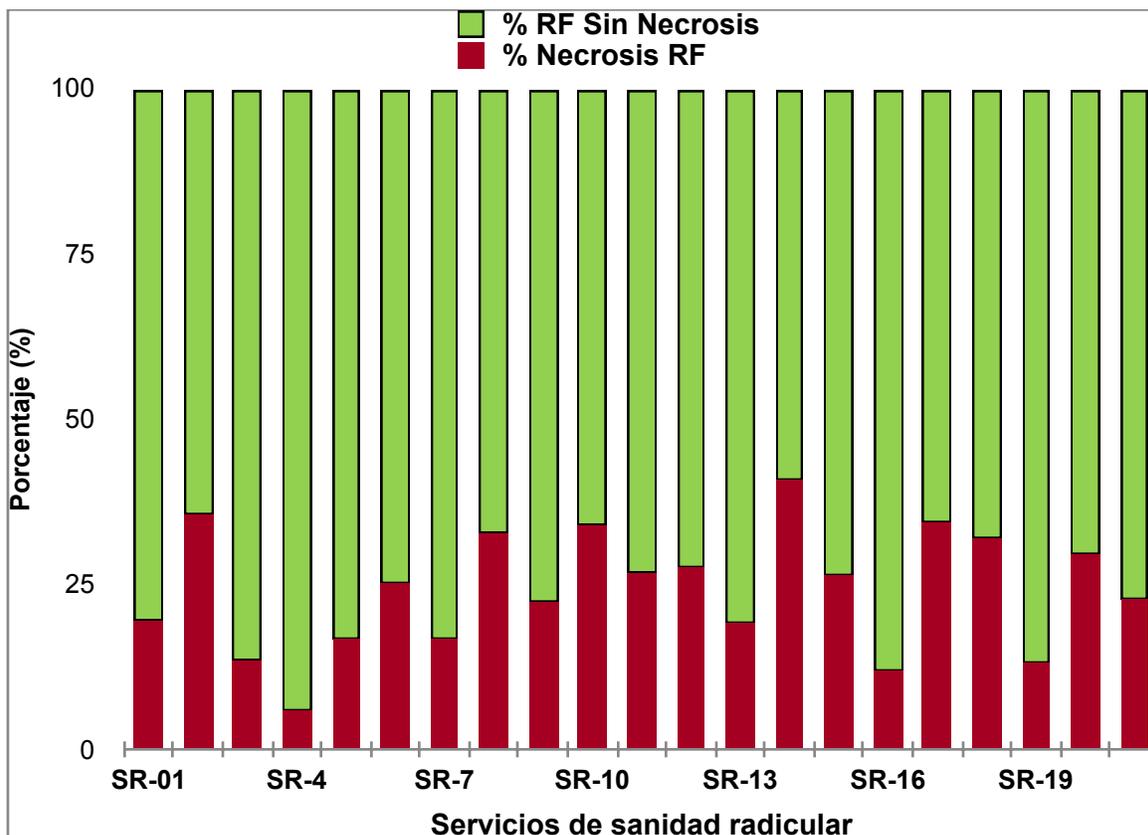


Figura 4. Porcentajes promedio de Necrosis de los 20 servicios (222 muestras) de sanidad radicular realizados en once fincas bananeras en la zona de Urabá durante el año 2021.

Al realizar la extracción y conteo de los nematodos fitopatógenos, se encontró que el 4, 50 % de las muestras analizadas presentaron entre 0-10.000 nemátodos fitopatógenos, el 20,27% contenían entre 10.001 a 30.000 individuos, el 54,50% se ubicó en el rango de 30.001 y 60.000 individuos, un 17,12% contenían entre 60.001 a 90.000 individuos y el 3,60% contenían más de 90.001 nemátodos fitopatógenos (**Figura 5**).

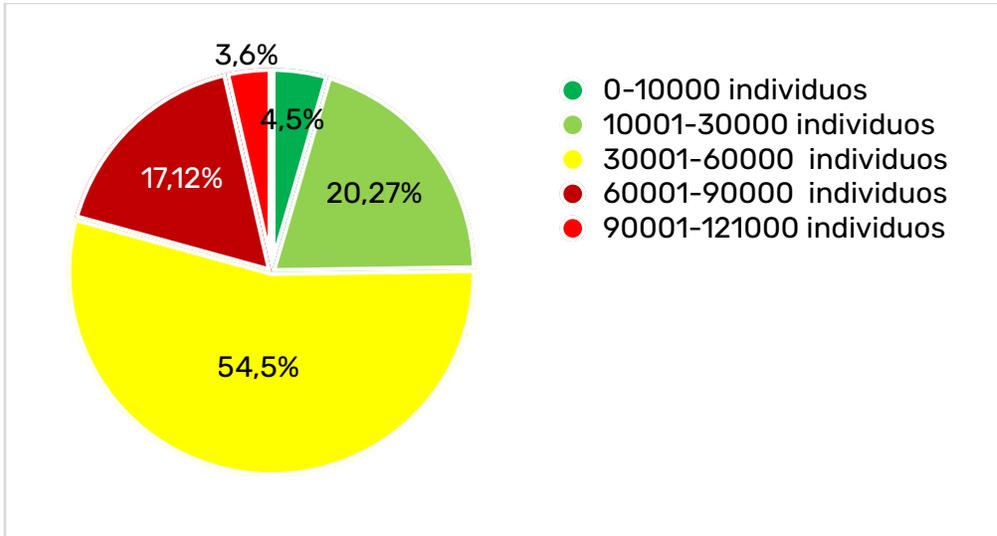
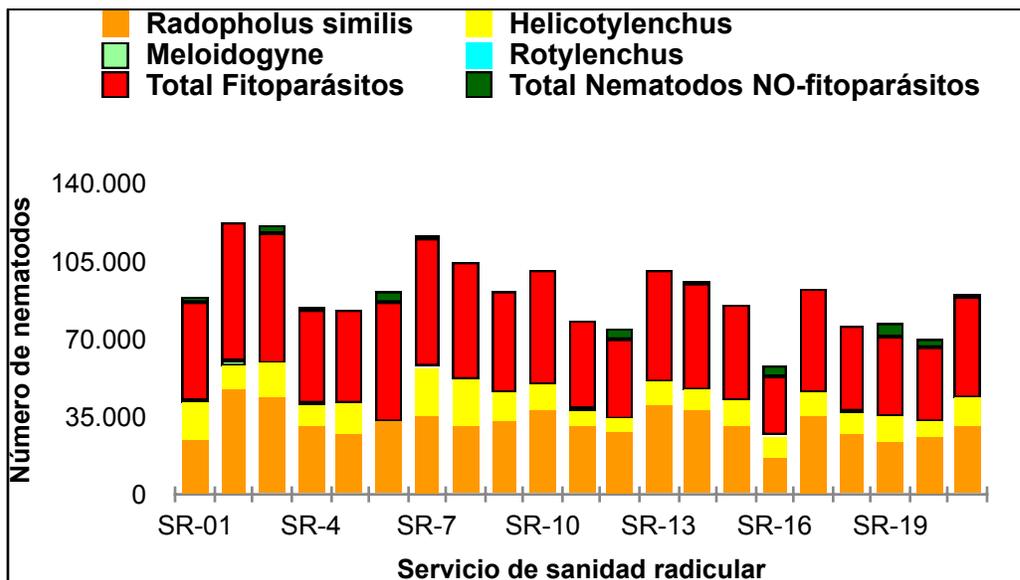


Figura 5. Frecuencia (%) de cantidades de nemátodos fitopatógenos en 222 muestras analizadas procedentes de once fincas de banano durante el año 2021 en la zona de Urabá.

En las fincas analizadas durante el año 2021, la mayor cantidad de nemátodos fitopatógenos encontrados correspondió al género *R. similis*, con un valor promedio de 30.474 individuos en 100 gramos de raíces, seguido del género *Helicotylenchus* con 13.474 individuos y en promedio la cantidad de nematodos fitopatógenos para la zona de Urabá en las 222 muestras analizadas durante el año 2021 fue de 44.603 individuos con valores que oscilaron para los 20 servicios analizados entre 26.850 y 61.200 (**Figura 6**). La variación para las 222 muestras fue de 0 a 198.800 individuos (datos no mostrados).



1.3.4. Conclusiones

- De acuerdo a los datos promedio obtenidos de la cantidad de raíces totales y de la cantidad de raíces funcionales se pudo establecer que en las zonas evaluadas en las once fincas analizadas en la zona de Urabá, se encuentran en un nivel entre regular y deficiente para ambos parámetros; encontrando que en las raíces totales más del 60% de las muestras evaluadas se ubicaron entre los rangos **deficiente y regular**, situación que es más crítica en el caso de las raíces funcionales con más del 77% de las muestras en éstos mismos rangos, evidenciando una pérdida importante de funcionalidad de las raíces.
- En promedio el 74,39% de las raíces son funcionales (están vivas), porcentaje que se considera regular, dado que para el cultivo del banano lo ideal es que las raíces sean funcionales mínimo en un 85%; por tanto se debe tener especial atención a los factores que puedan estar generando la muerte de las raíces, dado que el porcentaje promedio de muerte de raíces fue del 25,61% pero en algunos servicios este porcentaje alcanzó en promedio hasta el 43% de muerte de raíces y en algunas muestras esta variable supero 70%. A su vez la necrosis observada fue en promedio del 22,92% valor que tiende a ser alto y que suma a la deficiencia de raíces funcionales presente en este análisis.
- En las zonas muestreadas de las once fincas en la zona de Urabá, el nemátodo fitopatógeno predominante fue *R. similis* con más de 30.000 individuos, seguido de *Helycotilenchus* con alrededor de 13.000 y para los demás géneros la variación estuvo en promedio entre 13 y 500 individuos.
- Las poblaciones de nematodos fitopatógenos presentes en las 222 muestras colectadas en las once fincas de Urabá durante el año 2021, estuvieron predominantemente en el rango de los 30.000 a 60.0000 individuos (54,5%) y solo un 4,5% de las muestras presentaron menos de 10.0000 nematodos. Lo que evidencia una vez más que en la zona de Urabá las poblaciones de nematodos siempre se han estado por encima de los valores reportados para otros países donde se cultiva banano, principalmente en América Latina y el Caribe.

1.3.5. Referencias bibliográficas

- Araya, M. y Calvo, C. (2001). Cantidad de raíces de banano en los diez cantones productores de Costa Rica. *CORBANA*, 27(54), 47-64
- Chávez-Velazco C.; Araya-Vargas M. (2009). Correlación entre las características del suelo y los nematodos de las raíces del banano (*Musa AAA*) en Ecuador. *Agronomía mesoamericana* 20(2):361-369
- Price N.S. (1995). Banana morphology 1: roots and rhizomes. *in* Bananas and Plantains (S. Gowen ed.). Chapman and Hall, London. 190-205.

1.4. EVALUACIÓN *in vitro* DE DESINFECTANTES A BASE DE AMONIO CUATERNARIO COMO MECANISMO DE PREVENCIÓN DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* RAZA 4 TROPICAL

Autores: Laura Arango Palacio, Lilliana María Hoyos Carvajal, Daniel Felipe Ospina Galeano, Andrés Mauricio Pinzón Núñez, Sebastián Zapata Henao.

Resumen

El cultivo del banano es uno de los principales productos de exportación de Colombia. Sin embargo, su producción se ve seriamente afectada por la marchitez, considerada como la enfermedad más destructiva, ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc). Actualmente, las estrategias de manejo están enfocadas en protocolos de contención y bioseguridad para prevenir su propagación a otros territorios declarados libres de la enfermedad, siendo la desinfección la estrategia más efectiva. En ese orden de ideas, el objetivo del presente estudio, fue evaluar a nivel *in vitro* 8 desinfectantes a base de amonio cuaternario como mecanismo de prevención frente a estructuras reproductivas y de resistencia de Foc raza 1. Del mismo modo, determinar la influencia de la materia orgánica y la textura frente a la acción de los desinfectantes. Para ello, se evaluaron desinfectantes a 1200 ppm y 2000 ppm en un tiempo de 30 segundos tanto en ausencia y presencia de suelo, realizando interacción suelo en inóculo e interacción suelo en desinfectante, además se realizaron ensayos con diferentes clases texturales y prácticas de nivelación con la adición de suelo. En ausencia de suelo, los desinfectantes inhibieron la población del patógeno un 100%, en cuanto a la interacción suelo inóculo, tanto para las estructuras reproductivas como de resistencia la eficiencia fue del 100% en todos los desinfectantes evaluados. En la interacción suelo desinfectante, sólo el QAC_c (cloruro de alquil dimetil bencil amonio al 1%) y QAC_d (cloruro de di (octil decil) dimetilamonio al 1% + cloruro de benzalconio al 13,5%) controlaron un 100% el patógeno. Cabe anotar que la presencia de materia orgánica influye en la acción biocida del desinfectante, disminuyendo su eficacia en el control de la enfermedad, del mismo modo se observó que las texturas finas presentaron un mayor efecto reductor de la concentración, en comparación a las demás texturas evaluadas.

Palabras clave: Desinfección, control, inhibición, marchitez, banano, clamidosporas.

1.4.1. Introducción

El banano es una de las frutas tropicales más importantes de Colombia y el mundo (Tirado & Herrera 2020; Peñafiel 2020), siendo un alimento de primera necesidad en países en desarrollo, debido a su alto valor nutricional (FAO 2021). A su vez, ha sido catalogado como uno de los principales cultivos de exportación (Drenth & Kema

2021), generando empleo para más de 400 millones de personas en todo el mundo, que dependen de este cultivo como alimento o fuente de ingresos (FAO 2018).

En ese contexto, los países de América Latina se destacan como los principales exportadores (Manzo, Orozco, Martínez, Garrido & Canto 2014), ubicando a Colombia como el quinto país exportador. Según datos de la Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA, 2020), actualmente se cuentan con 51,454 hectáreas reportadas, distribuyéndose en la subregión del Urabá, departamento de Antioquia con 35.440 ha, lo que representa una productividad de 2.023 cajas*ha⁻¹, seguido por los departamentos de Magdalena y la Guajira con 16,014 hectáreas plantadas.

En ese sentido, se estima que para el año 2028 habrá una producción mundial de 135 millones de toneladas de banano (FAO 2019), sin embargo, la marchitez por *Fusarium*, una de las enfermedades fúngicas más devastadoras en la historia del banano, amenaza seriamente su producción (Stover & Simmonds 1987). *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), agente causal de la enfermedad, es un hongo habitante natural del suelo que provoca efectos destructivos en la planta, bloqueando su sistema vascular, impidiendo la absorción de agua y nutrientes ocasionando marchitez y seguidamente su muerte (Dita, Barquero, Heck, Mizubuti, & Amp 2018). De igual manera, este hongo presenta una alta variabilidad genética, como consecuencia de procesos evolutivos, lo que ha generado la aparición de diferentes razas fisiológicas, afectando diversos cultivares de banano (Waite y Stover, 1960).

En esa medida, la primera epidemia la generó la raza 1 (R1) que devastó las plantaciones de banano de la variedad Gros Michel a nivel mundial, provocando pérdidas aproximadas por más de USD 2,300 millones, lo que conllevó a la sustitución de Gros Michel a cultivares Cavendish resistentes a R1, representando actualmente la variedad básica del comercio mundial (Prez Vicente 2014). Sin embargo, la aparición de una nueva variante de *Fusarium*, mucho más agresiva, denominada Raza 4 Tropical (R4T), originada en el sudeste asiático y clasificada recientemente como *Fusarium odoratissimum* por Maryani et al. (2019), afecta drásticamente los clones Cavendish, lo que ha generado una gran preocupación en la industria bananera, debido a las pérdidas que podrían ocasionar y que se estiman en USD 121 millones en Indonesia, USD 253 millones en Taiwán y USD 14 millones en Malasia, principales países productores del mundo (Aquino et al. 2013).

Recientemente, la eventual llegada de Foc R4T a Colombia, más exactamente al departamento de la Guajira en el año 2019, posteriormente reportado por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú en su territorio (Olivares et al. 2021), y

recientemente un nuevo caso reportado en Colombia, más exactamente en el departamento del Magdalena, ha generado gran preocupación y activado la alerta en el gremio bananero latinoamericano, poniendo en marcha diversas estrategias de contención y prevención. Cabe anotar, que Foc R4T puede sobrevivir durante largos períodos en el suelo debido a la producción de estructuras de resistencia denominadas clamidosporas que pueden perdurar hasta por 30 años en el suelo (Ploetz 2006). Aunado a esto, la fácil diseminación de sus estructuras reproductivas como microconidios y macroconidios, el escaso conocimiento de la epidemiología de la enfermedad y la falta de alternativas de manejo, hacen aún más difícil su control.

Es así que el manejo convencional de Foc R4T mediante la utilización de compuestos de amonio cuaternario (QACs), son una alternativa orientada a ser utilizada en protocolos de prevención. Los QACs son tensioactivos, penetran en las membranas de los microorganismos destruyendo proteínas y ácidos nucleicos, lo que conduce a la muerte celular (Gerba 2015). Finalmente, considerando la amenaza que ha generado R4T en el sector bananero, es necesario evaluar la acción biocida y efectividad de desinfectantes comerciales disponibles en el mercado colombiano sobre la supervivencia de estructuras reproductivas y de resistencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* R1, con el fin de realizar un plan de desinfección tanto en fincas bananeras como en lugares estratégicos y así contener la enfermedad, del mismo modo, determinar la influencia de la materia orgánica y la textura frente a la acción de los mismos.

1.4.2. Materiales y métodos

El ensayo se llevó a cabo en el laboratorio del Centro de Investigaciones del Banano (CENIBANANO) ubicado en la subregión del Urabá-Antioquia (7° 49'25 "N 76 ° 38'55 "W). Cabe resaltar que debido a las restricciones y al alto riesgo que implica trabajar con la cepa de Foc R4T en el Urabá, zona declarada libre del patógeno, la presente investigación se desarrolló utilizando una cepa de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* R1, descrita a continuación.

1.4.2.1. Material fúngico y producción de inóculo- A partir de la cepa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 1 codificada como IB, de la colección de hongos del laboratorio de CENIBANANO, aislada a partir de muestras de pseudotallo sintomático de plantas de banano Manzano (AAB) de la finca comercial "La Isla Bonita" (lat. 7 ° 48'08 " N, long. 76o41'25 " W) con un historial de presencia de Foc R1 de 12 años y conservadas previamente por el método de papel filtro, se tomó un papel y se activó colocando un fragmento en el centro de una caja Petri, que contenía medio de cultivo

Agar Papa Dextrosa (PDA) (Difco ™, Becton, Dickinson and company), suplementado con cloranfenicol (Colmed international ®) a una concentración de 100 ppm para evitar la contaminación bacteriana, incubado durante 7 días a 27 °C, hasta obtener microconidios y macroconidios. La concentración de estructuras reproductivas se ajustó a 1×10^5 conidios. mL^{-1} para su posterior uso.

Por otra parte, para la producción de clamidosporas, se tomó suelo con textura franco arcillosa de un cultivo convencional de banano y fue sometido a un proceso de secado durante una semana, licuado y tamizado (2mm), para obtener una textura fina y así generar caldo de suelo, siguiendo el protocolo modificado descrito por Nguyen (2019). Inicialmente, se mezclaron 125 g de suelo en 500 ml de agua destilada en un matraz de 2 litros, se agitó a 90 revoluciones por minuto (rpm) durante 1 hora, luego de agitar la mezcla se filtró a través de 8 capas de gasa, para extraer las partículas más grandes. La solución obtenida se distribuyó en tubos falcon de 50 ml y se centrifugó durante 10 min a 6000 rpm. Lo extraído de la centrífuga se vertió en un matraz y se esterilizó en una autoclave durante 20 minutos a 121°C y se dejó reposar durante 24 horas. Posteriormente, el caldo de suelo obtenido se decantó en Erlenmeyer de 250 ml (50 ml de caldo por Erlenmeyer) y se esterilizó nuevamente en autoclave durante 20 min a 121°C.

Para estimular la producción de clamidosporas, se tomó un cultivo de 7 días de *F. oxysporum* f.sp. *cubense* R1 "IB" crecido en medio PDA (Difco ™, Becton, Dickinson and company), posterior a ello, se adiciono 10 ml de agua destilada estéril (ADE) en la caja Petri y con asa Drigalski se frotó la superficie hasta observar una adecuada dispersión del micelio en la solución, el contenido del medio fue vertido a través de una capa de gasa estéril para separar las conidios del resto de micelio. Seguidamente se realizó el recuento de conidios utilizando cámara de Neubauer para estimar la concentración.

Posteriormente, cada Erlenmeyer con caldo de suelo (50 ml) se inoculó con 400 μl de una solución a 2.5×10^6 conidios. mL^{-1} de Foc y se dejó en agitación mínimo por 5 días a 90 rpm a temperatura ambiente, con 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Finalmente, para la captura de las clamidosporas, el caldo de cultivo se filtró con una gasa estéril atrapando los grumos de micelio con las clamidosporas, luego estos grumos se vertieron en un vaso de precipitado con 10 ml de ADE y se agitaron para liberar las clamidosporas hasta que el micelio ya no fuera visible. La concentración de clamidosporas se determinó usando la cámara de Neubauer y se ajustó a 1×10^5 clamidosporas. mL^{-1} para su posterior uso.

1.4.2.2. Cinética de crecimiento de *Fusarium* en diferentes ambientes. Se determino la cinética de crecimiento de Foc en diferentes ambientes, para establecer cuál era su crecimiento a lo largo del tiempo; para ello se utilizaron 3 matraces de 250 ml para cada uno de los tratamientos evaluados, realizando 3 siembras de las soluciones en cajas Petri que contenían PDA suplementado con 100 ppm de cloranfenicol. Cada uno de los matraces fueron llevados a un volumen de 100 ml, el tratamiento que contenía suelo se realizó en una relación 1:10, es decir, 0,1 g suelo. mL⁻¹ de ADE o desinfectante según correspondiera el tratamiento, el desinfectante se llevó a una concentración de 1200 ppm aforando posteriormente con ADE. Cabe resaltar que los tratamientos que contenían suelo fueron sometidos a 3 agitaciones (Mañana, tarde y noche) por cada día de evaluación, simulando así el paso y pisoteo que ocurre en los pediluvios al momento del ingreso de los operarios. El contenido de conidios con las que se inoculo cada tratamiento fue a una concentración de 1x10⁵ conidios. mL⁻¹. Inmediatamente se tenían las soluciones, se les agrego el inoculo y dependiendo del tratamiento las cantidades de un suelo franco arcilloso previamente autoclavado durante 20 minutos a 121°C. Para la siembra se tomó 1 ml de la solución madre del tratamiento y se realizó dilución de esta a 1x10⁻¹ para facilitar el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC), realizando evaluación desde las 0 h hasta las 120 h (**Tabla 1**).

Tabla 1. Descripción de los ambientes en los que fue sometido el crecimiento de Foc, el tiempo de evaluación y el desinfectante trabajado QAC_a con un ingrediente activo de cloruro de didecil dimetil amonio.

Metodología	Tiempo de evaluación (Horas)	Desinfectante
	0	
Agua destilada estéril (ADE)	12	
	24	
ADE + suelo	48	QAC_a
	72	
Desinfectante	96	
	120	
Desinfectante + suelo		

1.4.2.3. Estandarización Inhibidor (Caldo Letheen). Para inhibir el efecto de los desinfectantes luego del tiempo de contacto de ≤ 30 segundos, se utilizó caldo Letheen modificado, compuesto por extracto de carne, peptona y soya (Difco [™], Becton, Dickinson and company). Inicialmente, se definieron 5 tratamientos con diferentes concentraciones del inhibidor y el desinfectante, teniendo en cuenta que la concentración recomendada de $43,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ no evidencio efecto inhibitorio, puesto que, se realizó una solución de 150 ml de ADE a la que se le adiciono 2 y 3 veces más la dosis recomendada de caldo Letheen (13,14 g y 19,71 g Letheen * 150 ml), posterior a ello se llevó a autoclave durante 20 minutos a 121°C , se dejó reposar y finalmente se desarrollaron los diferentes tratamientos para evaluar la eficiencia de los desinfectantes a base de QAC (**Tabla 2**).

Tabla 2. Tratamientos evaluados para la estandarización de la dosis ideal del inhibidor Caldo Letheen.

Tratamiento	Descripción
T1	900 μl desinfectante [1200 ppm] + 1 ml inhibidor (Estándar)->100 μl suspensión de esporas
T2	900 μl desinfectante [1 200 ppm] + 1 ml inhibidor [2* Estándar]->100 μl suspensión de esporas
T3	900 μl desinfectante [1200 ppm] + 1 ml inhibidor [3* Estándar] ->100 μl suspensión de esporas
T4	900 μl desinfectante [2 400 ppm] + 1 ml inhibidor [3* Estándar] -> 100 μl suspensión de esporas
T5	100 μl suspensión de esporas + 900 μl ADE-> 1 ml ADE

1.4.2.4. Preparación de desinfectantes. Se utilizaron 8 desinfectantes a base de amonio cuaternario (**Tabla 3**), la concentración se ajustó según Nguyen (2019) a 1200 ppm aforando con ADE según las cantidades y concentraciones requeridas. Para los tiempos de contacto evaluados en estructuras reproductivas y de resistencia tanto en ausencia y presencia de suelo, se estandarizó el tiempo a ≤ 30 segundos, simulando el tiempo utilizado por un operario durante el proceso de desinfección en pediluvio. Del

mismo modo, para los tratamientos donde no se evidencio eficiencia de los amonios cuaternarios frente a las diferentes estructuras del patógeno, se aumentó la concentración a 2000 ppm siguiendo la metodología anteriormente descrita.

Tabla 3. Desinfectantes evaluados y sus características químicas (principio activo y generación de compuestos de amonio cuaternario). Los amonios cuaternarios identificados con las letras corresponden a diferentes marcas comerciales.

Amonio Cuaternario	Ingrediente Activo	Generación
QAC_a	cloruro de didecil dimetil amonio 12%	4°
QAC_b	cloruro de didecil dimetil amonio 12%	4°
QAC_c	cloruro de alquil dimetil bencil amonio 80%	3°
QAC_d	cloruro de di (octil decil) dimetilamonio al 1%, cloruro de benzalconio al 13,5%	5°
QAC_e	cloruro de di (octil decil) dimetilamonio al 0,4%, cloruro de benzalconio al 1%	5°
QAC_f	cloruro dimetilbenzil amonio 12%	5°
QAC_g	mezcla de amonio cuaternario 10%	5°
QAC_h	mezcla de amonio cuaternario 10%	5°
QAC_i	mezcla de amonio cuaternario 8%	5°

Con el fin de evaluar todas las situaciones que se pueden encontrar en campo, se realizaron 3 ensayos diferentes simulando **i.** Pediluvio con una solución desinfectante libre de contaminación de suelo, la cual, será representando por el ensayo ausencia de suelo, **ii.** Pediluvio con una solución desinfectante limpia a 1200 ppm, simulando la entrada de un operario con sus botas contaminadas con suelo, donde puede estar adherido el patógeno, representado por el ensayo interacción suelo en inoculo, **iii.** Pediluvio totalmente contaminado con suelo, de igual forma simulando el ingreso de un operario, representado por el ensayo interacción suelo en desinfectante; esto con

el fin de evaluar la eficiencia que presentan los diferentes amonios trabajados en los diferentes ambientes expuestos.

1. Ensayo en ausencia de suelo. El ensayo en ausencia de suelo se realizó adicionando en tubos de 2 ml, 100 μ l de la solución de inóculo a una concentración de 1×10^5 conidios/clamidosporas. mL^{-1} , tanto para estructuras reproductivas como de resistencia y 900 μ l de cada desinfectante diluidos en ADE a concentraciones de 1200 ppm. Posteriormente, se realizó agitación durante el tiempo de contacto de ≤ 30 segundos, enseguida, se adicionó 1 ml de inhibidor agitándose suavemente. El tratamiento control consistió en 100 μ l de la solución de inóculo, 900 μ l de ADE, más 1 ml del inhibidor. Luego se tomó una alícuota de 100 μ l y se vertió en placas de Petri con PDA suplementado con 100 ppm de cloranfenicol. Todas las placas se incubaron a 27°C durante 48 h, tras lo cual se contaron las UFC, realizando una dilución 1×10^{-1} para facilitar su conteo.

2. Ensayo en presencia de suelo (interacción suelo en inóculo). El ensayo en presencia de suelo, se realizó adicionando en un tubo falcon de 50 ml, 1.0 g de suelo franco arcilloso con 2,02% de materia orgánica (datos no presentados) que contenía previamente 10 ml de la solución de inóculo en una relación 1:10. Posteriormente, se dejó en agitación a 90 rpm durante 24 h. Pasado el tiempo de incubación se adicionó en tubos de 2 ml 100 μ l de inóculo, 900 μ l de desinfectante (1200 ppm), tiempo de contacto (≤ 30 segundos) y finalmente 1 ml de inhibidor.

3. Ensayo en presencia de suelo (interacción suelo en desinfectante). Cada solución de 10 ml de desinfectante, se ajustó a una concentración de 1200 ppm y se adicionó 1 g de suelo franco arcilloso, se homogenizó e inmediatamente se realizó el proceso anteriormente descrito en tubos de 2 ml, adicionando 100 μ l de inóculo, 900 μ l de desinfectante (1200 ppm), tiempo de contacto (≤ 30 segundos) y finalmente 1 ml de inhibidor.

5. Diseño experimental y análisis estadístico. Para cada uno de los tratamientos (**Tabla 4**) se realizaron tres réplicas biológicas, teniendo tres unidades experimentales. Para cada unidad se utilizaron tres placas Petri, obteniendo nueve pseudo repeticiones. El diseño experimental fue completamente aleatorio y los resultados se analizaron utilizando el software y lenguaje de programación R project (versión 4.0.5, R coreteam, 2021) mediante pruebas no paramétricas, debido a que no se cumplieron los supuestos de normalidad. Finalmente, los datos fueron analizados mediante la prueba de *Kruskal-Wallis* con un nivel de significancia de $p = 0.05$.

Tabla 4. Descripción de los tratamientos realizados para evaluar la eficiencia de los desinfectantes a base de QAC.

Tratamiento	Descripción
1	100 µl inóculo + 900 µl desinfectante ≤ 30 s + 1 ml inhibidor
2	100 µl inóculo+ 900 µl ADE (agitación) + 1 ml inhibidor
3	900 µl desinfectante + 1 ml inhibidor (agitación) + 100 µl inóculo
4	100 µl inóculo + 900 µl ADE (agitación) + 1 ml ADE

6.Caracterización de suelo y evaluación de la influencia de la textura con respecto a los QAC. Se realizó una caracterización de textura de una muestra de suelo del campo experimental Ramiro Jaramillo Sosa de Augura-Cenibanano ubicado en la región del Urabá, las muestras fueron enviadas al laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Colombia- sede Medellín. Clasificando una textura Arcillosa como fina con un contenido de materia orgánica (MO) del 2,09%, una Franco arcillosa como media evidenciando un porcentaje de MO de 2,50% y una Franco arcillo arenosa como gruesa con 1,91% de MO. Posteriormente, fueron sometidas a un proceso de secado durante una semana, licuado, tamizado en tamiz de 2 mm y pesados en las siguientes cantidades: 0 g, 0.25 g, 0.5 g, 0.75 g y 1 g de suelo, según el ensayo y tratamiento correspondiente (**Tabla 5**).

Tabla 5. Clasificación textural de muestras de suelo obtenidas del Campo Experimental Ramiro Jaramillo Sosa y variables evaluadas.

Textura	% MO	Cantidad de suelo	Tiempo evaluado (Horas)	Desinfectantes evaluados (1200 ppm)
Fina	2.09	0 g	0 h	QAC_a
		0,25 g	2 h	QAC_b
Media	2.5	0.5 g	12 h	QAC_c
		0.75 g	24 h	QAC_d
		1 g	36 h	QAC_e
Gruesa	1.91			QAC_f
				QAC_g

Enseguida, se dispusieron en tubos para centrifuga de 50 ml, a los cuales se les adicionaron 20 ml de solución desinfectante de QAC a una concentración de 1200 ppm. La selección de las soluciones de QAC para determinar el efecto de las diferentes texturas evaluadas se llevó a cabo teniendo en cuenta los mejores resultados obtenidos con respecto a la inhibición de Foc y los dos que evidenciaron menor acción inhibitoria.

Del mismo modo, se evaluó la concentración en varios momentos desde las 0 horas, 2 h, 12 h, 24 h y 36 h. La variable respuesta fue la concentración de la solución que fue medida con tirillas indicadoras (Precision Laboratories, High Level QAC Test Strip) teniendo como referencia de medición la variación colorimétrica, definida en una escala que indica las concentraciones en ppm de 1500, 1000, 750, 400, 200 y 0. Debido a que las tirillas con las que se iba a realizar la medición no presentan la concentración de referencia de 1200 ppm, se realizó una estandarización de ello, por lo que, se realizaron todas las soluciones a 1200 ppm y estas indicaban una colorimetría en tirilla de 1000 ppm, por tanto, se estableció que las soluciones que no presentaban reducción en la concentración marcarían un color de tirilla de 1000 ppm. En total fueron 15 unidades experimentales por cada producto evaluado.

7. Ensayo nivelación. El ensayo consistió en evaluar la concentración de 20 ml de solución desinfectante de QAC a 1200 ppm en tubos Falcon de 50 ml, a los que se le adicionaron 0.5 g y 1 g de suelo Franco limoso (equivalentes a 25 y 50 g de suelo*1000 ml⁻¹ de solución, respectivamente). Posteriormente, mediante tirillas indicadoras, se determinó la variación de la concentración en diferentes tiempos de muestreo, a saber: 0 h, 2 h, 6 h, 12, 24 h, 30 h, 36 h y 48 h. Al realizar la lectura de cada solución, si la tirilla indicaba una concentración inferior a 1200 ppm se adicionaba 1 ml de una solución stock que garantizara una nivelación hasta 1200 ppm según tratamiento. Las soluciones stock se prepararon con base a la diferencia entre la concentración que indicaba la tirilla y la concentración estándar de 1200 ppm (Datos no presentados). Los tratamientos se definieron con respecto al tiempo en que se realizaba la nivelación y la cantidad de suelo adicionado (**Tabla 6**).

Tabla 6. Descripción de los tiempos evaluados y en los que se requieren realizar nivelación.

Cantidad de suelo	Tiempo evaluado (Horas)	Desinfectantes evaluados (1200 ppm)
	Sin Nivelación (SN)	
	0 h	
	6 h	
0.5 g	12 h	QAC_a
1g	24 h	
	0; 6 h	
	0; 6, 12h	
	0; 6; 12; 24 h	
	Sin suelo (1200 ppm)	

3. Resultados y discusión

El presente trabajo se realizó utilizando una cepa de Foc R1 debido a diversos factores que impedían trabajar con la cepa Foc R4T aislada del departamento de la Guajira. Primeramente, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) como autoridad fitosanitaria de Colombia es la única entidad responsable para la toma de muestras y manipulación de las mismas. En segundo lugar, el nivel de riesgo en una zona declarada libre de *Fusarium* Raza 4 Tropical como lo es el Urabá Antioqueño principal región de exportación era muy alta. Sumado a esto, estudios realizados por Nguyen y colaboradores (2019), demostraron que, cepas de Foc R1 y Foc R4T presentan un mismo comportamiento al ser evaluadas en diferentes desinfectantes QAC, por tales razones, los resultados obtenidos en esta investigación pueden ser adaptados como mecanismo de prevención para Foc R4T.

1.4.3.1. Cinética de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El patrón de germinación observado en las estructuras reproductivas de Foc fue máxima a las 48 h, en los tratamientos que presentaban solo ADE y ADE junto con suelo (**Figura1A, B**). Estudios anteriores realizados por Palmero et al., (2009), sobre la germinación de estructuras reproductivas de especies de *Fusarium* mostraron que la germinación máxima en medios acuosos ADE, sin suelo, llega entre las 24 y 48 h de incubación del patógeno. Por otra parte, en el tratamiento del desinfectante a 1200 ppm no se observó crecimiento en ninguno de los tiempos evaluados, comparado con los demás tratamientos (**Figura1C**). En el tratamiento de desinfectante + suelo se evidenció crecimiento desde las 0 h alcanzando un pico máximo entre las 72 y 96 h de

evaluación obteniendo entre 61.000 y 64.000 UFC (**Figura 1D**). El suelo presenta una interacción en el crecimiento del patógeno, puesto que, el contenido de materia orgánica presente favorece la colonización del hongo, permitiendo una mayor germinación de conidios y consecuentemente una mayor multiplicación y propagación (Newcombe, 1960).

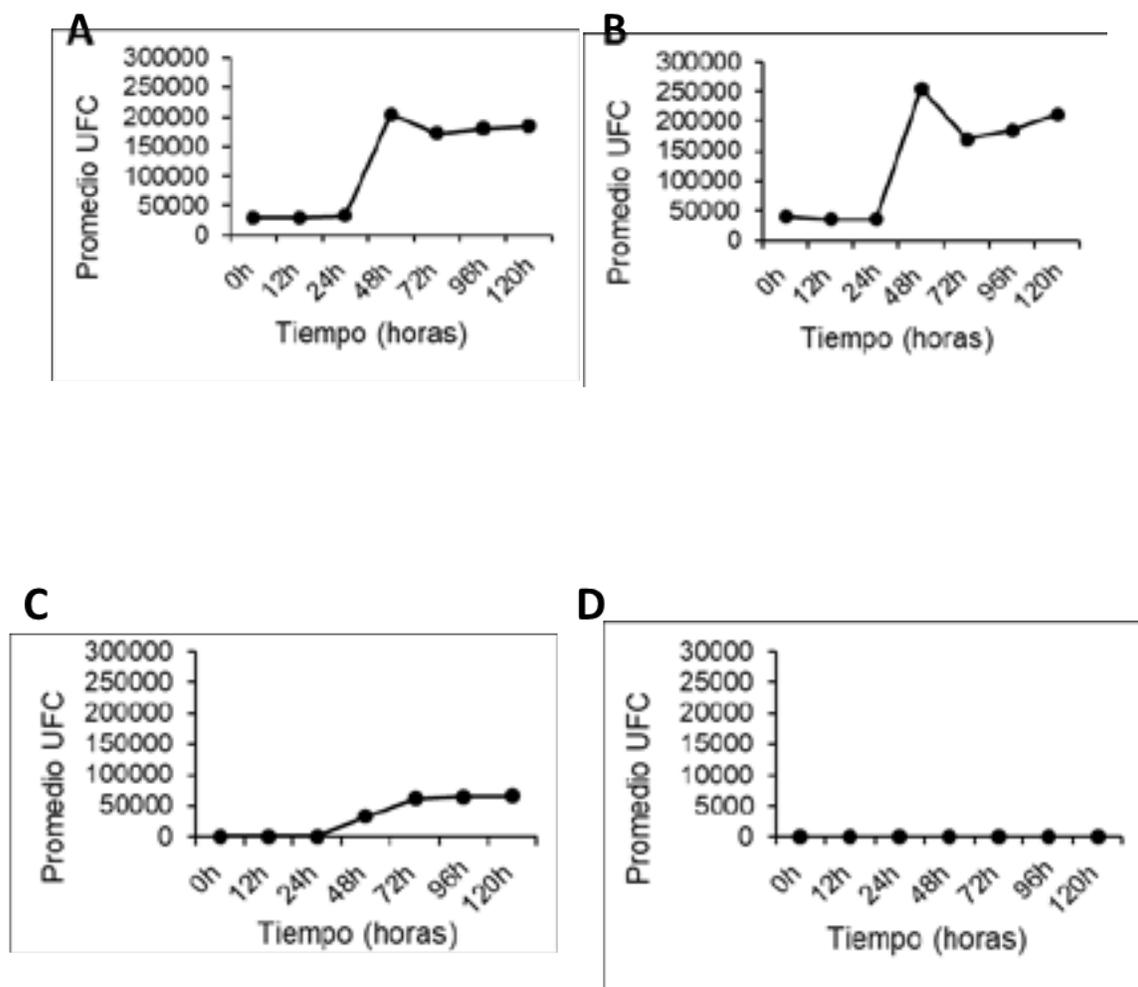


Figura 1. Cinética de crecimiento de *Foc* en los diferentes ambientes evaluados. (A) Crecimiento de *Foc* en agua destilada estéril; (B) Crecimiento de *Foc* en agua destilada estéril más adición de suelo; (C) Crecimiento de *Foc* en desinfectante QAC_a; (D) Crecimiento de *Foc* en desinfectante QAC_a más adición de suelo.

Con estos resultados se puede inferir que cada una de las zonas de desinfección deben estar libres de cualquier contacto con suelo, puesto que este va influir directamente en la reducción de la acción biocida del desinfectante, permitiendo el crecimiento del hongo. Resultados similares fueron obtenidos por Bennett y

colaboradores (2011), donde encontraron que en presencia de suelo la acción biocida del desinfectante disminuía, puesto que, el contenido de materia orgánica (MO) en el suelo interactuaba en la solución desinfectante, reduciendo su acción y permitiendo el crecimiento del patógeno.

1.4.3.2. Estandarización del inhibidor Caldo Letheen. Para garantizar la inhibición de la solución desinfectante a una concentración de 1200 ppm, posterior al tiempo de contacto de ≤ 30 segundos en cada uno de los ensayos de ausencia y presencia de suelo, la concentración del caldo Letheen que presentó mejor eficiencia fue la equivalente a $131.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (3 veces más de la concentración recomendada), correspondiente al tratamiento T3 donde se observó crecimiento del patógeno, lo que se traduce en la inhibición de la acción desinfectante del QAC. En los tratamientos T1 y T2 a la concentración recomendada y dos veces la concentración respectivamente, no hay crecimiento del patógeno, indicando que, el desinfectante sigue actuando durante el periodo de incubación (**Figura 2**).

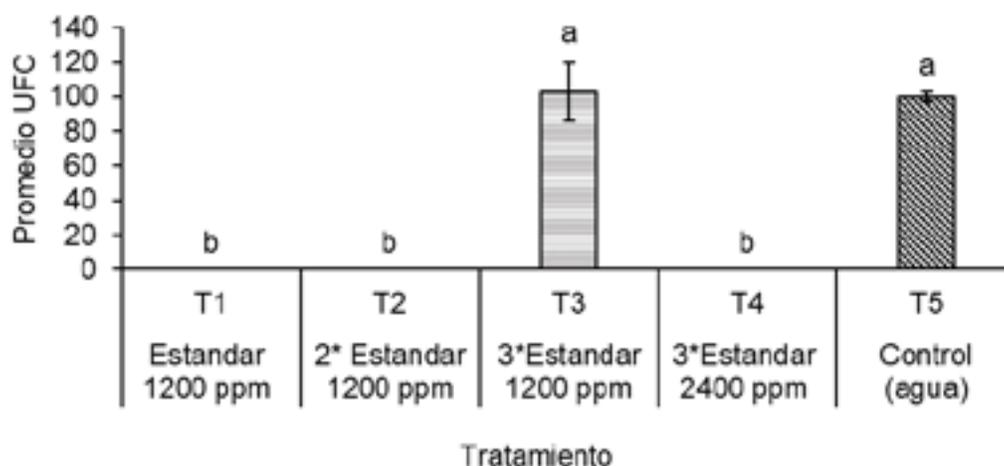


Figura 2. Estandarización del inhibidor caldo Letheen.

El caldo Leethen juega un papel fundamental como inhibidor de la acción biocida de los QAC, al simular el contenido de materia orgánica presente en el suelo que se puede encontrar en las áreas de desinfección. Este caldo tiene entre sus ingredientes extracto de carne y peptona siendo fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, que actúan como inhibidores de la actividad germicida de los desinfectantes (Becton, Dickinson & Company 2011). Con su implementación se garantizó el efecto que presentan los desinfectantes durante el tiempo de contacto y lo más relevante que este no seguirá actuando o presentando acción biocida durante el tiempo de incubación de cada uno de los tratamientos durante las próximas 48 h. Cabe señalar que, si la concentración del desinfectante aumenta como se observó en

el T4 (**Figura 2**) se debe realizar una nueva estandarización de la cantidad de inhibidor a implementar en los QACs.

Otros estudios soportan la acción del inhibidor como los realizados por Li y colaboradores (2020), donde se demostró que el caldo Lethen neutralizó una solución de QAC a 400 ppm, sin embargo, cuando se aumentó a 8000 ppm el caldo Lethen no logro neutralizar eficazmente una concentración mayor de QAC, una concentración de lecitina de 0,7 g/ L no es suficiente para neutralizar los QAC, puesto que, se recomienda una concentración de 7,0 g/L de lecitina para generar una neutralización de los QAC (Dey 1971), en ese sentido, estudios previos realizados para evaluar la acción neutralizante del caldo Lethen confirman que, este posee la capacidad de neutralizar la acción desinfectante de QAC, debido a su contenido de lecitina de soya y del bisulfito de sodio, el cual además de aportar nutrientes al medio de cultivo, actúan como un agente emulsificantes neutralizando los desinfectantes (Höfling & de Fátima Sant'Anna, 1988; Quisno, Gibby & Foter, 1946; BMA 1995).

1.4.3.3. Eficiencia de los desinfectantes. Se evaluaron 8 productos comerciales a base de compuestos de amonio cuaternario frente a Foc R1 en ausencia y presencia de suelo. Los desinfectantes evaluados a 1200 ppm en ausencia de suelo evidenciaron una inhibición del 100% en el crecimiento de Foc con un tiempo de contacto ≤ 30 segundos, tanto para las estructuras reproductivas (micro y macroconidas) como para estructuras de resistencia (clamidosporas) con respecto al tratamiento control (**Figura 3A, B**). Resultados similares fueron reportados por Nel, (2007) y Izquierdo et al., (2021), evidenciando una inhibición del 100% de estructuras reproductivas y de resistencia de *Fusarium* en ausencia de suelo, cuando fueron sometidas a desinfectantes QAC a concentraciones de 1200 ppm.

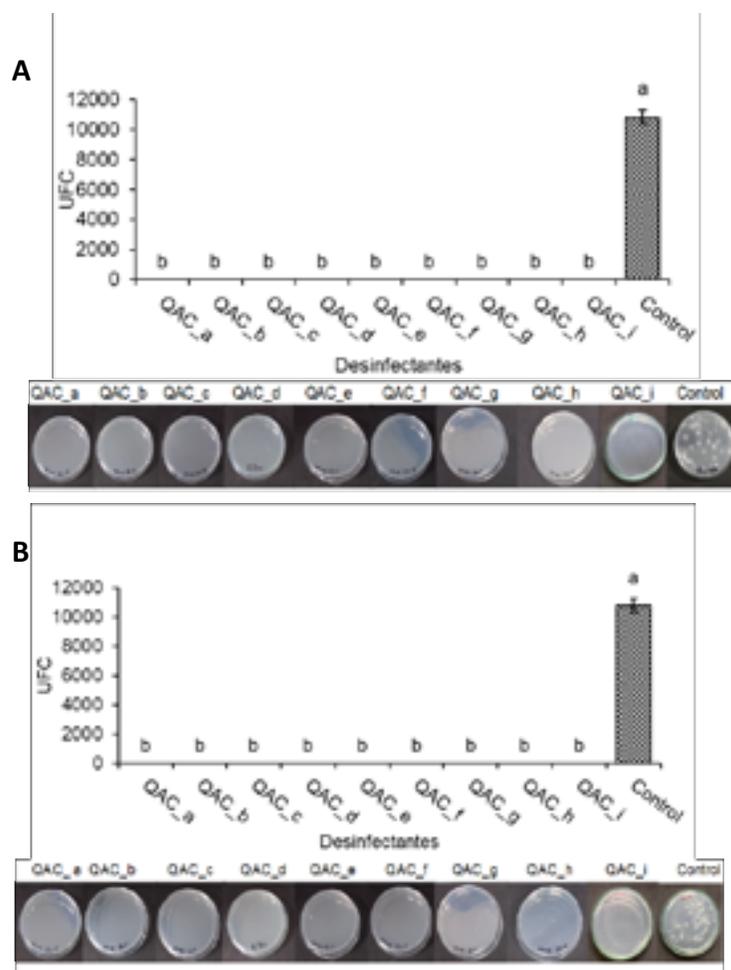


Figura 3. Eficiencia de los desinfectantes QAC frente a propágulos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* R1 en ausencia de suelo. (A) Micro y macroconidias de Foc R1. (B) Clamidosporas de Foc R1. Las barras con la misma letra no muestran diferencias significativas entre tratamientos utilizando la prueba de *Kruskal-Wallis*.

Por otra parte, en el ensayo de interacción suelo en inóculo se observó que, para ambos propágulos evaluados de Foc R1 los desinfectantes evidenciaron una acción biocida del 100% (**Figura 4A, B**), exceptuando el producto QAC_f correspondiente al ingrediente activo de cloruro de dimetilbencil amonio a un 12% que no controló en su totalidad las estructuras reproductivas del patógeno (**Figura 4A**), estos resultados sugieren que los productos desinfectantes pueden actuar dependiendo de su composición, excipientes, principio activo, condiciones de aplicación, características de suelo, entre otras variables. Datos publicados por Izquierdo et al., 2021 evidenciaron que los productos a base de QAC en presencia de suelo, inhibieron el crecimiento del patógeno entre un 80 y 100% en propágulos de Foc R4T, de igual manera, el desinfectante con ingrediente activo de cloruro de dimetilamónio, logró

controlar en un 100% el crecimiento de Foc en tiempo menor a un minuto y con un contenido de MO de 10.56 %. Es importante mencionar que los contenidos de materia orgánica en los suelos de la región del Urabá son deficientes y no alcanzan porcentajes tan altos como las muestras de suelo utilizadas por Izquierdo y colaboradores.

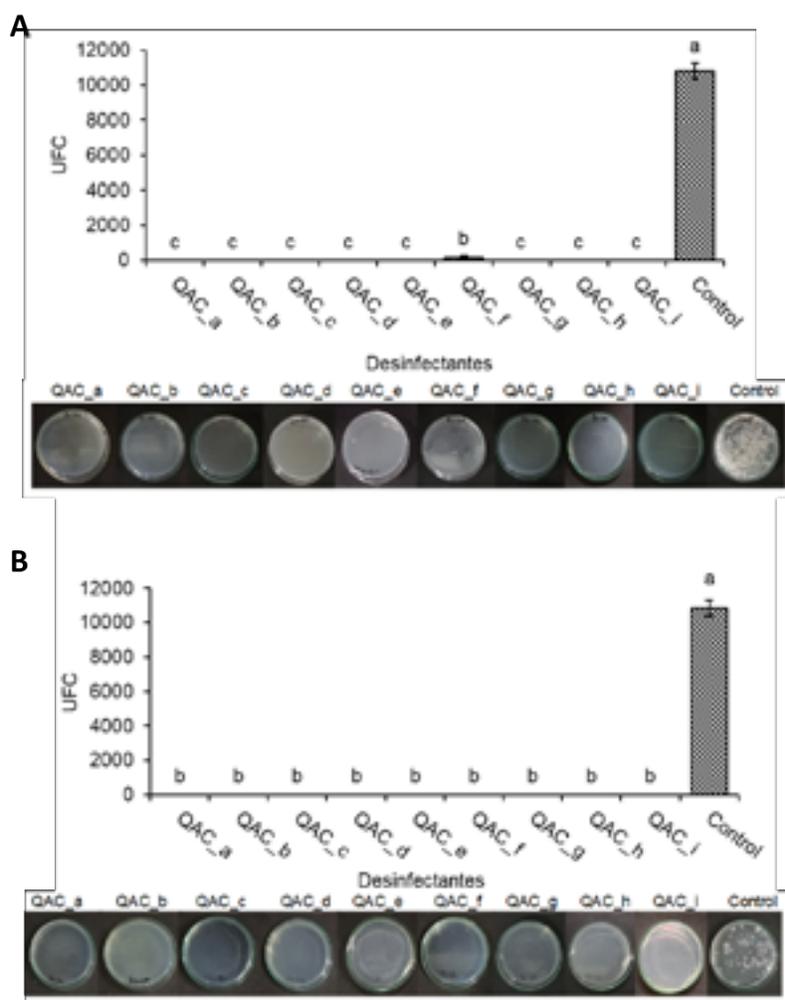
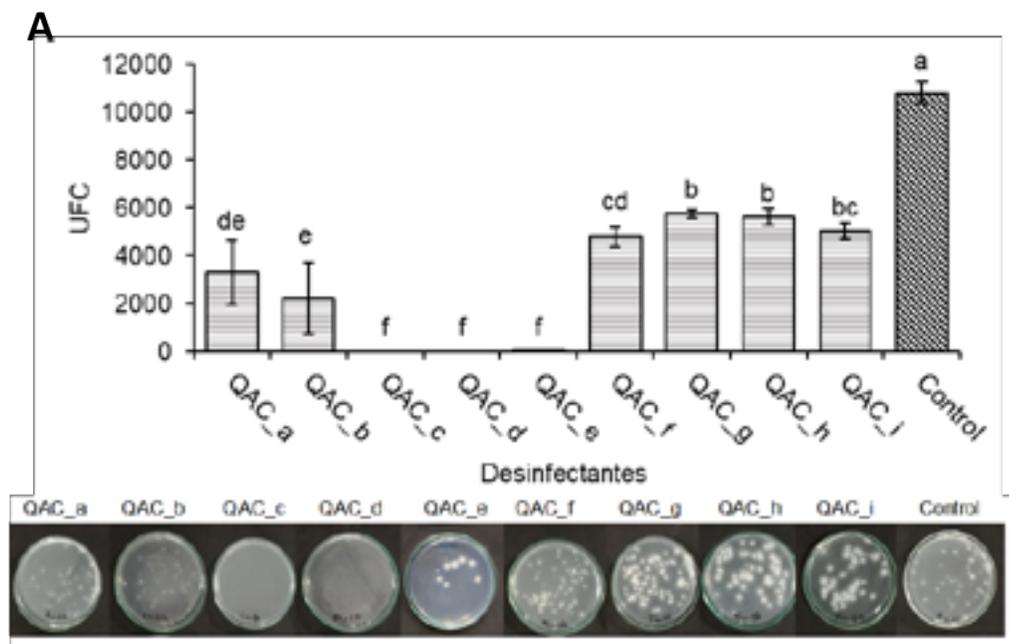


Figura 4. Eficiencia de desinfectantes QAC en interacción suelo en inóculo. (A) Micro y macroconidias de Foc R1. (B) Clamidosporas de Foc R1. Las barras con la misma letra no muestran diferencias significativas entre tratamientos utilizando la prueba de *Kruskal-Wallis*.

En cuanto a la interacción suelo en desinfectante, se evidenció que los productos QAC_c y QAC_d con ingrediente activo alquil dimetil-bencilamonio y cloruro de Di-(Octil / Decil) dimetilamonio al 12% + cloruro de benzalconio al 25,5% respectivamente, mostraron una eficiencia del 100% con respecto al control y demás

desinfectantes, tanto para estructuras reproductivas como de resistencia (**Figura 5A, B**), cabe anotar que el producto QAC_c es una mezcla de amonios, con menor toxicidad y comercialmente recomendado a una concentración de 1000 ppm. Por otro lado, el desinfectante QAC_d presenta dos ingredientes activos que se encuentran en diferentes concentraciones, 12% de cloruro de Di- (Octil / Decil) dimetilamonio y 25.5% de cloruro de benzalconio, teniendo en cuenta esta información se procedió a realizar dos ensayos evaluando cada principio activo disolviendo sus ingredientes a 1200 ppm. El QAC_d inhibe por completó la germinación de propágulos del patógeno debido a que el cloruro de benzalconio queda a una concentración final de 13,5%, mientras que el QAC_e siendo el mismo desinfectante no logra suprimir totalmente al patógeno debido a que el cloruro de benzalconio queda a una concentración del 1% permitiendo en mayor medida la germinación de estructuras de resistencia comparadas con las reproductivas (**Figura 5A, B**).



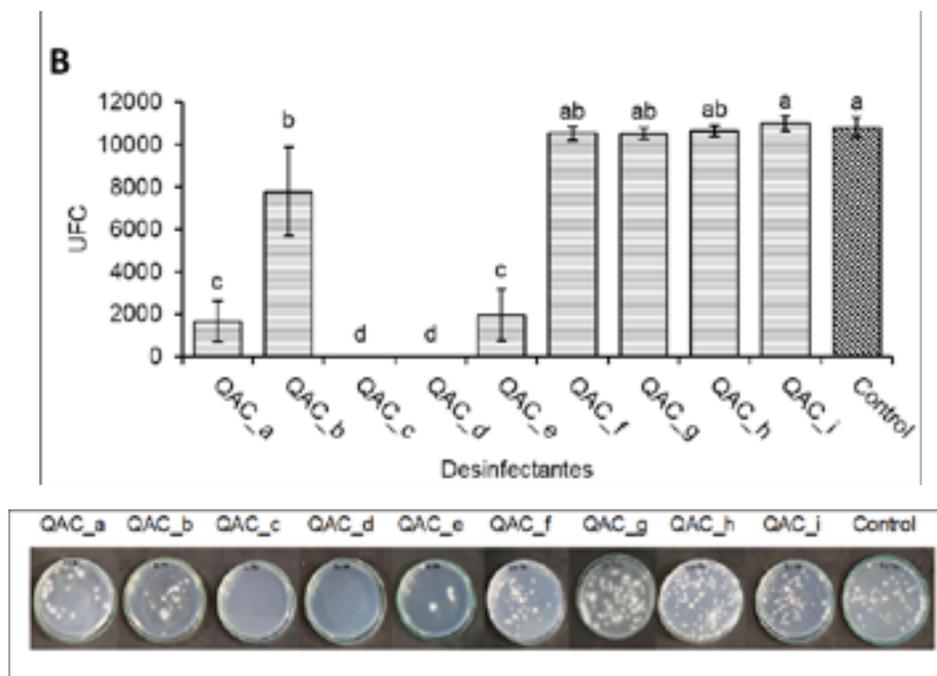


Figura 5. Eficiencia de desinfectantes QAC en interacción suelo en desinfectante. (A) Micro y macroconidias de *Foc* R1. (B) Clamidosporas de *Foc* R1. Las barras con la misma letra no muestran diferencias significativas entre tratamientos utilizando la prueba de *Kruskal-Wallis*.

Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Nguyen y colaboradores en 2019, donde evidenciaron que los QAC evaluados a una concentración de 1200 ppm controlaron 100% los propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en ausencia y presencia de suelo. Sin embargo, difiere para los demás productos que no tuvieron la misma eficiencia posiblemente por las cantidades de suelo adicionadas a la solución desinfectante, donde ellos utilizaron 0,05 g suelo .ml⁻¹ en comparación a 0,1 g suelo.ml⁻¹ en una relación 1:10 utilizadas en el presente trabajo. De igual manera esta inferencia se puede corroborar en el ensayo de nivelación posteriormente descrito en el que se observa que a menor cantidad de suelo (0.5 g suelo) presente en la solución desinfectante, a las 6 h posterior a la adición de suelo, reduce su concentración de 1200 ppm a 400 ppm, sin embargo, al aumentar la cantidad de suelo (1.0 g suelo) la solución de QAC pierde completamente la acción inhibitoria ejercida por su ingrediente activo, permitiendo la germinación de propágulos del patógeno (**Figura 8A-B; 9A-B**).

A partir de los resultados obtenidos mostrados en la **figura 5A, B**, donde solo dos de los QAC evaluados (QAC_c; QAC_d) controlaron 100% las estructuras del patógeno, se procedió a aumentar la concentración de los demás QAC a 2000 ppm, observando que, los productos QAC_a, QAC_b y QAC_e evidenciaron inhibición del 100% en estructuras reproductivas (**Figura 6A**), sin embargo, en cuanto a las estructuras de

resistencia solo fueron eficientes el QAC_a y QAC_e comparados con el control (Figura 6B).

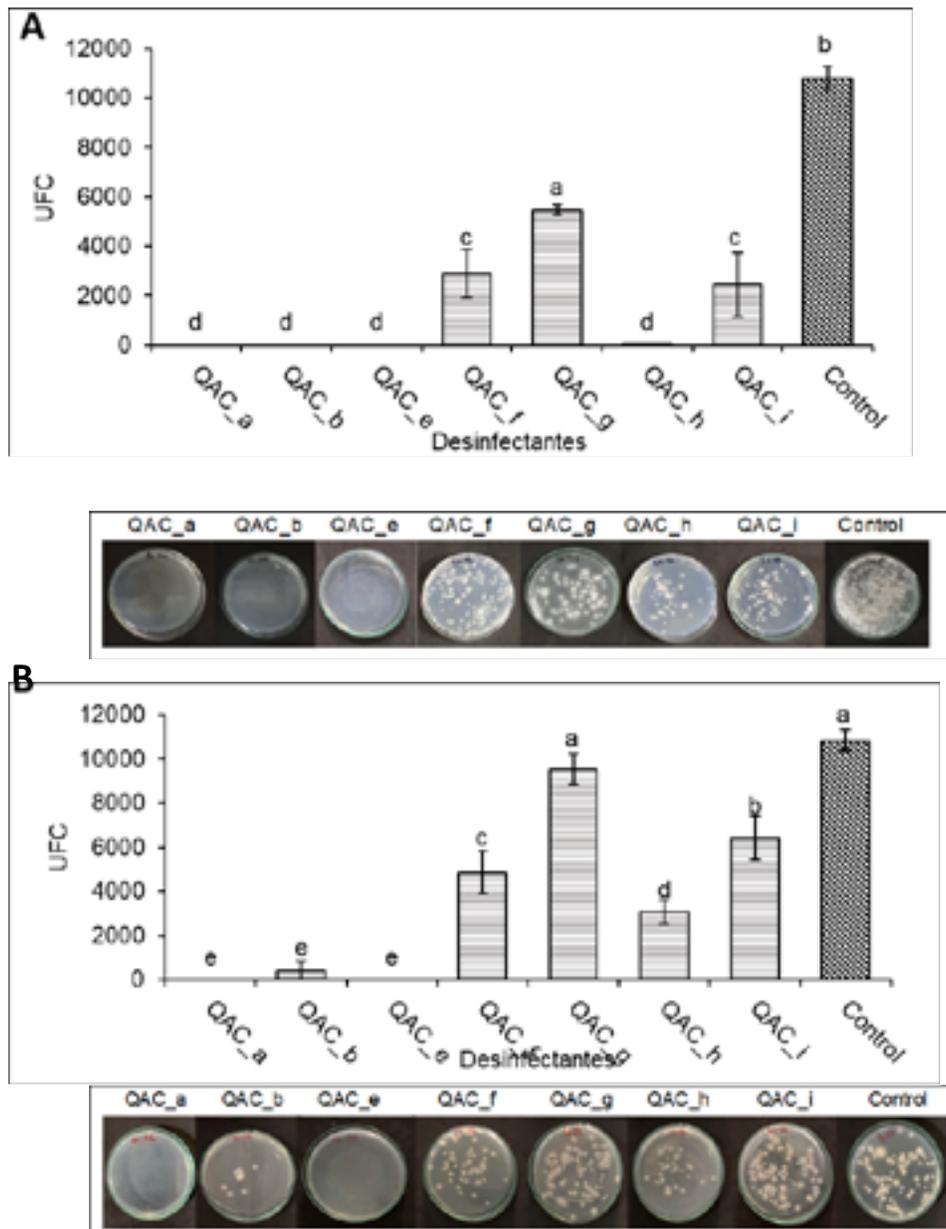
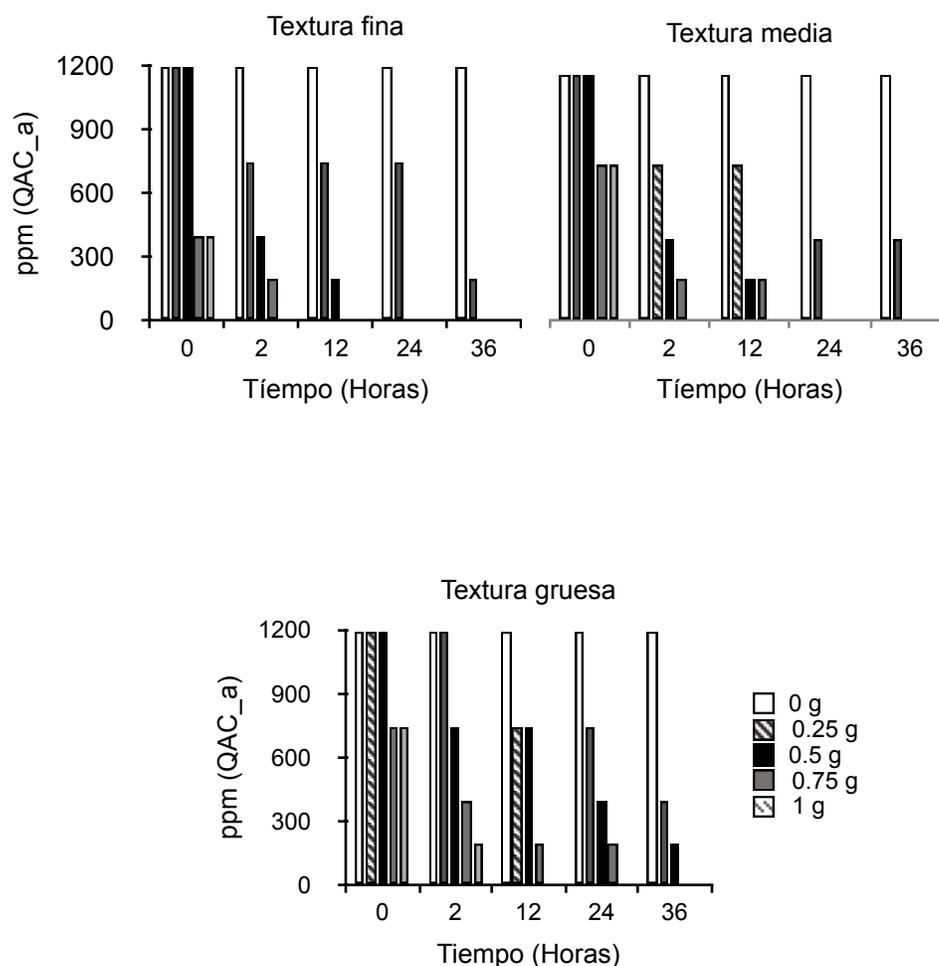


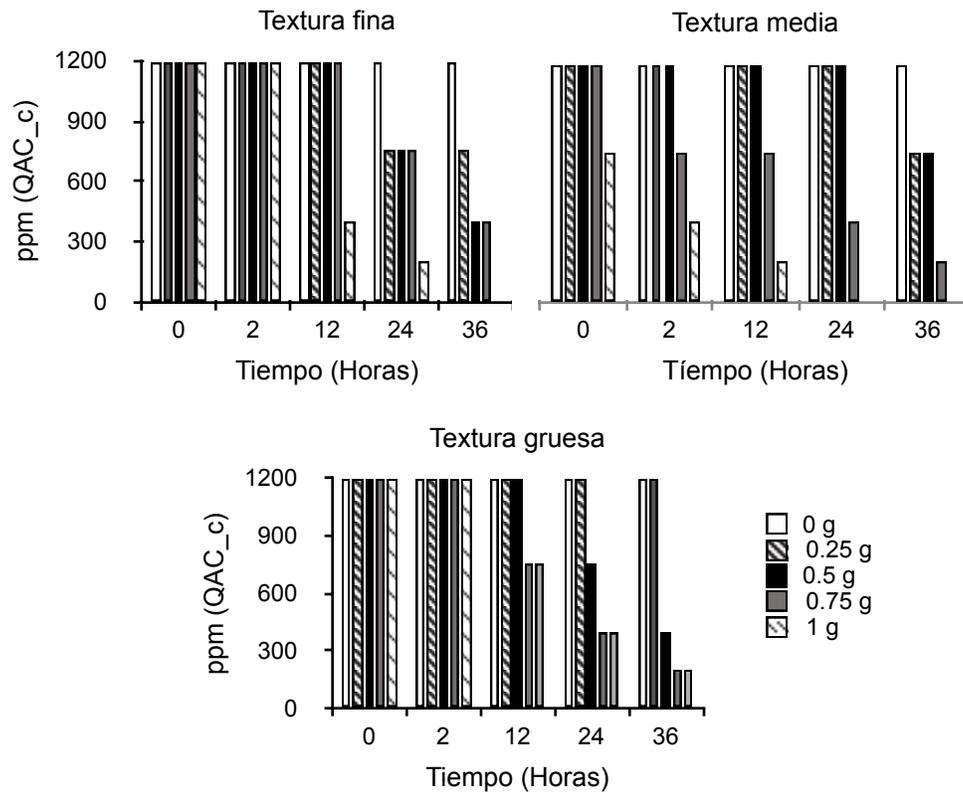
Figura 6. Eficiencia de desinfectantes QAC en interacción suelo en desinfectante a 2000 ppm. (A) Micro y macroconidias de Foc R1. (B) Clamidosporas de Foc R1. Las barras con la misma letra no muestran diferencias significativas entre tratamientos utilizando la prueba de *Kruskal-Wallis*.

3.4. Influencia de la textura en el desinfectante. Las clases texturales evaluadas independientemente del tipo de desinfectante, generó una reducción en la concentración de los ingredientes activos de los QACs, evidenciando un mayor efecto reductor en las texturas finas, mientras que las texturas gruesas (arenosas) tienen menor efecto en su acción. De igual manera, se observó que los desinfectantes QAC_c y QAC_d que mostraron mayor eficiencia para inhibir el crecimiento del patógeno en los diferentes ensayos realizados, son los que mantienen por más tiempo su concentración en 1200 ppm hasta por 12 h, en las tres texturas de suelo evaluadas (**Figura 7B, C**). Por su parte, los desinfectantes QAC_f y QAC_g fueron los que presentaron menor eficiencia para inhibir a Foc observando que al adicionar mínimas cantidades de suelo reducía considerablemente la concentración del ingrediente activo desde las 0 h (**Figura 7E, F**). Cabe resaltar que a medida que aumentaba el tiempo e incrementaba la adición del suelo, la concentración del ingrediente activo se redujo en todos los desinfectantes evaluados (**Figura 7**).

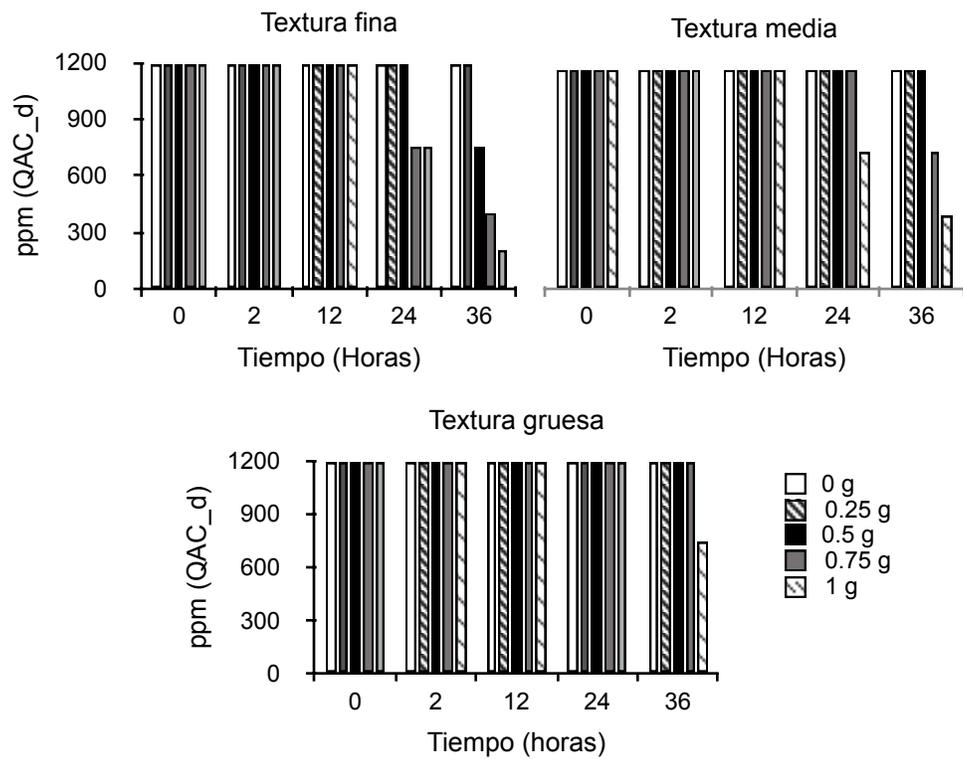
A



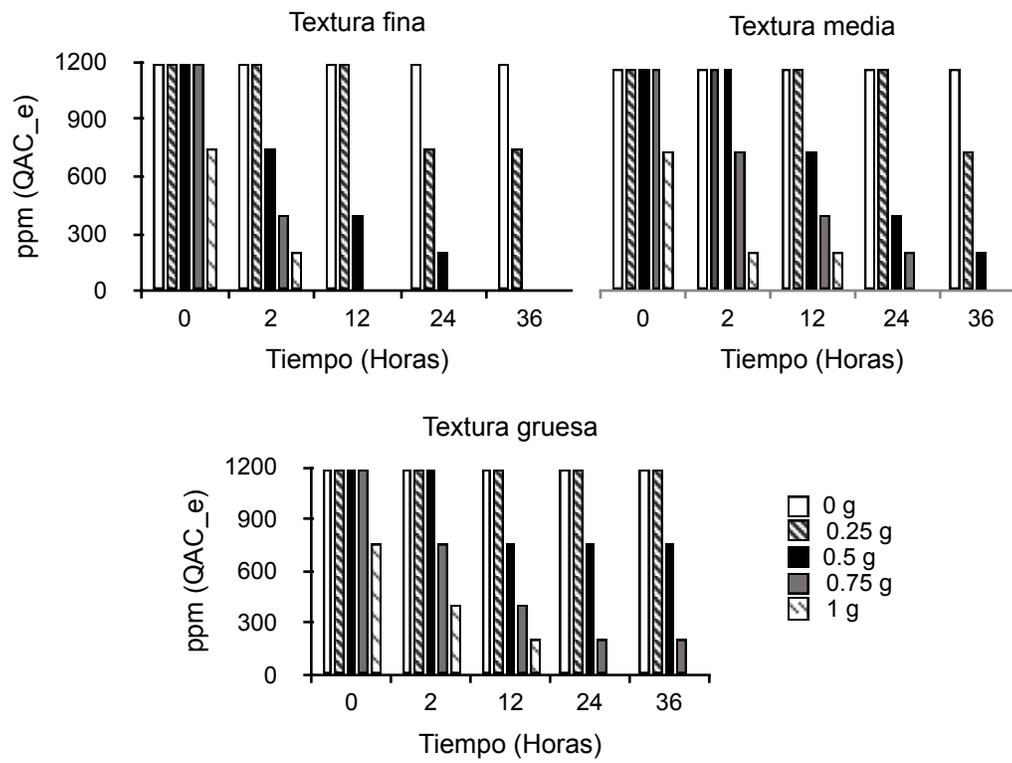
B



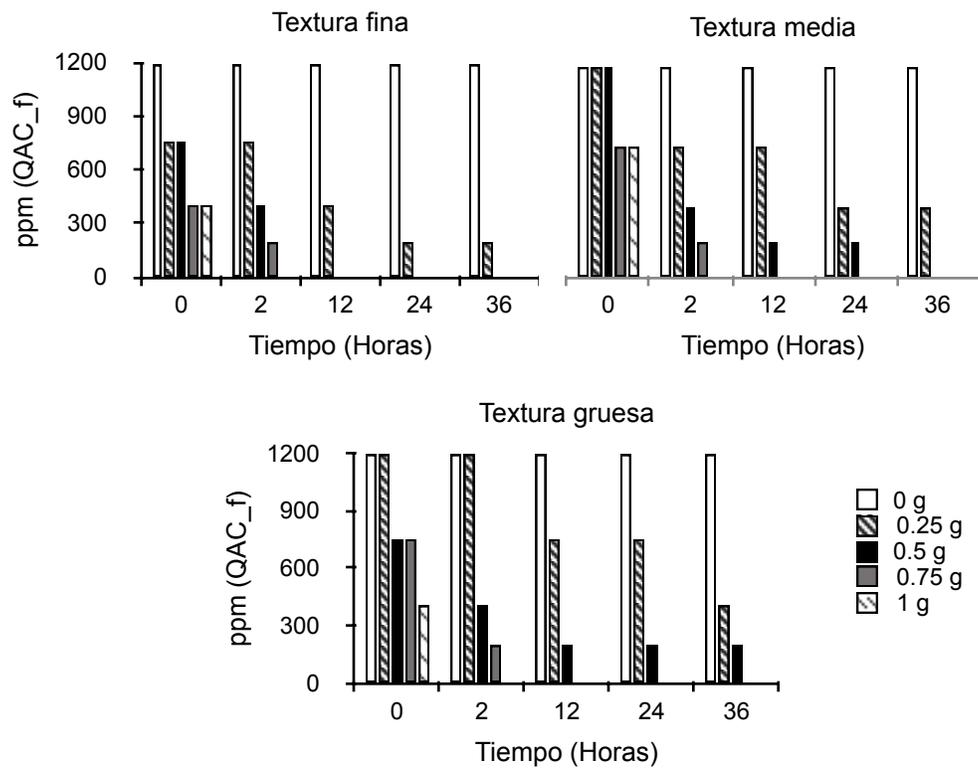
C



D



E



F

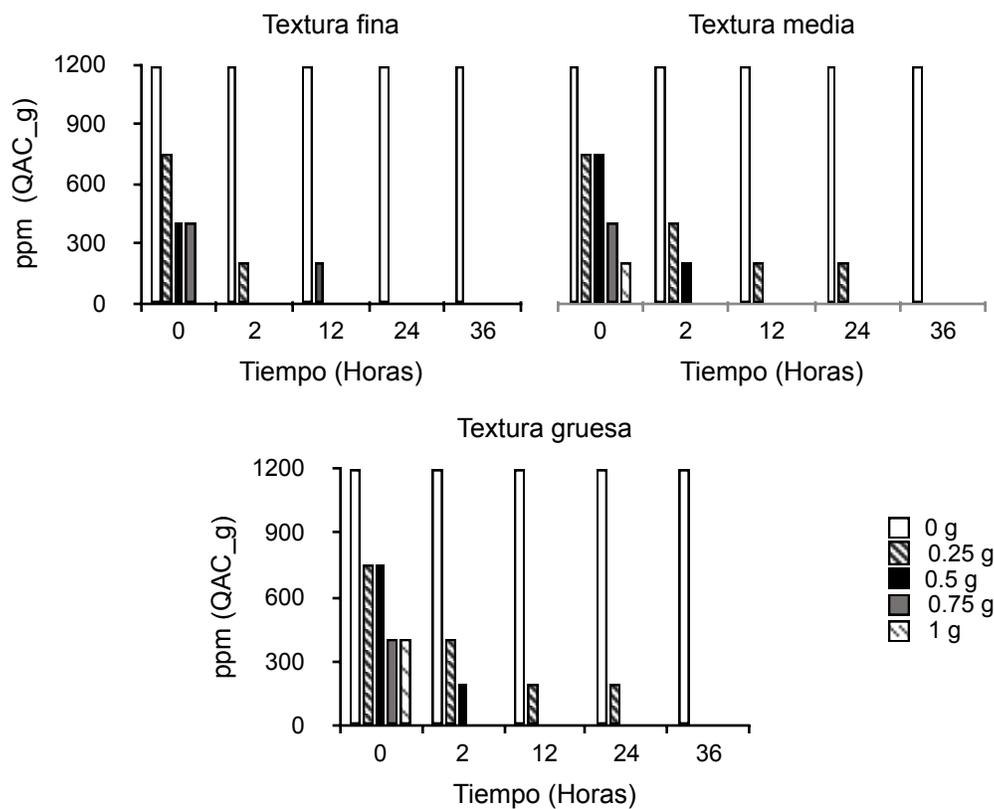
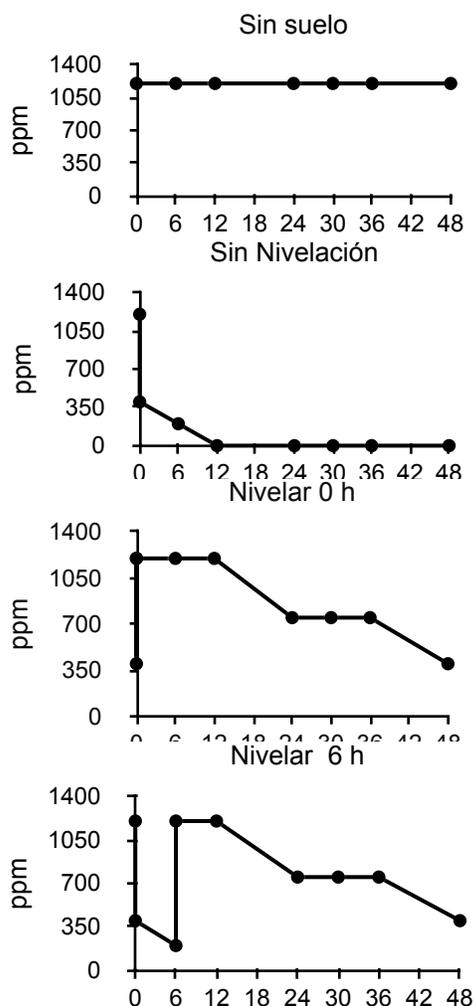


Figura 7. Comportamiento de los QAC al entrar en contacto con diferentes texturas del suelo. (A) QAC_a; (B) QAC_c; (C) QAC_d; (D) QAC_e; (E) QAC_f; (F) QAC_g.

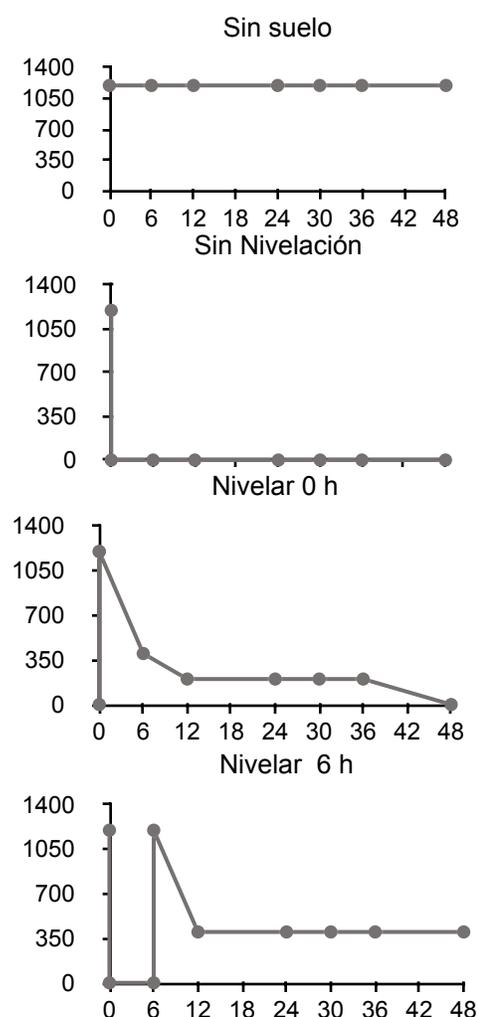
La composición de la textura del suelo puede influir en la reducción de la actividad de los QACs, donde las arenosas se componen de minerales primarios, las limosas de minerales con mayor meteorización y las arcillosas de minerales secundarios como los filosilicatos cristalinos, no cristalinos, óxidos e hidróxidos de Fe y Al y algunas sales, de igual forma, son las arcillosas las que presentan mayor presencia de MO, seguidas por las limosas y por último las arenosas (Osorio, 2014). Del mismo modo, se ha observado que la textura del suelo puede influir en el nivel de efectividad del desinfectante QAC en textura arcillosa en comparación, a la textura arenosa. Cabe anotar, que no se tiene una evidencia clara de cuáles variables pueden influir en una mayor o menor medida la acción y consecuentemente en la reducción de la concentración de los productos a base de amonios cuaternarios, puesto que, se deben realizar estudios más detallados para dar esclarecimiento a esta hipótesis.

3.5. Práctica de nivelación. Para la interpretación de los resultados se analizaron los tratamientos por separado, primeramente, los tratamientos que tuvieron una sola nivelación a un tiempo determinado, tomando como control el tratamiento SN (Sin Nivelación) para ambos casos (**Figura 8**), y por otra parte los que se realizó más de una nivelación en los diferentes tiempos evaluados (**Figura 9**), teniendo en cuenta que es una práctica habitual en los pediluvios de las fincas bananeras. En cuanto al tratamiento sin suelo las soluciones de QAC mantuvieron su concentración a 1200 ppm durante todas las mediciones (**Figura 8**). Para el primero de los casos, se observa que al adicionar 25 g de suelo. L⁻¹ se redujo la concentración de las soluciones de amonios a partir del tiempo 0 h pasando de una concentración de 1200 ppm a 400 ppm y trascurridas 6 h la concentración disminuye a 200 ppm, finalmente en un lapso de 12 h se pierde por completo su ingrediente activo (**Figura 8A**). Del mismo modo, cuando se adiciona 50 g de suelo. L⁻¹ el desinfectante pierde totalmente la concentración en el tiempo 0 h (**Figura 8B**).

A



B



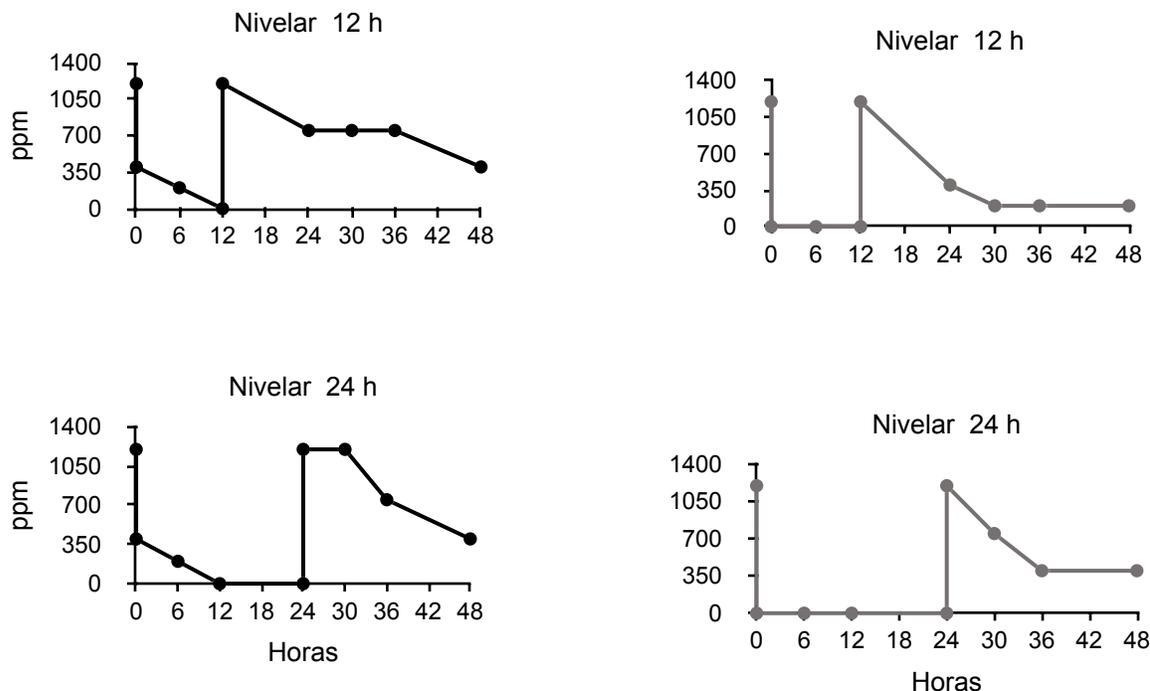


Figura 8. Comportamiento del QAC_a frente a una nivelación en el tiempo. (A) Tratamientos con nivelación adicionando 25 g de suelo. (B) Tratamientos con nivelación adicionando 50 g de suelo.

Para el segundo caso donde se realizan nivelaciones cada 6 horas, a medida que se va realizando la nivelación se observa una fluctuación de la concentración final del desinfectante tanto para 25 como 50 g suelo.L⁻¹ (**Figura 9A, B**), si enseguida que la solución presenta suelo se realiza la nivelación, es decir, se adiciona cierta cantidad de solución del desinfectante, se alcanza nuevamente la concentración a 1200 ppm, sin embargo, transcurrido un tiempo de 6 h su concentración disminuye a 750 ppm y 400 ppm con 25 g y 50 g de suelo respectivamente (**Figura 9**). Aunque se realice una nivelación nuevamente hasta 1200 ppm, la concentración se disminuirá al cabo de un periodo de tiempo entre 6 a 12 horas. Así mismo, si se realizan varias nivelaciones la concentración del producto subirá a 1200 ppm, sin embargo, esto no garantiza que se mantenga la concentración inicial.

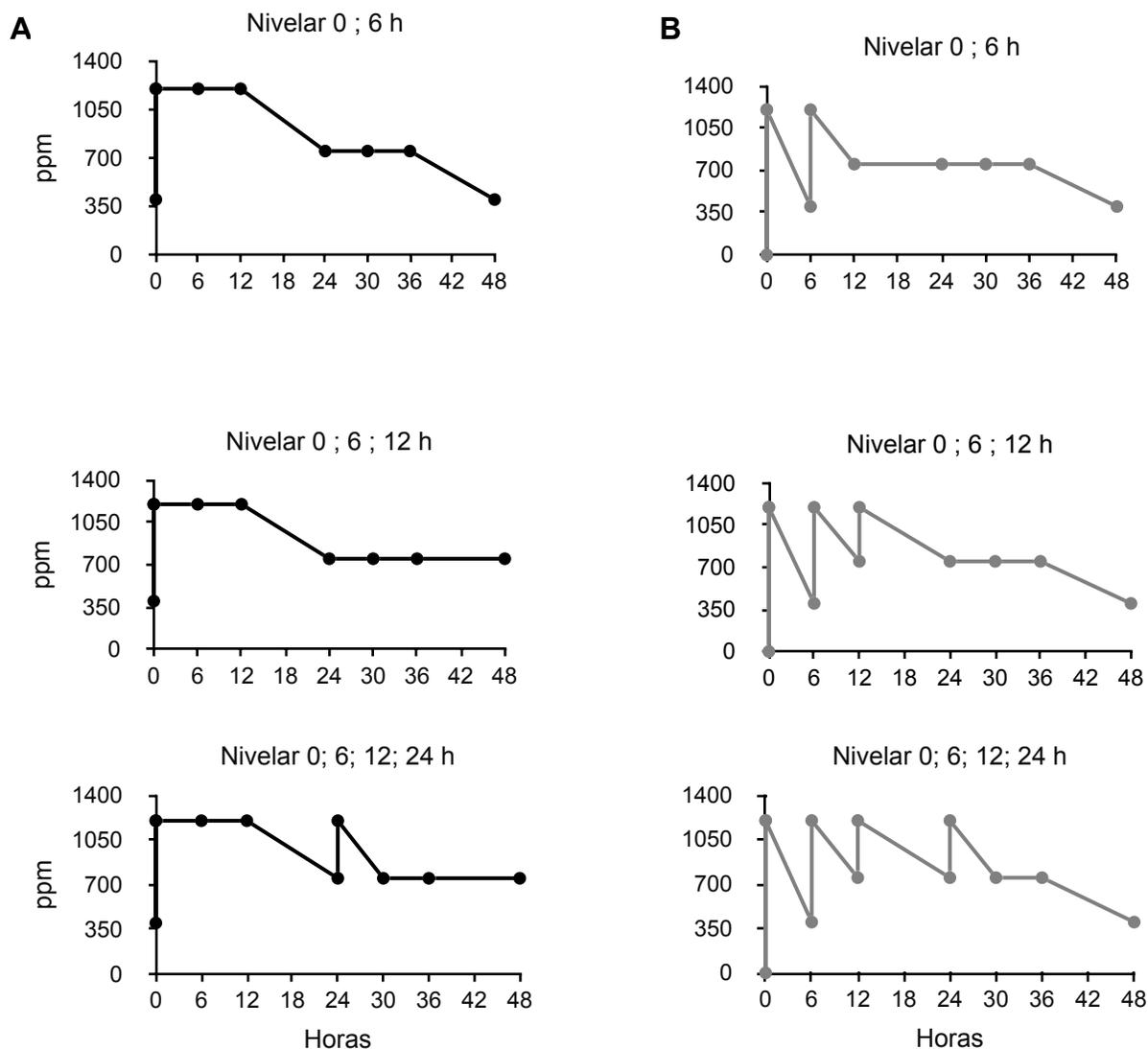


Figura 9. Comportamiento del QAC_a al ser sometido a varias nivelaciones en el tiempo. (A) Tratamientos con nivelación adicionando 25 g de suelo. (B) Tratamientos con nivelación adicionando 50 g de suelo.

4. Conclusiones

- El caldo Letheen estandarizado en este estudio, es un buen neutralizante de la acción germicida de los QAC. Cabe resaltar que estudios previos relacionados con la evaluación de desinfectantes sobre estructuras vegetativas y de resistencia de Foc, no describen la utilización de un inhibidor que permita conocer realmente la acción del desinfectante.

- En ausencia de suelo todos los desinfectantes evaluados evidenciaron efectividad para controlar la población de Foc R1. Sin embargo, y como fue demostrado en trabajos anteriores, para que las soluciones desinfectantes conserven sus ingredientes activos a una concentración ideal de 1200 ppm debe evitarse al máximo la adición de suelo, independientemente de la cantidad y la fuente de este, además, aunque se logre incrementar la concentración nuevamente se desconoce si el efecto biocida se mantiene, por tanto, la práctica de nivelación en pediluvios es inviable.
- La presencia o ausencia de materia orgánica garantiza el éxito de cualquier operación de desinfección, ya que diluye y neutraliza rápidamente las moléculas químicas biocidas, además, ayudan a formar cubiertas que evitan el contacto entre microorganismo: desinfectante, o de igual manera, tienden a combinarse con el agente patógeno formando una sustancia inerte o poco activa, por tal motivo, se debe de realizar un lavado previo del calzado, material, equipos y vehículos.
- Para todas las clases texturales evaluadas independientemente del tipo de desinfectante, la adición de suelo generó una reducción en la concentración del desinfectante, siendo las texturas francas las que presentaron el mayor efecto reductor de la concentración, en comparación a las texturas arenosas.
- La presencia de suelo y el tiempo que perdura en la solución QAC genera una interacción antagonista con la concentración del ingrediente activo, es decir, que a mayores cantidades de suelo y tiempos más prolongados se reduce la concentración y consecuentemente su eficacia.
- Desinfectantes a base de QAC podrían ser utilizados para desinfección en pediluvios y otros para desinfección en maquinaria, teniendo en cuenta que por su composición y mezclas unos suelen ser más corrosivos que otros.

5. Referencias bibliográficas

- Aquino, A. P., Bandoles, G. G., & Lim, V. A. (2013). R&D and policy directions for effective control of *Fusarium* wilt disease of Cavendish banana in the Asia-Pacific region. FFTC Agricultural Policy Articles.
- Association of Banana Growers of Colombia (AUGURA). (2020). Banana situation 2020. <https://augura.com.co/wp-content/uploads/2021/04/Coyuntura-Bananera-2020.pdf>
- Bacteriological Analytical Manual (BMA) 1995. Microbiological methods for cosmetics, Lethen Agar (modified), Lethen Broth (modified).
- BD (Becton, Dickinson and Company). (2011). BD Modified Lethen Broth • BD Modified Lethen Broth with 5 % Polysorbate 80. Heidelberg, Germany. 3 p. Recovered from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=23317>
- Bennett, R. S., O'Neill, W., Smith, L., & Hutmacher, R. B. (2011). Activity of commercial detergents against conidia and chlamyospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.
- Dey, B. P. (1971). A neutralizing medium for antimicrobial chemicals (Doctoral dissertation, University of Missouri--Columbia).
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., & Staver, C. P. (2018). *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in plant science*, 9, 1468.
- Drenth, A., & Kema, G. H. J. (2021). The vulnerability of bananas to globally emerging disease threats. *Phytopathology*, (ja).
- FAO. (2018) Banana Statistical Compendium 2017. Pages 1-22.
- FAO. (2019) Food Outlook-Biannual Report on Global Food Markets–November 2019.Rome. Available online: <http://www.fao.org/3/ca6911en/ca6911en.pdf> (accessed on 26November 2020).

- FAO. (2019, octubre). Banana *Fusarium* Wilt Tropical Race 4: A mounting threat to global banana markets? https://www.fao.org/3/ca6911en/CA6911EN_TR4EN.pdf.
- Höfling, J.F., & de Fátima Sant'Anna, M. (1988). Evaluation of the neutralizing action of Letheen broth, prepared with unpurified soy lecithin, on disinfectants based on phenol and quaternary ammonium. *Non-current securities*, 2(1).
- Gerba, C. P. (2015). Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Applied and environmental microbiology*, 81(2), 464.
- Izquierdo-García, L. F., Carmona, S. L., Zuluaga, P., Rodríguez, G., Dita, M., Betancourt, M., & Soto-Suárez, M. (2021). Efficacy of Disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 Isolated from La Guajira, Colombia.
- Lindsay, S. (2018). *Fusarium* Wilt Tropical Race 4–Biosecurity and Sustainable Solutions (p. 39). Hort Innovation.
- Li, F., Xian, Z., Kwon, H. J., Yoo, J., Burall, L., Chirtel, S. J., ... & Chen, Y. (2020). Comparison of three neutralizing broths for environmental sampling of low levels of *Listeria monocytogenes* desiccated on stainless steel surfaces and exposed to quaternary ammonium compounds. *BMC microbiology*, 20(1), 1-13.
- Newcombe, M. (1960). Some effects of water and anaerobic conditions on *Fusarium oxysporum* f. *cubense* in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 43(1), 51-59.
- Maryani, N., Lombard, L., Poerba, Y. S., Subandiyah, S., Crous, P. W., & Kema, G. H. J. (2019). Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Mycology*, 92, 155-194.
- Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., & Canto-Canche, B. (2014). Diseases of quarantine and economic importance of the banana (*Musa* sp.) Crop in Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology*, 32 (2), 89-107.

- Nguyen, T. V., Tran-Nguyen, L. T. T., Wright, C. L., Trevorrow, P., & Grice, K. (2019). Evaluation of the efficacy of commercial disinfectants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 1 and tropical race 4 propagules. *Plant disease*, 103(4), 721-728.
- Olivares, B. O., Rey, J. C., Lobo, D., Navas-Cortés, J. A., Gómez, J. A., & Landa, B. B. (2021). *Fusarium* Wilt of Bananas: A Review of Agro-Environmental Factors in the Venezuelan Production System Affecting Its Development. *Agronomy*, 11(5), 986.
- Osorio, N. W. (2014). Manejo de nutrientes en suelos del trópico. L. Vieco S.A.S.
- Palmero, D., Iglesias, C. and Tello, J. C. (2009). Preliminary study of the germination and viability of *Fusarium* species in response to the osmotic potential of the environment.
- Prez Vicente, L. (2014). Contingency plan for tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*: Critical factors for Latin America and the Caribbean. Plant Health Research Institute (INISAV).
- Ploetz, R. C. (2006). *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. *Phytopathology*, 96(6), 653-656.
- Quisno, R., Gibby, I. W., & Foter, M. J. (1946). A neutralizing medium for evaluating the germicidal potency of the quaternary ammonium salts. *American journal of pharmacy and the sciences supporting public health*, 118(9), 320-323.
- Stover, R. H., and Simmonds, N. W. (1987). *Bananas*. 3rd Edn. London: Longmans.
- Tirado, E. V., & Herrera, E. C. Identification and Economic Importance of Banana Phytoparasitic Nematodes in Antioquia Uraba, Colombia. *Athens Journal of Sciences*, 77.
- Waite, B. H., & Stover, R. H. (1960). Studies on *Fusarium* wilt of bananas: VI. Variability and the cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f. *ubense*. *Canadian Journal of Botany*, 38(6), 985-994.

1.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA LUZ UV-C COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE PUDRICIÓN DE CORONA EN BANANO CAVENDISH

Autores: Luisa Fernanda Pérez Aguirre, Luis Fernando Patiño Hoyos, Jairo Camilo Quijano, Andrés Mauricio Pinzón Núñez, Sebastián Zapata Henao.

Resumen

El banano es considerado una de las principales frutas de exportación y renglón importante de la economía nacional. Sin embargo, alrededor de un 30% de pérdidas económicas en postcosecha son causadas por problemas fitosanitarios como la enfermedad de la pudrición de corona. Aunado a esto, las regulaciones en la restricción de moléculas químicas para su control reducen las estrategias de manejo, siendo necesario la búsqueda de nuevas alternativas para su control. Por lo anterior, el presente proyecto evaluó el efecto de diferentes dosis de energía de UV-C en un rango de 0- 200 J m⁻² sobre la calidad de la fruta, y posteriormente su efecto en combinaciones con moléculas de síntesis química Azoxistrobin y Tiabendazol a concentraciones de 75%, 50% y 25 % en clúster de banano inoculados previamente con los agentes causales de la enfermedad *Fusarium* spp y *Colletotrichum* spp., a una concentración de 5x10⁵ esporas/ml respectivamente. Los resultados evidenciaron que dosis por encima de 50 J m⁻² causaron daños en la piel del fruto, sin embargo, la firmeza y sólidos solubles totales no se vieron alterados. Por otra parte, a partir de las dosis no nocivas, se sometieron a exposiciones continuas de 10 e intermitentes de 40 J m⁻² en combinación con diferentes concentraciones de las moléculas químicas antes mencionadas. Las evaluaciones fueron realizadas en cava simulando las condiciones reales de un envío de exportación de 21 días, evidenciando una disminución en el índice de severidad en un 57% cuando fueron tratadas con dosis de energía de 40 J m⁻² de manera intermitente (I) en combinación con 50% de las moléculas químicas. La utilización de dosis de energía de UV-C en combinación con aplicaciones reducidas de fungicidas son una alternativa promisoriosa para el manejo de enfermedades postcosecha en el cultivo del banano.

Palabras clave: Postcosecha, Musáceas, UV-C, *Fusarium* spp y *Colletotrichum* spp.

1.5.1. Introducción

El banano es uno de los alimentos de necesidad básica más importantes en zonas tropicales, en respuesta al crecimiento demográfico de países productores y consumidores como Brasil, Filipinas y, en particular, la India y China. Según datos de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2019), el banano provee hasta un 25 % de la ingesta calórica a nivel mundial, lo que ha generado volúmenes de producción de 116 millones de toneladas por un valor de US \$ 31 mil millones y

consumo a nivel mundial con una cifra aproximada de 100.000 millones de bananos (Jones & Daniels 2019; FAO, 2019; FAO, 2020); de hecho, la FAO (2019) estima una producción mundial de 135 millones de toneladas para el año 2028. En el caso particular, América Latina representa la zona con mayores exportaciones a nivel mundial, destacándose Ecuador, Costa Rica y Colombia; este último país, con una exportación de 109 millones de cajas para el año 2020 reportados por la Asociación de bananeros de Colombia (AUGURA, 2021).

Según Larrea (2020), las principales limitaciones en el rendimiento productivo del cultivo de banano son las enfermedades fitosanitarias en precosecha; sin embargo, durante la comercialización, el fruto se ve afectado por factores bióticos y abióticos, altas precipitaciones y el desarrollo inadecuado en las actividades periódicas como el transporte, empaque y almacenamiento (Lassois & Lapeyre, 2014; Sangeetha, Usharani & Muthukumar, 2010), causando pérdidas que varían entre el 10% y el 80% (FAO, 2019). En ese sentido, la pudrición de corona es conocida como una de las enfermedades postcosecha que ha generado mayores pérdidas económicas, llegando hasta el 30% (Aguilar, García, Dulanto & Duque, 2013). Lo anterior se atribuye a los agentes causales de la enfermedad *Fusarium* spp y *Colletotrichum* spp, los más prevalentes en el caso específico de la subregión del Urabá Antioqueño (Henao, 2016).

En ese contexto, el deterioro de la fruta por causa de enfermedades postcosecha es principalmente controlado por productos de síntesis química (Vasanthakumari et al., 2019); sin embargo, el uso continuo e inadecuado ha generado altos niveles de residualidad, impactando la salud humana y el medio ambiente (Droby, 2006). Recientemente, la Comisión de la Unión Europea (2020) estableció estrategias orientadas a obtener alimentos más saludables establecidas en los acuerdos biodiversidad y “De la Granja a la Mesa”, con el fin de prevenir el uso de plaguicidas en la agricultura hasta un 50% al 2030. Un caso ejemplo, es la molécula química imazalil, ampliamente utilizada para el control de la pudrición de corona que recientemente fue restringida de acuerdo con el Reglamento (UE) 2019/1582 de la Comisión de la Unión Europea. Con base en lo anterior, se hace necesario la búsqueda de métodos alternativos que minimicen la afectación por la enfermedad y que sean amigables con el medio ambiente.

En este sentido, los métodos físicos como el uso de luz ultravioleta (UV) han sido efectivos para la supresión de enfermedades y prolongación de la vida útil en los productos cosechados (Civello, Vicent & Martinez, 2006). Este tipo de métodos se clasifica a partir de la longitud de onda UV-A (320 nm-400nm), UV-B (280-320 nm) y UV-C (200-280 nm); esta última, es casi absorbida por la capa de ozono y por esta razón, para usar este tipo de radiación se necesita de fuentes artificiales generadoras de vapor de mercurio (O'Brian, Hunter, Rosson, Hulsey & Carns, 1996) con un pico de emisión de 254 + 2,5 nm. (Urban, Sari, Orsal, Lopes, Miranda & Aarouf, 2018). Adicionalmente, su emisión de potencia óptica ($W m^{-2}$) se encuentra influenciada por la distancia entre el objeto y el generador de vapor de mercurio (Urban et al., 2018); lo

cual posee un alto potencial sobre el control de enfermedades, ya que logran desintegran las bases de ADN del patógeno ((Barka, kalantari, Makhlouf & Arul 2000; Urban et al., 2016). De igual manera, el uso de UV-C ha sido aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para la desinfección superficial de alimentos (Gunasegaran, Ding, & Kadir, 2018).

El objetivo del presente trabajo fue inicialmente evaluar diferentes dosis de UV-C sobre la calidad de la fruta y posteriormente su efecto directo y en combinaciones con moléculas de síntesis química a diferentes concentraciones en clúster de banano inoculados previamente con suspensiones fúngicas de *Fusarium spp* y *Colletotrichum spp.*, agentes causales de la enfermedad de la pudrición de corona en banano.

1.5.2. Materiales y métodos

Para el desarrollo de los ensayos, las pruebas en función del método físico se llevaron a cabo en el campo experimental y demostrativo Ramiro Jaramillo Sosa (7°46'48.79"N 76°40'22.33"W). Por otra parte, la caracterización y multiplicación de las cepas fúngicas se realizaron en el laboratorio del Centro de Investigaciones de Banano (CENIBANANO) perteneciente a AUGURA, ubicado (7 ° 47'48.39 "N76 ° 38'57" W).

1.5.2.1. Prototipo. Se diseñó un prototipo a partir de las medidas de una clasificadora de frutas, compuesta por acero totalmente galvanizado y 9 lámparas de emisión de luz UV-C de 254 nm de longitud de onda (110 W, 31 cm de largo), ubicadas estratégicamente para exponer el material vegetal en cobertura completa (**Figura 1**).

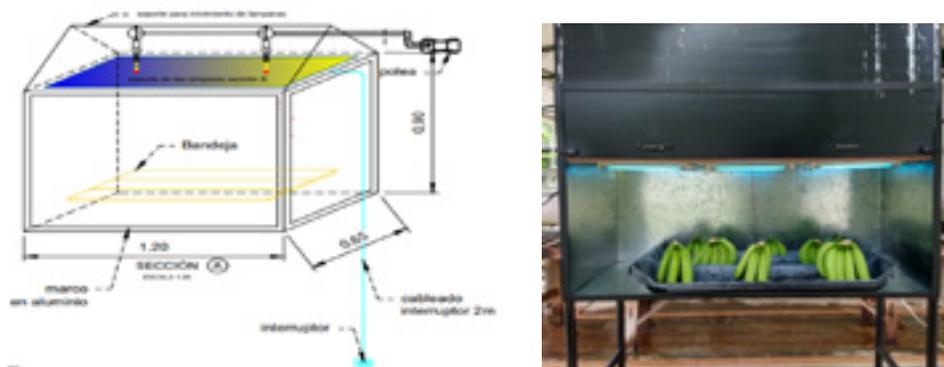


Figura 1. Propuesta de prototipo de la tecnología evaluada.

1.5.2.2. Material Vegetal. Para este estudio se utilizaron racimos de banano (*Musa AAA*) Cavendish en etapa de cosecha de 11 semanas. Los racimos fueron obtenidos de la plantación del centro experimental y demostrativo Ramiro Jaramillo Sosa y

transferidos a la empacadora. Los clústeres utilizados fueron previamente dispuestos en el tanque de lavado con 1% de piedra de alumbre y posteriormente expuestos a las diferentes dosis de energía de UV-C y a los fungicidas habitualmente utilizados, para luego disponerse en cava a una temperatura de ± 16 °C y una humedad relativa del 85% por un periodo de 21 días.

1.5.2.3.Preparación de suspensiones fúngicas. Para la obtención del aislado fúngico *Colletotrichum* spp., se utilizó tejido infectado proveniente de vástago con síntomas característicos de pudrición de corona. Previamente el material vegetal fue trasladado al laboratorio del Centro de Investigaciones de Banano (CENIBANANO) para realizar su procesamiento. Inicialmente el material fue desinfectado con hipoclorito al 1 % durante un minuto y posteriormente fue sembrado en Agar Papa Dextrosa (PDA) con 150 ppm de sulfato de estreptomicina (SE) (Allá, M. A., Gamal, N. G., Mougy, N. S., & Kader, 2014). En seguida, se dispusieron a una temperatura de 30°C durante 5 días. Por otra parte, el aislado fúngico del género *Fusarium* spp., fue obtenido a partir del cepario de hongos perteneciente a CENIBANANO. Posterior a la purificación y caracterización de las cepas fúngicas obtenidas, se procedió a preparar las suspensiones fúngicas a una concentración de 5×10^5 conidia ml⁻¹, utilizando un hematocimetro (Neubauer, Alemania) a partir de placas sembradas con 5 días de edad.

1.5.2.4.Evaluación de la luz UV-C sobre la calidad del fruto. Se implementaron dosis de 25, 50, 75, 100 y 200 J m⁻² y un testigo con aplicación de fungicida como control positivo (**Tabla 1**). Las dosis utilizadas fueron seleccionadas a partir de estudios previos realizados por Ding & Mohamed en el 2015 y 2017 respectivamente. Para el cálculo de las dosis de UV-C se utilizó un medidor digital (Sentry ST-512) en función de la siguiente fórmula:

$$(\text{kJ m}^{-2}) = \text{Dosis (Wm}^{-2}) \times \text{Tiempo de exposición (s)} \times 10^{-3}$$

Seguido a la aplicación de las dosis de UV-C, los frutos fueron transportados a un contenedor ubicado en las instalaciones de la comercializadora UNIBAN (7 ° 49'25 ° N 76 ° 38'55'W) que simulaba las condiciones de embarque; calibrada a una temperatura de 16 °C, HR 85% y un periodo de oscuridad de 21 días. La inducción de la maduración a grado 5 (*Fyffes*) se realizó a los 17 días aplicando etileno (Céspedes, C. R, Fernández, A. C. T, & Brenes 2010). Para la evaluación de alteraciones en la piel del fruto se realizaron 3 evaluaciones, dos evaluaciones en vida verde y una evaluación en estado de maduración (amarillo). Además, se determinó una puntuación basada en la escala propuesta por los autores Ding & Ling (2014).

Tabla 1. Dosis de energía de UV-C evaluados sobre la calidad del fruto.

Tratamientos (T)	
1	*
2	25 J m ⁻²
3	50 J m ⁻²
4	75 J m ⁻²
5	100 J m ⁻²
6	200 J m ⁻²

**Tratamiento Control*

1.5.2.5. Determinación de sólidos solubles totales (SST). Para la determinación de sólidos solubles totales (TSS-Grados Brix), una vez se alcanzó el grado de madurez, se tomaron 5 muestras por repetición de manera aleatoria y se procedió a macerar la pulpa en mortero. Posteriormente, se colocó una pequeña cantidad en un refractómetro manual (Brix Con Atc, Brix Hidrometro En Vinific) siguiendo las indicaciones de Campuzano (2010).

1.5.2.6. Determinación de firmeza. Junto con la determinación de TSS, se midió la firmeza del fruto por el método de destrucción en la piel de cada fruto a través de un penetrómetro portátil (GY-2), tomando aleatoriamente 5 muestras por repetición.

1.5.2.7. Evaluación de la luz UV-C sobre las suspensiones fúngicas inoculadas artificialmente. Las dosis de cada tratamiento de UV-C fueron aplicadas de forma continua (C) y con intermitencia (I) en tiempo de 1 segundo a una distancia constante de 25 cm entre las lámparas y la corona. Se evaluaron dosis de UV-C de 10, 40 (C) y 40 (I) J m⁻². Aunado a esto, se evaluaron combinaciones de emisión de energía y moléculas de síntesis química (Azoxistrobin + Tiabendazol) a concentraciones de 75%, 50% y 25% (**Tabla 2**). Previo a la exposición a las emisiones de energía, cada clúster fue inoculado en la corona con 200 µl de la suspensión fúngica a excepción del tratamiento control. Los tratamientos se asperjaron con bomba de capacidad de 1.2 Lt previamente calibrada. Cada bandeja se asperjó con 180 ml posterior a la exposición a las dosis de UV-C (A partir del T4 al T12) de igual manera los tratamientos 13, 14, 15 y 16 sin previa exposición a las dosis de UV-C. Posteriormente, la fruta fue almacenada en cava simulando un viaje de 23 días al continente europeo. Se realizaron 2 evaluaciones, 1 evaluación en vida verde y 1 evaluación en estado de maduración (amarillo). Por otro lado, las puntuaciones del grado de daño se evaluaron

mediante la escala de puntuaciones propuestas por Alvindia et al. 2004 y modificado por Alvindia et al., 2012.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos evaluados sobre la inoculación artificial de las suspensiones fúngicas.

Tratamientos (T)	
1	10 J m ⁻² (C)
2	40 J m ⁻² (C)
3	40 J m ⁻² (I)
4	10 J m ⁻² (C) + 25 % (A + T)
5	40 J m ⁻² (C) + 25 % (A + T)
6	40 J m ⁻² (I) + 25 % (A + T)
7	10 J m ⁻² (C) + 50 % (A + T)
8	40 J m ⁻² (C) + 50 % (A + T)
9	40 J m ⁻² (I) + 50 % (A + T)
10	10 J m ⁻² (C) + 75 % (A + T)
11	40 J m ⁻² (C) + 75 % (A + T)
12	40 J m ⁻² (I) + 75 % (A + T)
13	25 % (A + T)
14	50% (A + T)
15	75% (A + T)
16 (+)	100% (A + T)
17 (-)	**

(C) *Continuo*

(I) *Intermitente*

(A + T) *Azoxistrobina + Tiabendazol*

(+) *Control*

Positivo

(-) *Control*

Negativo

** *Patógenos sin fungicida y exposición a UV-C*

1.5.2.8. Evaluación de la luz UV-C en condiciones naturales. Posterior al lavado de la fruta en los tanques de desleche se evaluaron dosis de energía de 40 J m^{-2} con aplicaciones intermitentes (I) de 1 segundo a una distancia constante de 25 cm entre las lámparas y la corona, sin previa inoculación del patógeno. A su vez, se utilizaron combinaciones de moléculas químicas (Azoxistrobin + Tiabendazol) a concentraciones de 75% y 50% (**Tabla 3**). Los tratamientos se asperjaron con bomba de capacidad de 1.2 Lt previamente calibrada. Cada bandeja se asperjó con 180 ml posterior a la exposición a las dosis de UV-C. Posteriormente, la fruta fue almacenada en cava simulando un viaje de 23 días al continente europeo. Se realizó una única evaluación en estado de maduración (vida amarilla).

Tabla 3. Descripción de los tratamientos evaluados sobre la fruta en condiciones naturales.

Tratamientos (T)	
1	40 J m^{-2} (I) + 75% (A + T)
2	75% (A + T)
3	40 J m^{-2} (I) + 50% (A + T)
4	50% (A + T)
5	40 J m^{-2} (I)
6 (+)	100% (A + T)
7 (-)	*

(I) *Intermitente*

(A + T) *Azoxistrobina + Tiabendazol*

(+) *Control Positivo*

(-) *Control Negativo*

* *Patógenos sin fungicida y exposición a UV-C*

1.5.2.9. Diseño experimental. Para la evaluación de la luz UV-C sobre la calidad de la fruta, cada uno de los tratamientos consistió de 5 repeticiones representadas en cajas que contenían 10 clúster de banano para un total de 30 cajas y 300 pseudo-repeticiones. A su vez, para la evaluación de la luz UV-C sobre las suspensiones fúngicas inoculadas artificialmente, se utilizaron 3 cajas por tratamiento para un total de 867 pseudo-repeticiones. Finalmente, para la evaluación de la luz en UV-C en condiciones naturales se utilizaron 10 cajas representando las repeticiones por tratamiento para un total de 1190 pseudo-repeticiones. El diseño experimental fue completamente aleatorio y los resultados se analizaron utilizando el software y

lenguaje de programación R project (versión 4.0.5, R coreteam, 2021) mediante pruebas no paramétricas, debido a que no se cumplieron los supuestos de normalidad. Los datos fueron analizados mediante la prueba de *Kruskal-Wallis* con un nivel de significancia de $p = 0.05$.

1.5.3. Resultados y discusión

1.5.3.1. Evaluación de la luz UV-C sobre calidad del fruto. Los resultados obtenidos mostraron que a dosis de UV-C de 25 y 50 J m^{-2} , la calidad de la fruta no se vio afectada tanto en vida verde como amarilla, durante los 23 días posteriores a la exposición (DPE) a la luz UV-C. Sin embargo, a dosis de energía de 75, 100 y 200 J m^{-2} , se observó un daño visual significativo representado en porcentaje de incidencia. Cabe señalar que a dosis de 200 J m^{-2} , se evidenció afectación en el 100% de la población muestreada a partir de los 5 DPE (**Figura 1**).

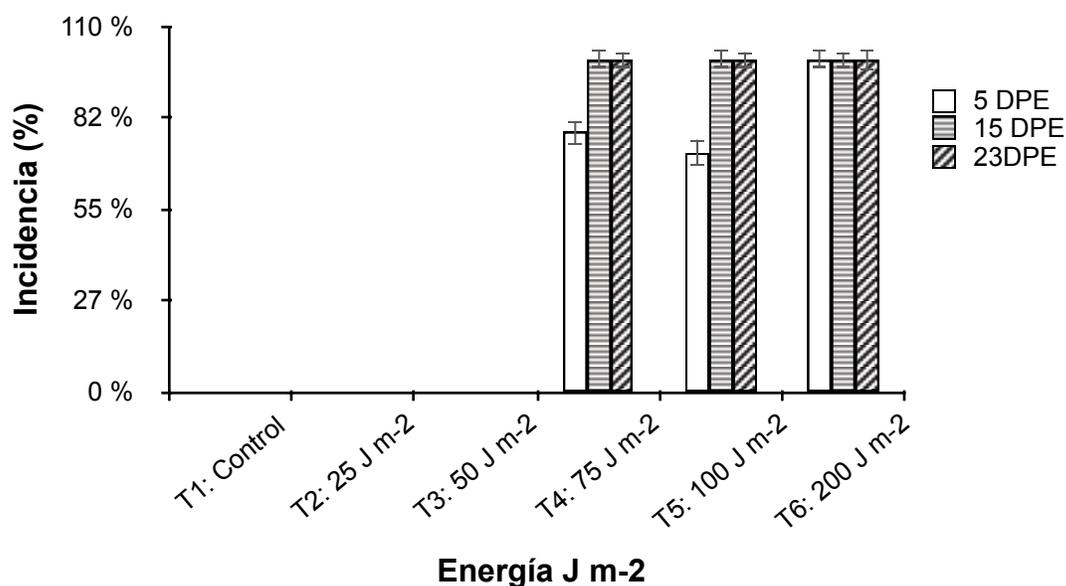


Figura 1. Efecto de diferentes dosis de energía UV-C sobre clústeres de banano Cavendish evaluados a los 5, 15 y 23 DPE, representada en % de incidencia. Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm$ error estándar).

El grado de daño a dosis de energía de 75, 100 y 200 J m^{-2} osciló entre 1 a 5 según la escala propuesta por Ding & Ling (2014), evidenciando mayores daños a dosis de 100 y 200 J m^{-2} durante los tres tiempos evaluados (DPE). Mohamed y colaboradores

(2017) mostraron resultados similares, evidenciando que a dosis de 10 J m^{-2} no presentaron alteraciones visuales en la calidad del fruto. Sin embargo, a dosis de 20, 30, 40 y 50 J m^{-2} presentaron alteraciones de menor a mayor proporción respectivamente. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, posiblemente a las condiciones de la fruta y tiempos de exposición a la emisión de luz UV-C utilizadas en el ensayo (**Figura 2A y B**).

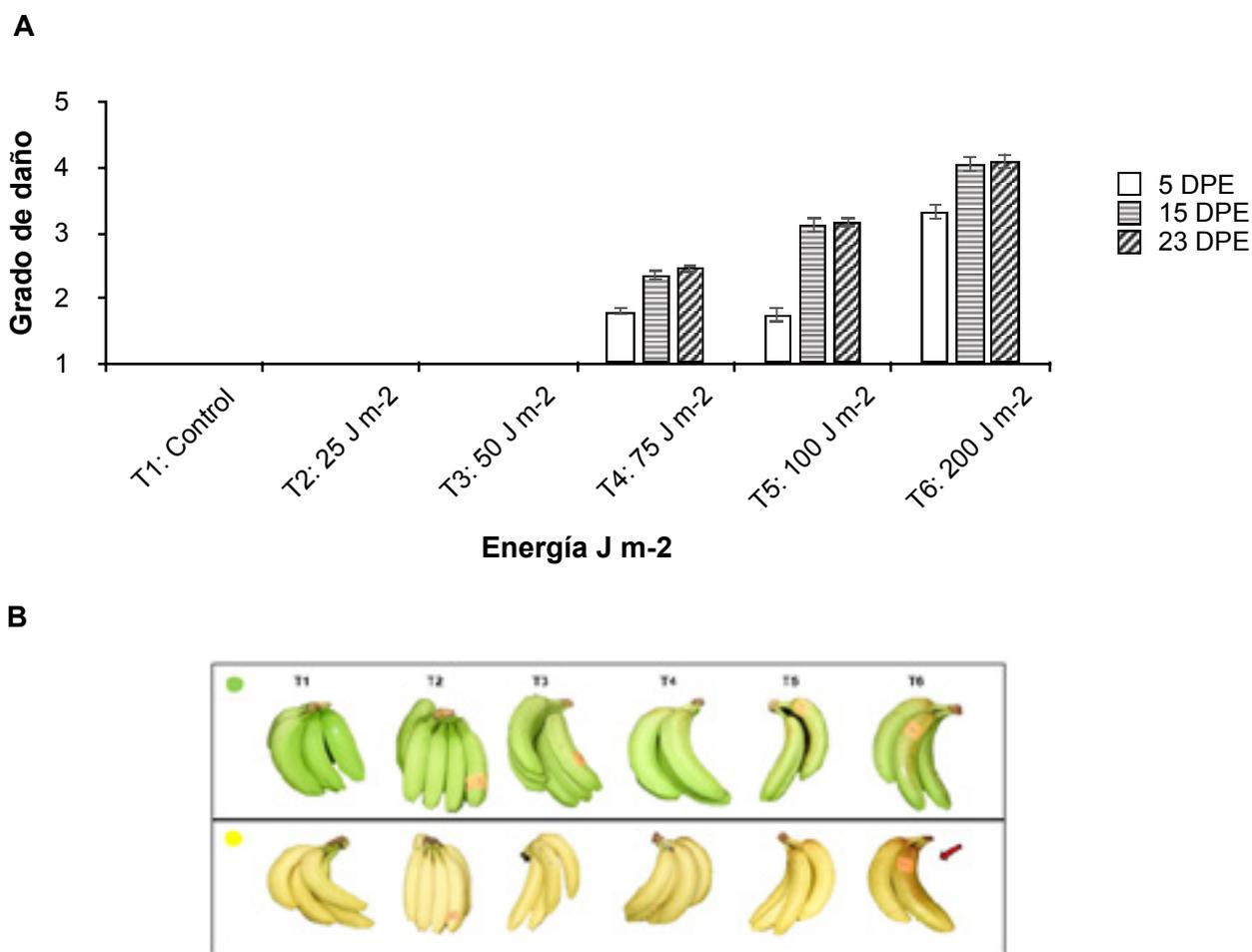


Figura 2. A. Grado de daño ocasionado por las diferentes dosis de energía UV-C sobre la cáscara de la fruta a los 5, 15 DPE (estado verde) y 23 DPE (estado amarillo o maduro). Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm \text{SE}$) **B.** Registro fotográfico en vida verde y amarilla del efecto de la luz UV-C sobre la cáscara de la fruta. La flecha roja indica el pardeamiento severo causado por la exposición UV-C.

En relación a los resultados obtenidos de grados Brix, los valores difieren significativamente entre los tratamientos, encontrándose mayor cantidad a exposiciones de luz UV-C de 50 J m^{-2} cuando fueron comparados con dosis de 200 J m^{-2} . Sin embargo, para cada dosis de energía los grados Brix no evidenciaron discrepancias con el tratamiento control (0 J m^{-2}). Cabe resaltar que, a dosis de 50 J m^{-2} se mostraron valores altos de 17,2, mientras que, a dosis de energía de 200 J m^{-2} , los valores de sólidos solubles totales tuvieron una media de 14,9. En cuanto a la resistencia a la penetración, los resultados de los tratamientos no mostraron diferencias significativas respecto al tratamiento control (**Figura 3**).

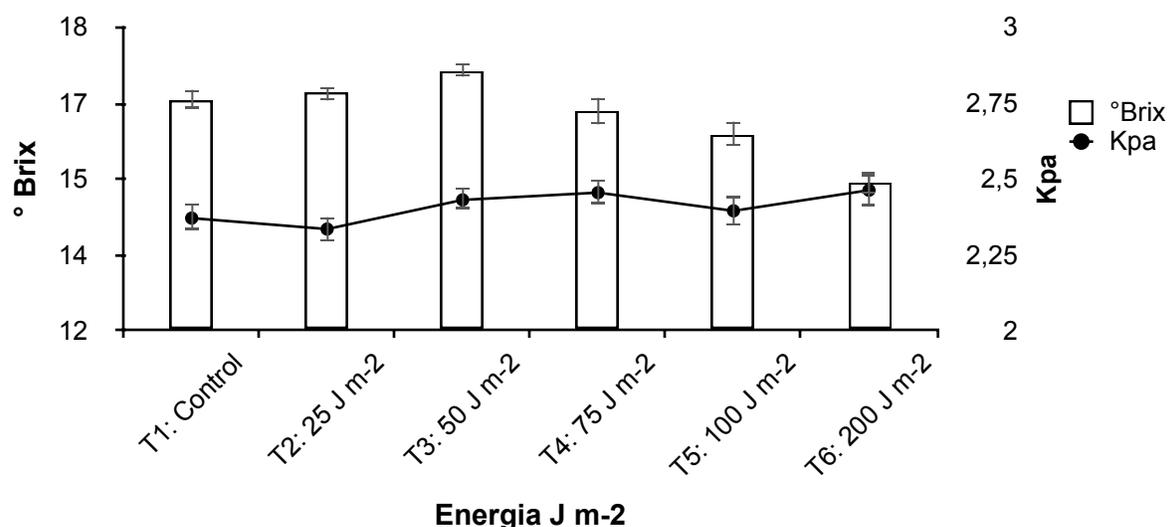


Figura 3. Efecto de diferentes dosis de energía UV-C sobre la calidad de clústeres de banana Cavendish en relación a grados Brix ($^{\circ}\text{Brix}$) y resistencia a la penetración (Kpa). Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm \text{SE}$).

En trabajos realizados por Acosta (2017), las evaluaciones de calidad con respecto a grados Brix y resistencia a la penetración, evidenciaron medias más altas a dosis de energía de 50 J m^{-2} lo que fue demostrado de igual manera en el presente estudio. A su vez, Uribe y colaboradores (2018) indicaron daños severos en la piel de clústeres de variedad Cavendish a dosis superiores a 120 J m^{-2} . Sin embargo, Los resultados obtenidos en este trabajo y los citados anteriormente aluden a que este tipo de método físico no alteran y no son determinantes en relación a la calidad de la fruta cuando son utilizadas a dosis bajas y exposiciones cortas de energía.

1.5.3.2. Efecto de la luz UV-C sobre la enfermedad de la pudrición de la corona. A partir de los resultados obtenidos en relación a la calidad de la fruta, se evaluaron dosis de energía no nocivas de 10, 40 (C) y 40 (I) J m^{-2} aplicadas a las coronas de banana, evidenciando una reducción en el índice de severidad (IS) a los 16 DPE en comparación al control negativo. Sin embargo, los resultados tuvieron mayor eficiencia cuando fueron aplicados en combinaciones con diferentes concentraciones

de fungicidas habitualmente utilizados. El tratamiento de 40 J m⁻² (I) + 50% de Azoxistrobina y Tiabendazol presentó el mejor resultado frente a los demás tratamientos con una reducción en el índice de severidad de 57% respecto al control negativo o inoculado (**Figura 4**). En estudios publicados por Acosta (2017), la reducción de la enfermedad por efecto de la luz UV-C fue igual al control químico convencional, lo que soporta los resultados obtenidos en este estudio que mostraron la misma o incluso mejor respuesta que el tratamiento control. Adicionalmente, Uribe (2018) demostró que dosis de 40 J m⁻² redujeron significativamente el índice de severidad en vida verde y amarilla en banana Cavendish, lo cual es confirmado por los resultados de nuestro estudio (**Figura 4**).

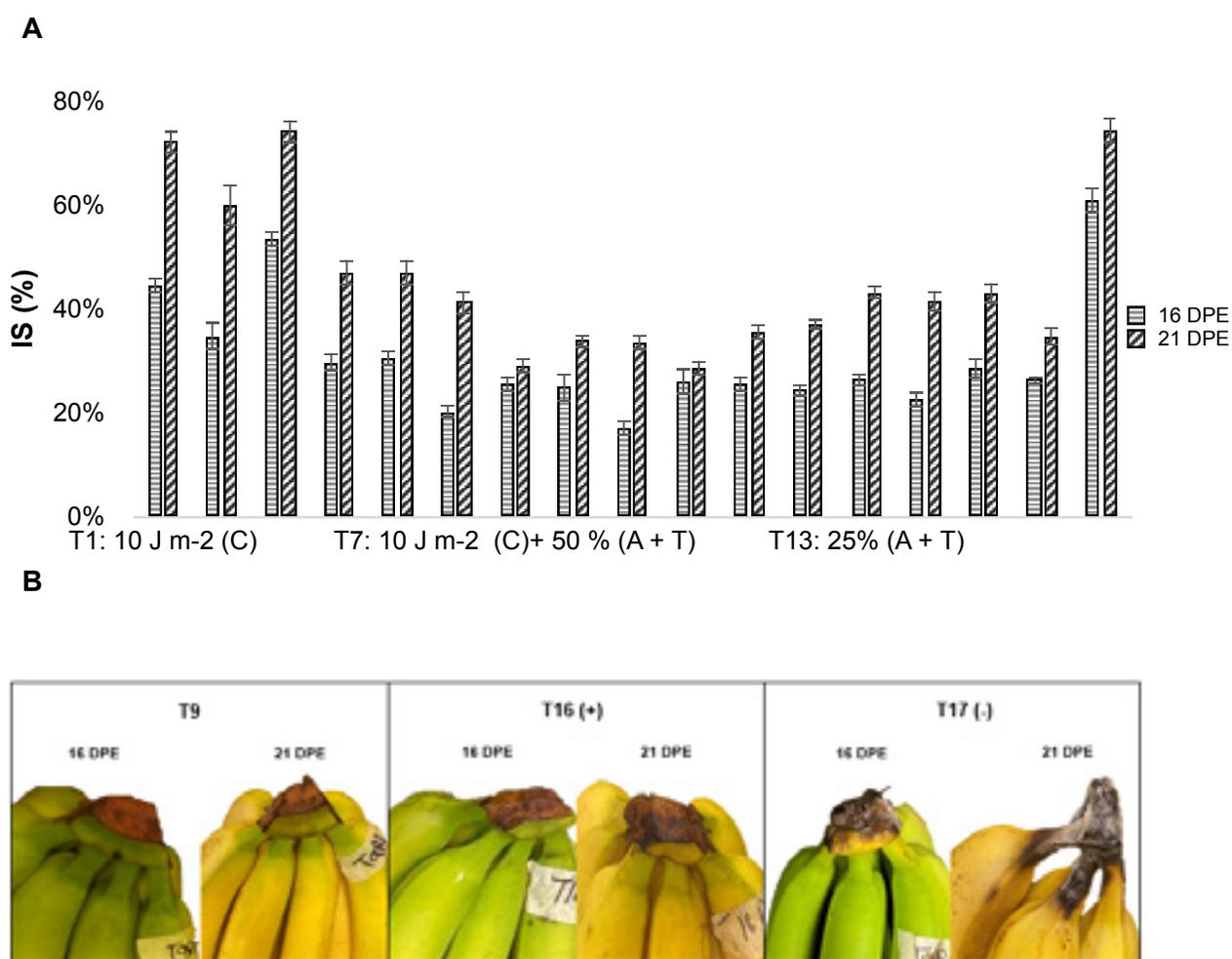


Figura 4. A. Efecto de diferentes dosis de energía UV-C sobre el índice de severidad de la pudrición de la corona en banana Cavendish a los 16 y 21 DPE. Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm SE$) **B.** Registro fotográfico del mejor tratamiento observado (T9) comparado con el control positivo (T16) y el control negativo (T17), evaluados a 16 y 21 DPE.

Por otra parte, el efecto de la emisión de energía intermitente posiblemente favorece la reducción en el índice de severidad debido a que ocurre diferencias en el grado de recuperación celular impidiendo que la enzima fotoliasa encargada del reconocimiento de los daños causados en el ADN realice su función durante el proceso de fotoreparación o fotoreactivación, caso contrario, cuando las células son expuestas de manera continua pueden recuperarse y volverse funcionales de nuevo en condiciones favorables (Sinha et al., 2002; Rodriguez et al., 2014; Verma et al., 2020).

Es importante mencionar que las estructuras vegetativas (micelio) se evidenciaron en todos los tratamientos a los 23 DPE, lo cual se explica por la alta concentración de la suspensión fúngica que fue inoculada artificialmente, tres veces mayor a la encontrada naturalmente (datos no presentados). Sin embargo, cabe destacar que a pesar de la presión de inóculo alta, el tratamiento de 40 J m^{-2} (I) en combinación con 50% de Azoxistrobina y Tiabendazol presento resultados interesantes tanto en vida verde como amarilla evidenciando menor presencia de micelio en las coronas evaluadas (**Figura 5**).

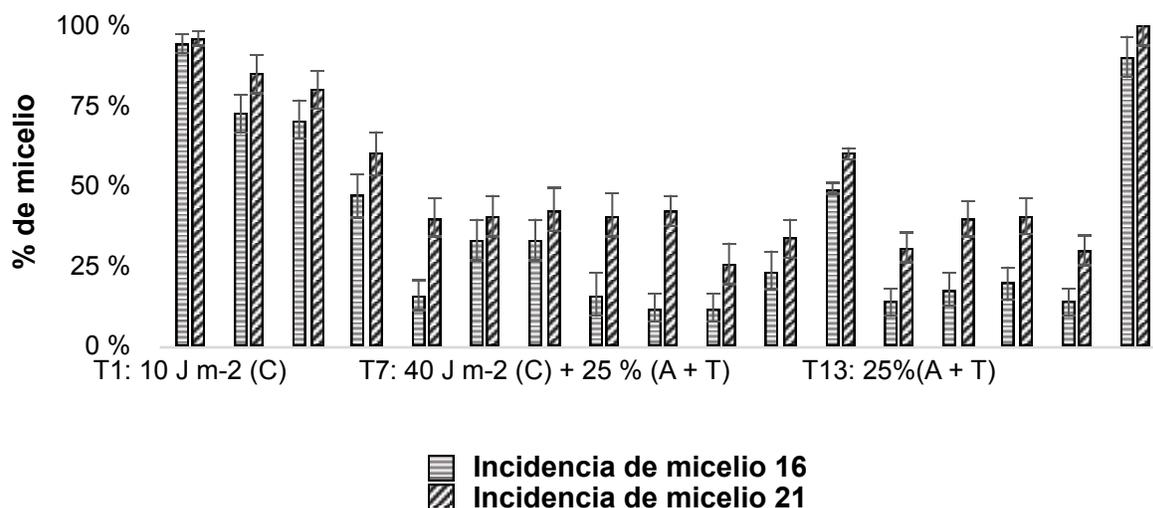


Figura 5. Efecto de diferentes dosis de energía UV-C a los 16 y 21 DPE ante la presencia de micelio o estructuras vegetativas en la corona de banano Cavendish. Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm \text{SE}$).

1.5.3.3.Efecto de la luz UV-C sobre la pudrición de la corona en condiciones naturales. En condiciones naturales los clústeres de banana fueron expuestos a una única dosis de energía UV-C obtenida del ensayo anterior y a diferentes concentraciones de fungicidas, resultando que a dosis de 40 J m^{-2} (I) en combinación con 75% de las moléculas de Azoxistrobina y Tiabendazol controlaron 100% tanto estructuras vegetativas de los patógenos como la pudrición causada directamente por el desarrollo de la enfermedad, evidenciando coronas totalmente sanas comparado con el tratamiento control (**Figura 6**).

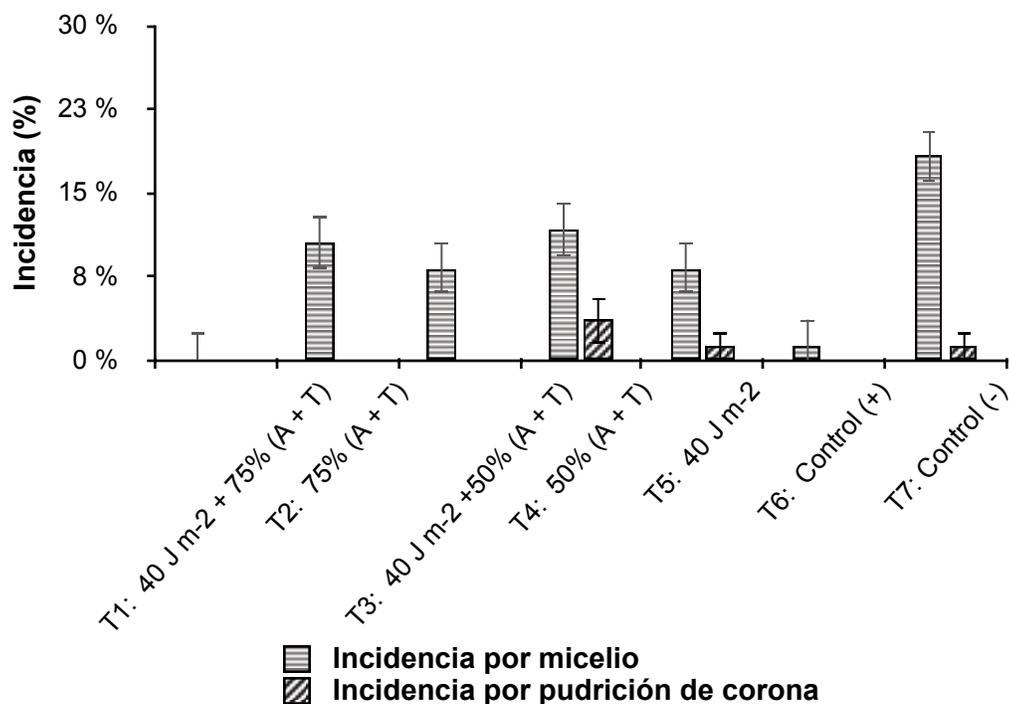


Figura 6. Efecto de los diferentes tratamientos de dosis de UV-C en combinación con moléculas de síntesis química sobre el desarrollo de la enfermedad a los 23 DPE para la variedad Cavendish, en condiciones de oscuridad, 16°C y HR 85%. Letras diferentes indican diferencias significativas determinadas por la prueba de *Kruskal-Wallis* ($p \leq 0.05 \pm \text{SE}$).

Los resultados presentados en los diferentes ensayos realizados en el presente estudio, evidencian el potencial que tiene la utilización de radiación UV-C como método de control físico de enfermedades postcosecha, específicamente para la pudrición de corona en banana. Es importante mencionar que la utilización de dosis de UV-C ha sido probado en otros patosistemas con resultados relevantes como los publicados por Gunasegaran y colaboradores (2018) reportando una reducción del 48.32% a dosis de 72 kJ m^{-2} en condiciones *in vitro* de *Colletotrichum* sp., agente causal de antracnosis en mango. Así mismo, Charles et al., (2008) observaron que a dosis de 3.7 kJ m^{-2}

estimulaba la biosíntesis de compuestos fenólicos en las células del epicarpio y mesocarpio, permitiendo una reducción en la severidad causada por *Botrytis cinerea* agente causal del moho gris en tomate. Cabe destacar, que la *United states Food, Health Canada* y la Unión Europea son las principales reguladoras mundiales en la manipulación de alimentos y han relacionado el potencial de la luz UV-C en el rendimiento de inactivación microbiana en industrias alimenticias procesadas, pesqueras, frutas y hortalizas; lo cual da aún más importancia a los resultados obtenidos en este estudio.

1.5.4. Conclusiones

- Dosis de energía inferiores a 50 J m^{-2} no provocaron pardeamiento sobre la superficie de de la fruta. Caso contrario se evidencio a dosis mayores causando afectación severa en gran parte de los clústeres evaluados.
- La exposición a dosis de energía de UV-C no alteraron los parámetros relacionados a ° Brix y Firmeza de la fruta en la totalidad de los tratamientos evaluados.
- Cuando la suspensión fúngica fue inoculada, la aplicación de dosis de energía de 40 J m^{-2} de manera intermitente en combinación con 50% de las moléculas químicas Azoxistrobina y Tiabendazol redujo el índice de severidad en un 57% respecto al control negativo o inoculado.
- En condiciones naturales los mejores resultados se presentaron a dosis de energía de 40 J m^{-2} de manera intermitente en combinación con 75% de las moléculas químicas Azoxistrobina y Tiabendazol redujeron en un 100% tanto estructuras vegetativas como la pudrición causada directamente por el desarrollo de la enfermedad.
- Los resultados presentados en este estudio, evidencian que el control físico de enfermedades postcosecha, específicamente la pudrición de corona causada por *Fusarium spp.*, y *Colletotrichum spp.*, mediante la utilización de dosis de energía de UV-C son una alternativa promisoría, razonable con el medio ambiente, con los sistemas de producción y los mercados internacionales que buscan la reducción en la utilización de moléculas de síntesis química.

1.5.5. Referencias bibliográficas

- Abd-Alla, M. A., El-Gamal, N. G., El-Mougy, N. S., & Abdel-Kader, M. M. (2014). Post-harvest treatments for controlling crown rot disease of Williams banana fruits (*Musa acuminata* L.) in Egypt. *Plant Pathology and Quarantine*, 4(1), 1-12.
- Acosta (2017). Diseño de cámara de luz UV-C prototipo para el manejo de pudrición de corona en frutos de exportación de banano Recuperado de <https://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/41544>
- Aguilar, R., Garcia, R., Dulanto, J., Maldonado, E. (2013). Hongos asociados a la pudrición de la corona en frutos de banano orgánico (*Musa* spp. L.) en Piura, Perú, (2013), pp. 81.
- Alvindia, D. G., Kobayashi, T., Natsuaki, K.T. y Tanda, D. (2004). Inhibitory influence of inorganic salts on banana postharvest pathogens and preliminary application to control Crown rot. *Journal of General Plant Pathology* 70 (1): 61-65.
- Alvindia, DG (2012). Revisando los tratamientos con agua caliente para controlar la pudrición de la corona del cv del banano. *Buñulan. Protección de cultivos*, 33, 59-64.
- Asociación bananeros de Colombia, AUGURA. (2021). Coyuntura bananera 2020. Recuperado de <https://augura.com.co/wp-content/uploads/2021/04/Coyuntura-Bananera-2020.pdf>
- Barka, E.A., Kalantari, S., Makhlof, J. y Arul, J. 2000. Impacto de la irradiación con UV-C sobre las enzimas que degradan la pared celular durante la maduración de la fruta del tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). *Revista de química agrícola y alimentaria*, 48 (3), 667-671.
- Campuzano Vera, A. M. (2010). Efecto del tipo de producción de banano Cavendish en su comportamiento poscosecha (Bachelor's thesis).
- Céspedes, C. R., Fernández, A. C. T., & Brenes, P. C. (2010). Evaluación de la calidad de fruta de banano de altura que se produce en el cantón de Turrialba, Costa Rica. *InterSedes: Revista de las Sedes Regionales*, 11(20), 107-127.
- Charles, M. T., Goulet, A. y Arul, J. (2008). Base fisiológica de la resistencia inducida por UV-C a *Botrytis cinerea* en frutos de tomate. *Biología y tecnología de poscosecha*, 47 (1), 41-53. doi: 10.1016 / j. postharvbio.2007.05.019
- Comisión europea (2020). Estrategia "De la granja a la mesa". Recuperado https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2020/Presentacion_Estrategia_de_la_Granja_a_la_mesa.pdf

- Ding, P., & Ling, Y. S. (2014). Browning assessment methods and polyphenol oxidase in UV-C irradiated Berangan banana fruit. *International Food Research Journal*, 21, 1667–1674
- Droby, S. 2006. Mejora de la calidad y seguridad de frutas y hortalizas frescas después de la cosecha mediante el uso de agentes de control biológico y materiales naturales. *Acta Hortic.* 709: 45–51.
- FAO. (2015). FAO-PAISES EXPORTADORES DE BANANO. Obtenido de <http://www.fao.org/3/y5102s/y5102s05.htm>
- FAO. 2019 Food Outlook–Biannual Report on Global Food Markets–November 2019. Rome. Available online: <http://www.fao.org/3/ca6911en/ca6911en.pdf> (accessed on 26 November 2020).
- FAO. (2020). Análisis del mercado del banano. Obtenido de <http://www.fao.org/3/ca9212es/ca9212es.pdf>
- FDA. (2016). USA: Code of Federal Regulations Title 21. Recuperado a partir de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=179>.
- Gunasegaran, B., Ding, P. y Kadir, J. (2018). Identificación morfológica y evaluación in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* en mango “Chok Anan” mediante irradiación UV-C. *Acta Horticulturae*, (1213), 599–602. doi: 10.17660 / actahortic.2018.1213.90
- Henao (2016). Recopilado de boletines publicados por la Asociación bananeros de Colombia, AUGURA. (2021).
- Jones, D. y Daniells, J. (2019). Introducción al banano, abacá y enset. En: Manual de enfermedades del banano, Abacá y Enset (ed. D. Jones), págs. 1–40. Wallingford, Reino Unido: CABI International.
- Larrea, J. A. (2020). Elaboración de un manual fitosanitario de las principales enfermedades de banano (*Musa paradisiaca* L.), en Baba, Los Ríos, Ecuador.

- Lassois, L. y de Lapeyre de Bellaire, L. (2014). Enfermedad de la pudrición de la corona de los plátanos. *Decaimiento poscosecha*, 103–130. doi: 10.1016 / b978-0-12-411552-1.00003-x
- O'Brian, W.J., Hunter, G.L., Rosson, J.J., Hulsey, R.A. & Carns, K.E. (1995). Ultraviolet system design: past, present and future. In: *Proceedings Water Quality Technology Conference, AWWA*, pp. 271-305, New Orleans, LA., Nov. 12-16, 1995
- Rodríguez, RA, Bounty, S., Beck, S., Chan, C., McGuire, C. y Linden, KG (2014). Fotorreactivación de bacteriófagos después de la desinfección UV: papel de la estructura del genoma e impactos de la fuente UV. *Investigación sobre el agua*, 55, 143-149.
- Sangeetha, G., Usharani, S., & Muthukumar, A. (2010). Significance of *Lasiodyplodia theobromae* and *Colletotrichum musae* in causing crown rot in banana and their reaction on some commercial banana cultivars. *Indian Journal of Horticulture*, 67(1), 21-25.
- S. Mohamed, N. T., Ding, P., Kadir, J. y M. Ghazali, H. (2017). Potencial de la irradiación germicida UVC para suprimir la enfermedad de la pudrición de la corona, conservando la calidad poscosecha y la capacidad antioxidante de *Musa AAA "Berangan"* durante la maduración de la fruta. *Ciencia de los alimentos y nutrición*, 5 (5), 967–980. doi: 10.1002 / fsn3.482
- Sinha, RP y Häder, DP (2002). Daño y reparación del ADN inducidos por rayos UV: una revisión. *Ciencias fotoquímicas y fotobiológicas*, 1 (4), 225–236.
- Urban, L., Charles, F., de Miranda, M. R. A. y Aarrouf, J. (2016). Comprender los efectos fisiológicos de la luz UV-C y aprovechar su potencial agronómico antes y después de la cosecha. *Fisiología y bioquímica vegetal*, 105, 1-11. doi: 10.1016 / j. plaphy.2016.04.004

- Urban, L., Chabane Sari, D., Orsal, B., Lopes, M., Miranda, R. y Aarouf, J. (2018). Luz UV-C y luz pulsada como alternativas a los elicitores químicos y biológicos para estimular las defensas naturales de las plantas contra las enfermedades fúngicas. *Scientia Horticulturae*, 235, 452–459. doi: 10.1016 / j.scienta.2018.02.057
- Uribe Palacio, S. (2018). Efecto de tratamientos hidrotérmicos y UV-C poscosecha sobre enfermedades y calidad de fruta de banano (*Musa sp.*, grupo AAA, subgrupo Cavendish).
- Vasanthakumari, MM, Shridhar, J., Madhura, RJ, Nandhitha, M., Kasthuri, C., Janardhana, B. y Shaanker, RU (2019). Papel de los endófitos en el crecimiento temprano de las plántulas de las plantas: una prueba que utiliza un tratamiento de semillas con fungicida sistémico. *Informes de fisiología vegetal*, 24 (1), 86-95.
- Verma, P., Tandon, R., Yadav, G. y Gaur, V. (2020). Aspectos estructurales de la reparación y recombinación del ADN en la mejora de cultivos. *Frontiers in Genetics*, 11, 1103.

1.6. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA INTRODUCCIÓN DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical

Autores: Gloria Marcela Pérez, Andrés Mauricio Pinzón, Sebastian Zapata Henao

Resumen

Colombia es uno de los mayores productores y exportadores de banano de América Latina y el Caribe (ALC), sin embargo, desde el año 2019 su producción se encuentra amenazada por la presencia de la enfermedad conocida como marchitez por *Fusarium*, causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (Foc R4T). El patógeno está contenido en dos de los departamentos productores más importantes del país, con excepción del eje bananero de Urabá que continúa siendo una zona libre de la enfermedad. Este patógeno puede dispersarse de forma activa o pasiva, siendo ésta última la de mayor importancia por su difícil manejo, por lo anterior se realizó una identificación y clasificación de los límites bananeros característicos de la región de Urabá, a partir de la construcción de una matriz de riesgo asociado a la introducción de Foc R4T. Se encontró que hay zonas de la región con nivel de riesgo alto, en donde predominan los límites con otros sistemas productivos, comunidades o vías principales, y otras zonas con un nivel de riesgo medio en donde predominan los límites bananeros entre sí y las vías terciarias.

Palabras clave: Riesgo, Patógeno, Manejo, Foc R4T

1.6.1. Introducción

El Banano es una de las principales frutas consumidas a nivel mundial, representando un alimento básico para millones de personas (Dita, 2018). América Latina y el Caribe (ALC) son el mayor productor y exportador de esta fruta y Colombia ocupa el cuarto lugar en exportaciones, alcanzando para el año 2020 aproximadamente 2 millones de toneladas después de un 7.3% de expansión, este incremento fue posible debido a la implementación de medidas de mitigación para el brote reportado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical (Foc R4T) y el COVID-19, lo que contribuyó a que se continuarán desarrollando todas las actividades relacionadas con el cultivo (FAO, 2021). Según AUGURA (2021) el área sembrada de banano en Colombia aumentó en 227 hectáreas (has) para un total de 51,454 has reportadas. Este crecimiento tuvo lugar en la región de Urabá.

Una de las principales limitaciones fitosanitarias del cultivo de Banano es la marchitez por *Fusarium*, considerada como una de las diez enfermedades vegetales más destructivas de la historia (Dita 2018; Ploetz, 2015). En el año 2019 se reportó por primera vez en el continente americano la presencia de una cepa de Foc R4T, específicamente en Colombia en el departamento de la Guajira, limitándose a un área de 175 has según el Instituto Técnico Agropecuario (ICA). Recientemente mediante la resolución 115182 del 17 de diciembre de 2021, el ICA confirmó un nuevo brote en el

departamento de Magdalena, por lo cual la enfermedad ya tiene presencia en dos de las zonas productoras de banano más importantes del país. El eje bananero de Urabá aún permanece libre de la enfermedad.

Foc R4T es un hongo habitante del suelo con reproducción asexual, que produce microconidias, macroconidias y clamidosporas como estructuras de supervivencia. Puede persistir en el suelo, en tejido huésped o como endófito asintomático en plantas no hospedantes, por lo tanto, es extremadamente difícil su manejo. Adicionalmente puede estar presente en niveles profundos del suelo y con periodos de incubación prolongados. Actualmente no existe un método eficaz para detectar plantas infectadas antes de que se manifiesten síntomas externos (Pegg, 2019). A su vez, el patógeno puede propagarse de forma activa o pasiva, ésta primera ocurre a través del suelo de una planta a otra debido a la proximidad de las raíces. Este tipo de propagación puede limitarse por medio de la cuarentena de la planta infectada y sus vecinas; no obstante, cuando la propagación es pasiva confinar al patógeno es más complejo. Los medios de propagación pasivos pueden ser: a través del material de siembra asintomático, el cual es el principal medio de dispersión a nivel local, nacional e internacional, el agua, generalmente proveniente de riego y/o inundaciones, suelos contaminados, movilizados por humanos (maquinaria agrícola, vehículos, calzado y ropa del personal de campo) o animales, residuos de cosecha infectados, hojas de banano en souvenirs, herramientas que han tenido contacto con savia de una planta infectada o suelos contaminados e insectos como el barrenador picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) (Pegg, 2015; Thangavelu, 2020; Dita, 2018).

En ese contexto, desde el año 2000 los reportes de Foc R4T han incrementado de manera exponencial, esto es debido a que las medidas de contención son cada vez más vulnerables siendo el tránsito indiscriminado de material contaminado (vegetal, suelo, agua, entre otros), uno de los factores más importantes para su diseminación. Aunado a esto, el poco conocimiento a cerca de conceptos básicos del patógeno y su epidemiología, la falta de planes de cuarentena y/o contingencia dificultan aún más las estrategias de manejo. De igual manera, la dispersión del material de siembra asintomático ha sido un factor determinante, sin embargo, algunos países han detectado otros medios de dispersión que han sido detonantes en el desarrollo de la epidemia como es el caso de China con el agua contaminada del río Pearl y las inundaciones generadas por altas precipitaciones; el suelo contaminado transportado por animales como cerdos y jabalís en sistemas agrícolas de pequeños productores o comunidades cercanas a las plantaciones en Australia (Martínez Solórzano, 2020) y en el Medio Oriente el transporte de fruta contaminada, aunque esta premisa no se ha comprobado científicamente (Dita, 2018).

Debido a lo anteriormente expuesto, y tomando como modelo las matrices de riesgo implementadas en Queensland, Australia como medida de control y contención para restringir los movimientos dentro y fuera de las fincas bananeras (Pegg, 2019), se hace necesario y de gran importancia caracterizar las zonas productoras de banano en la región del Urabá Antioqueño, con la finalidad de identificar y clasificar los medios de dispersión presentes, los cuales representan una amenaza como vía de ingreso de la enfermedad en una zona declarada libre del patógeno.

1.6.2. Materiales y métodos

1.6.2.1. Área de estudio. El estudio fue realizado en la Zona bananera de Urabá, que está localizada al noreste del departamento de Antioquia, entre los municipios de Chigorodó, Carepa, Apartadó y Tubo (**Figura 1**), limita al norte con los municipios de Necoclí y San Pedro de Urabá, al sur con el río Tumaradó y el departamento del Chocó, al este con la serranía de Abibe y el río mulato y al oeste con el golfo de Urabá y el río León; presenta un clima tropical lluvioso, tropical húmedo y seco (Escobar, 2002).

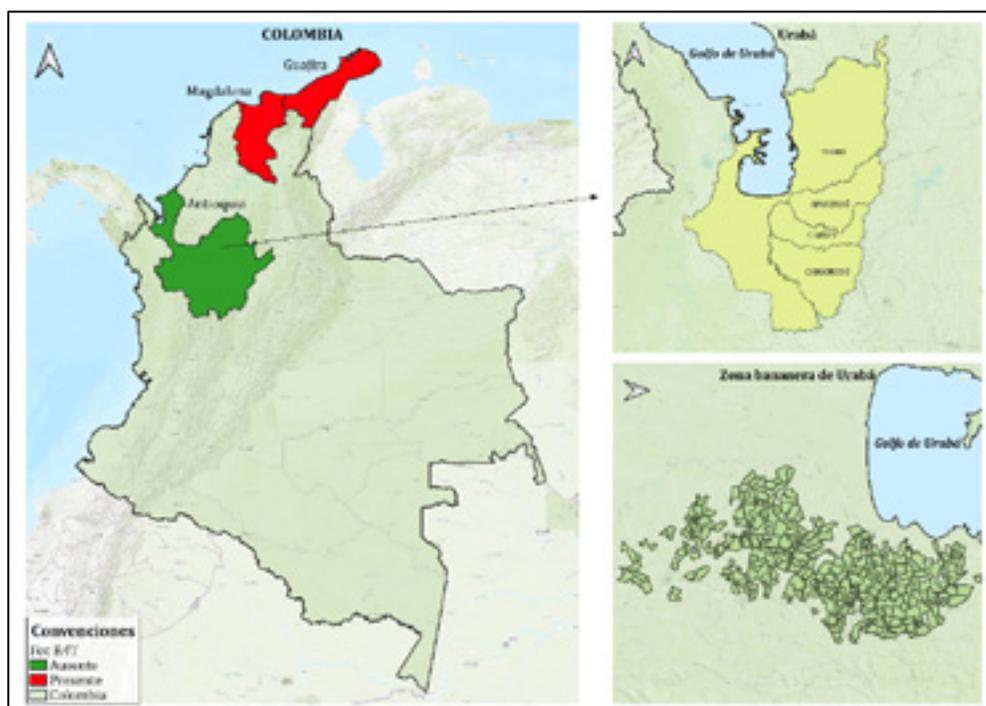


Figura 1. Ubicación del eje bananero de la región de Urabá Antioquia.

1.6.2.2. Construcción de matriz del nivel del riesgo asociado a Foc R4T. Para la construcción de la matriz de riesgo asociada a la introducción de *Foc R4T*, se realizó una visita de campo a las 313 fincas bananeras de la región de Urabá, se documentaron los límites de cada una y se clasificaron en una escala tipo semáforo, desde riesgo alto a bajo. Para esta clasificación se tuvo en cuenta el estado actual de la enfermedad en Colombia, la cual se encuentra contenida únicamente en los departamentos de la Guajira y Magdalena y los reportes históricos de los medios de dispersión del patógeno a nivel mundial y su relevancia.

1.6.2.3. Levantamiento y procesamiento de la información. Se realizó el levantamiento de la información en campo con el apoyo del personal técnico del convenio 042 suscrito entre ICA y AUGURA y el área administrativa de cada finca y se procesó en el Software libre QGIS 3.10.9A.

1.6.3. Resultados y discusión

1.6.3.1. Matriz del nivel del riesgo asociado a Foc R4T. Se procesó 143 fincas de las 313 y se encontró que los límites bananeros característicos son:

1.6.3.1.1. Comunidades. Se encontraron comunidades rurales y urbanas, las primeras comprenden veredas, corregimientos, resguardos indígenas y caseríos, y las segundas corresponden al casco urbano de los municipios de Chigorodó, Carepa y Apartadó. Este límite fue clasificado con nivel de riesgo alto, debido a que las comunidades pueden ser un medio de dispersión del patógeno al acceder a las fincas por linderos no autorizados sin la desinfección previa (calzado, vehículos o herramientas) ya sea para transitar por el cable vía o realizar otras actividades no permitidas, adicionalmente es común encontrar en las comunidades rurales parcelas de musáceas como cultivo de trapatio para consumo local y/o sistemas pecuarios. Lo anterior coincide con lo reportado a nivel mundial, como es el caso de Australia, donde los asentamientos humanos en asocio con animales han sido un medio de dispersión determinante, por su parte los saltos transcontinentales del patógeno desde el sudeste asiático hasta África o Medio Oriente también sugieren que la actividad antropogénica ha sido la responsable del movimiento del patógeno a través de material de siembra infectado y suelo contaminado en el calzado, llantas de los vehículos, ropa y/o herramientas (Dita, 2018, Ploetz, 2015). Aproximadamente los cultivos de banano de la región limitan en 28.72 km con comunidades rurales y urbanas de este tipo.

1.6.3.1.2. Vías. Esta región cuenta con una red vial que comunica al eje bananero con el interior y la costa norte del país y vías secundarias (privadas) y terciarias que conectan las fincas bananeras con el casco urbano y los puertos de embarque (Escobar, 2002). Las vías primarias son vías nacionales de alto flujo vehicular, entre las cuales se encuentra la troncal Chigorodó-Turbo y las variantes de Carepa, Apartadó y Turbo. Estas vías se clasificaron con nivel de riesgo alto, debido al nivel de exposición del cultivo.

En las vías secundarias se encuentra la vía Zungo-Embarcadero y Nueva Colonia y en las terciarias las 12 vías comunales (Santillana, Idem Saden, Chiridó, El Silencio, El Cuatro, Los Caribes, El Siete, El Diez, Churidó, San Jorge, La Suerte y Palos Blancos) donde confluyen la mayor cantidad de fincas bananeras, además de vías municipales, veredales e internas de acceso hacia las empacadoras. Cabe anotar que este tipo de vías no se encuentran pavimentadas lo que constituye un riesgo mayor.

Estos dos tipos de vías se clasificaron con nivel de riesgo medio debido a que existen 12 puntos de lavado y desinfección operando en cada comunal para los vehículos esenciales que ingresan a los predios, sin embargo, muchas de estas vías atraviesan fincas completas, lo que aumenta el nivel de exposición de ésta y debe ser concebida como una vía de alto riesgo. Es importante resaltar que el riesgo asociado a este límite es el nivel de exposición del cultivo a la actividad antropogénica o ingreso de animales, por lo que es necesario considerar la probabilidad de ocurrencia y este riesgo puede

ser mitigado con la implementación de una barrera física que impida el ingreso. Sin embargo, hay otro riesgo inminente asociado a estas vías y es el movimiento de suelo contaminado mediante los vehículos que transitan y no son desinfectados, que puede quedar adherido a las vías y ser arrastrado hacia los canales mediante el agua de escorrentía, producto de las precipitaciones, ésta amenazada debe ser considerada de haber un brote en la zona. Existen aproximadamente 211.48 km de extensión de cultivo que limita con vías, de las cuales las vías terciarias tienen la mayor participación con un 85% y las primarias con el 11%.

1.6.3.1.3. Fuentes de agua. Esta zona cuenta con una gran oferta hídrica, razón por la cual las fincas se ven fuertemente influenciadas por diferentes ríos, caños y quebradas, que a su vez las conectan entre sí. Este límite se clasificó con nivel de riesgo medio debido a que el agua superficial y de drenajes naturales o artificiales es un medio de dispersión importante del patógeno, registrado en zonas donde hay presencia de la enfermedad y generalmente se realizan medidas deficientes de bioseguridad y erradicación (Martínez Solórzano, 2020). Sin embargo, cabe anotar que Urabá está declarada como una zona libre de la enfermedad, por lo que es posible asignar un nivel de riesgo menor. Se encontró que las fincas limitan con ríos, caños, quebradas y canales en una extensión de 170.47 km, los cuales en algunos casos dividen las fincas en dos o más secciones.

1.6.3.1.4. Vecino bananero. Las fincas bananeras se encuentran distribuidas en la región casi que, de forma contigua, por tal razón es común que la mayoría compartan por lo menos un límite con otra finca de banano, ya sea de la misma compañía u otra. Por normativa fitosanitaria en la presente resolución No. 17334 ICA de 2019, todas las fincas de exportación deben cumplir con niveles que bioseguridad, que garanticen y respalden la sanidad de la región. Sin embargo, no todas las compañías han implementado estas medidas en la misma proporción, por tal motivo, las fincas con vecinos del mismo grupo se clasificaron con nivel de riesgo bajo y de diferente grupo con nivel de riesgo medio. En este sentido, el 84% de estos límites tiene un nivel de riesgo medio.

1.6.3.1.5. Otros cultivos u actividad agrícola. Esta región posee otros sistemas productivos importantes, los cuales a su vez también hacen parte del paisaje bananero; entre los límites más frecuentes encontrados están los cultivos de cacao, plátano, banano manzano, maracuyá, palma, piña y maíz, en cultivos establecidos o parcelas de comunidades, además se encuentran otras actividades agrícolas como la ganadería.

Todos estos límites se clasificaron con nivel de riesgo alto, debido a que toda actividad que implique movimiento de material orgánico ya sea para abonos o semilleros, o movimiento de animales, representa un riesgo para el cultivo; principalmente los cultivos de musáceas que son hospederos del patógeno, lo anterior ha sido evidente en Centroamérica en el sistema agroforestal de café-banano, donde Foc R1 se

dispersa por medio de sustratos utilizados en plántulas de café (Martínez Solórzano, 2020).

Estos sistemas comparten lindero con fincas bananeras en 126.075 km, siendo de este total la ganadería, el sistema con mayor peso, alcanzando un 52%, seguido de los cultivos de plátano con el 20% y banano manzano con el 7%, como se observa en la **figura 2**.

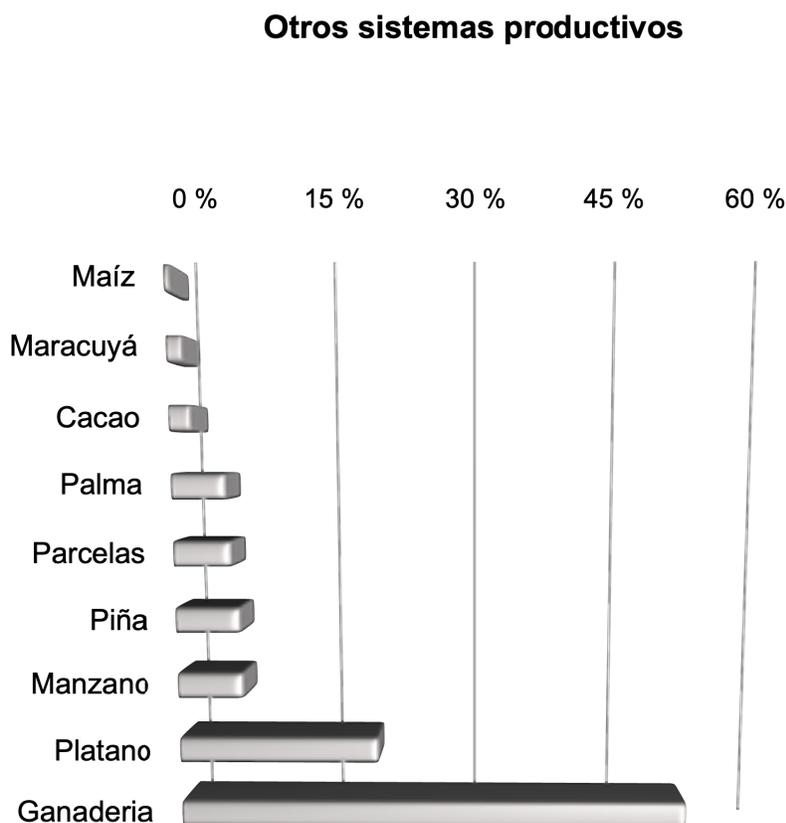


Figura 2. Porcentajes de participación de cada sistema productivo en la zona bananera de Urabá.

1.6.3.1.6.Otros límites. Se encontraron otros límites como reservas naturales o ecológicas, bosques, zonas industriales, restaurante, universidad, aeropuerto, entre otros, que fueron clasificados con nivel de riesgo medio, debido a que las fincas no reportaron conflictos con estos límites. En otros casos las fincas limitan con terrenos o fincas baldíos o invasiones, los cuales fueron clasificados con nivel de riesgo alto.

A continuación, se observa la matriz de riesgo construida a partir del análisis de cada límite bananero:

Tabla 1. Matriz del nivel de riesgo asociado a Foc R4T.

Nivel de riesgo	Factores	Categorías	Longitud (km)	Total (km)	Participación (%)	Cercado (km)	Porcentaje (%)
Alto	Comunidades	Urbana, rural	28.72	181.80	20%	27.975	15%
	Vías	Primarias	22.94				
	Cultivo vecino	Plátano/otros cultivos	126.07				
	Otros	Lotes, fincas abandonadas	4.07				
Medio	Fuentes de agua	Ríos, caños, ubicación	170.47	676.90	74%	30.464	5%
	Vías	Secundarias, terciarias	188.55				
	Otros	Reserva natural, industria, restaurantes, aeropuerto.	21.71				
	Cultivo vecino	Diferente compañía	296.17				
Bajo	Cultivo vecino	Misma compañía	54.59	54.5869	6%	1.06	2%
Total				913.29	100%	59.499	22%

De esta tabla resumen se puede inferir que los límites más frecuentes y con mayor extensión son los compartidos con vecinos bananeros de diferente compañía, fuentes de agua y vías terciarias o comunales, abarcando más del 70% del total; analizando estos resultados de forma general se puede categorizar al conjunto de fincas procesadas en un nivel de riesgo medio, no obstante los límites con otros sistemas productivos también tienen un porcentaje significativo y cobran importancia debido a que estos sistemas corresponden mayormente a ganaderías y cultivos de musáceas.

Por otra parte, es importante realizar un análisis de forma individual en cada predio, debido a que algunas fincas tienen situaciones más complejas que otras, principalmente las que colindan con comunidades o parcelas de plátano, para lo cual se está llevando a cabo un trabajo de sensibilización y comunicación del riesgo por parte de AUGURA e ICA desde el año 2019.

Cabe anotar que, dentro de la resolución No. 17334 se establece el cercamiento del perímetro de cada predio con la finalidad de impedir el ingreso de personas, vehículos o animales que puedan transportar suelo contaminado, sin embargo, esta medida de bioseguridad, según la encuesta realizada en este trabajo se ha implementado en un bajo porcentaje; para los límites con nivel de riesgo alto solo se ha cubierto un 15%.

1.6.3.2. Procesamiento de la información. Se obtuvo un mapa con escala tipo semáforo del nivel del riesgo asociado a la introducción de Foc R4T (**Figura 3**), en donde se observa que el nivel de riesgo alto se encuentra relacionado con los linderos con comunidades urbanas de los municipios de Carepa y Apartadó, las vías primarias (troncal Chigorodó-Turbo y variantes) y los límites con otros sistemas productivos.

Por otra parte, en las fincas ubicadas dentro de las comunales El Silencio, El Cuatro, El Siete, El Diez, Palos Blancos, San Jorge y La Suerte, predominan los límites con otras fincas bananeras y vías secundarias o terciarias. Esto indica que hay una tendencia en estas comunales, producto de la distribución de las fincas, ubicándolas en términos generales en un nivel de riesgo de medio y bajo.

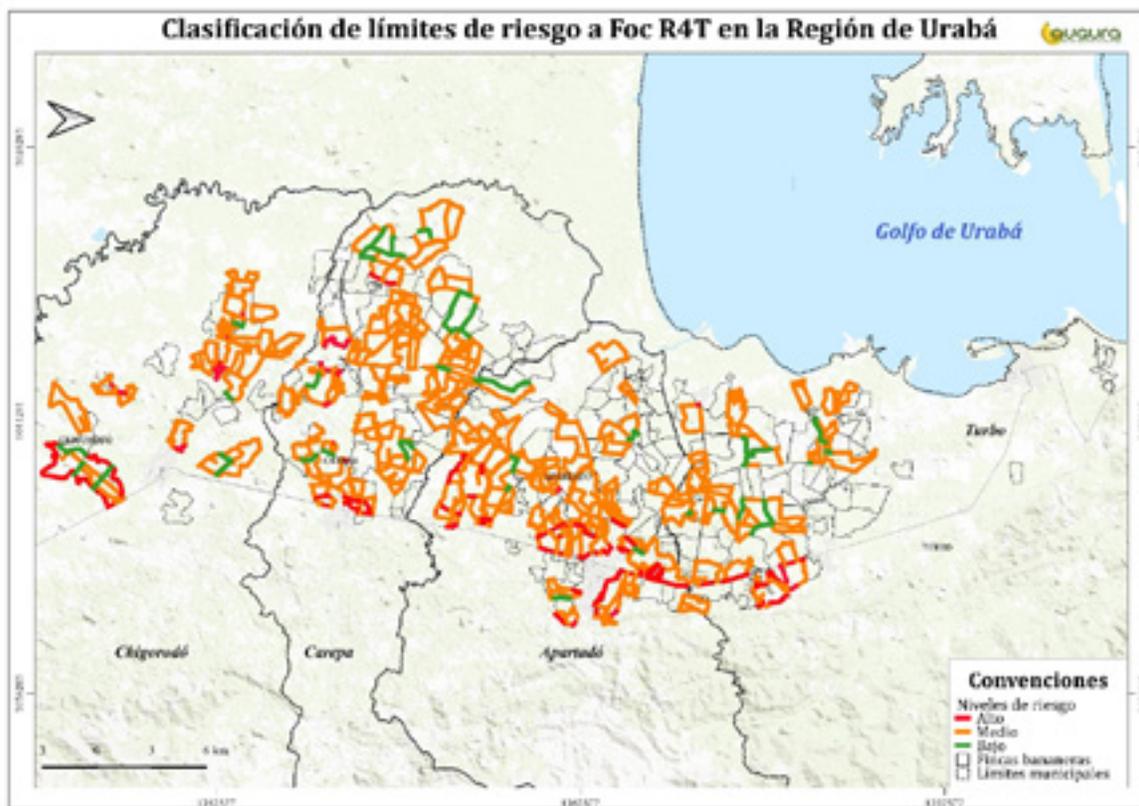


Figura 3. Mapa de la clasificación del riesgo a Foc R4T en las fincas bananeras de la región de Urabá.

Cabe anotar que este análisis del riesgo solo tiene en cuenta la introducción del patógeno vía suelo contaminado debido a la actividad antropogénica, grado de exposición, hospederos alternos y fuentes de agua, sin embargo, es importante mencionar que estos son solo algunos medios de dispersión del hongo; sin dejar de lado que la vía de diseminación más importante es la semilla contaminada, que usualmente es asintomática, y otros como la inadecuada disposición de los residuos de cosecha contaminados en los canales de drenaje, deficientes protocolos de bioseguridad internos, desinfección de las herramientas, desinfección de vehículos esenciales, cambio de botas y propagación del picudo negro (Pegg, 2015; Thangavelu, 2020; Dita, 2018).

En este sentido, es importante continuar con los trabajos de capacitación al personal de las fincas, comunidades y entidades involucradas con el sector bananero, el seguimiento del material de siembra y viveros, procurando que toda la semilla utilizada sea proveniente de cultivos *in vitro* y tenga trazabilidad de la calidad de los sustratos, el agua utilizada en los lugares de endurecimiento y se realice vigilancia fitosanitaria periódica del cultivo para el reporte de plantas sospechosas de forma oportuna.

1.6.4. Conclusiones

- Las fincas bananeras de Urabá poseen diferentes niveles de riesgo asociado a diseminación pasiva del patógeno, el cual en muchos casos puede ser mitigado con la construcción de una barrera física. No obstante, el mayor reto es generar una conciencia colectiva en la comunidad bananera, para garantizar que cualquier medida de bioseguridad implementada sea cumplida.
- Hay zonas de la región con riesgo alto, en donde predominan los límites con otros sistemas productivos, comunidades o vías principales, y existen otras zonas en donde predominan los límites bananeros entre sí y las vías terciarias.
- Es importante analizar cada predio de forma individual para determinar si los niveles de riesgo asignados a cada categoría varían, de acuerdo a otros factores que pueden ser específicos de cada finca y la relación con el entorno.
- El material de siembra es el medio de dispersión más importante del patógeno, por tanto, se debe continuar con el seguimiento de la trazabilidad y los protocolos de bioseguridad implementados en los sitios de propagación y endurecimiento.

1.6.5. Referencias bibliográficas

- AUGURA. (2021). Coyuntura Bananera 2020. Colombia: Asociación de Bananeros de Colombia. Obtenido de <https://augura.com.co/wp-content/uploads/2021/06/Coyuntura-Bananera-2020.pdf>
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., & Staver, C. P. (2018). Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in plant science*, 9, 1468.
- Escobar, H. M. (2002). Estudio de caracterización sector bananero colombiano. Obtenido de <https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/2151/3004.pdf?sequence=1> [8]
- FAO. (2021). Banana market review 2020. Rome. Obtenido de https://agfstorage.blob.core.windows.net/misc/FP_com/2021/10/11/Ban.pdf

- Martínez-Solórzano, G. E., Rey-Brina, J. C., Pargas-Pichardo, R. E., & Manzanilla, E. E. (2020). Fusarium wilt by tropical race 4: Current status and presence in the American continent. *Agronomía Mesoamericana*, 31(1), 259-276.
- Pegg, K. G., Coates, L. M., O'Neill, W. T., & Turner, D. W. (2019). The epidemiology of Fusarium wilt of banana. *Frontiers in plant science*, 10, 1395.
- Ploetz, R. C. (2015). Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7-15.
- Thangavelu, R., Loganathan, M., Arthee, R., Prabakaran, M., & Uma, S. (2020). Fusarium wilt: A threat to banana cultivation and its management. *Cab Rev*, 15(004).

7. MONITOREO DE TRAMPAS PARA *Ceramidia viridis* EN CAMPO EXPERIMENTAL DE AUGURA

Autores: Angela Benavides Martínez, Carlos Alberto Vicente Arenas

Resumen

La fluctuación poblacional de *Ceramidia viridis* a través del monitoreo de trampas se ha realizado por parte del campo experimental no solo para ejercer su control, sino con el fin de obtener un registro de la incidencia de esta plaga a través de los años. Desde el año 2016 hasta 2021 se han venido monitoreando trampas instaladas dentro del Campo Experimental, obteniendo datos de registro de incidencia principalmente en dos épocas del año, los registros muestran una disminución de esta plaga en los últimos años.

7.7.1. Introducción

Como parte del manejo integrado (MIP) de la *Ceramidia* en el cultivo de banano, resulta importante realizar periódicamente el monitoreo en campo, con el fin de detectar la presencia temprana de la plaga en la plantación. Por esta razón, implementar el uso de trampas atrayentes se torna una necesidad en las fincas de banano. El objetivo de esta evaluación es monitorear las poblaciones de *Ceramidia viridis* en el Campo Experimental Ramiro Jaramillo Sosa - AUGURA.

7.7.2. Materiales y métodos

Para la fabricación de las trampas se utilizaron los siguientes materiales:

Equipos y Materiales:	Reactivos:
Botellas tipo PET de 2L	Agua
Bisturí	Oxyfluorfen
Nylon	
Etiquetas	
Marcador	

Sobre la botella PET se cortaron dos ventanas, una a cada lado de aproximadamente de 15 cm x 15 cm (**Figura 1**), las trampas se ubicaron sobre el cable vía y se amarraron

con nylon en las torres de cada uno de los lotes, aprox. cada 100 m. Inicialmente se realizó la instalación de 35 trampas, ubicadas entre los lotes 8 al 12. Estas trampas fueron colocadas hacia la semana 33 del año 2016, a partir de ahí se llevó el monitoreo semanalmente; sin embargo, en los lotes 1 al 4 empezó a presentarse presencia de la plaga en la semana 26 de ese mismo año, lo que llevó a la instalación de algunas trampas adicionales en estos lotes. En este momento, se cuenta con un total de 50 trampas, las cuales se encuentran activas y a las que se realiza monitoreo semanal, incluyendo las semanas de baja presencia de la plaga. El producto utilizado como atrayente fue oxyfluorfen al 1%, colocando 120 cc para cada trampa. El monitoreo se realizó semanalmente, registrando el número de adultos capturados por trampa.

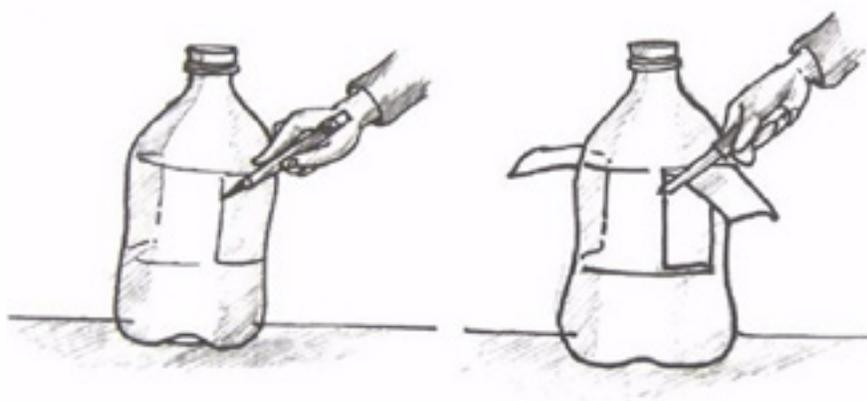


Figura 1. Trampa para monitoreo de *Ceramidia*.

7.7.3. Resultados y discusión

Como resultado, el promedio de estos datos de captura de adultos de *Ceramidia* sp. registrados a partir del año 2016 al 2021 han permitido identificar las épocas de mayor incidencia (**Figura 2**) que comprende entre los meses de junio-julio y diciembre-enero, en los cuales se recomienda iniciar algunas labores como el monitoreo en campo y otras medidas de manejo como el desguasque. Además, los datos registrados a través de los años (**Figura 3**) muestra como ha sido la fluctuación poblacional de la plaga. Para el año 2021 se ha reportado incidencias muy bajas de *Ceramidia* en el campo experimental y en la gran mayoría de fincas de la zona centro, donde años atrás siempre se había presentado altas poblaciones.

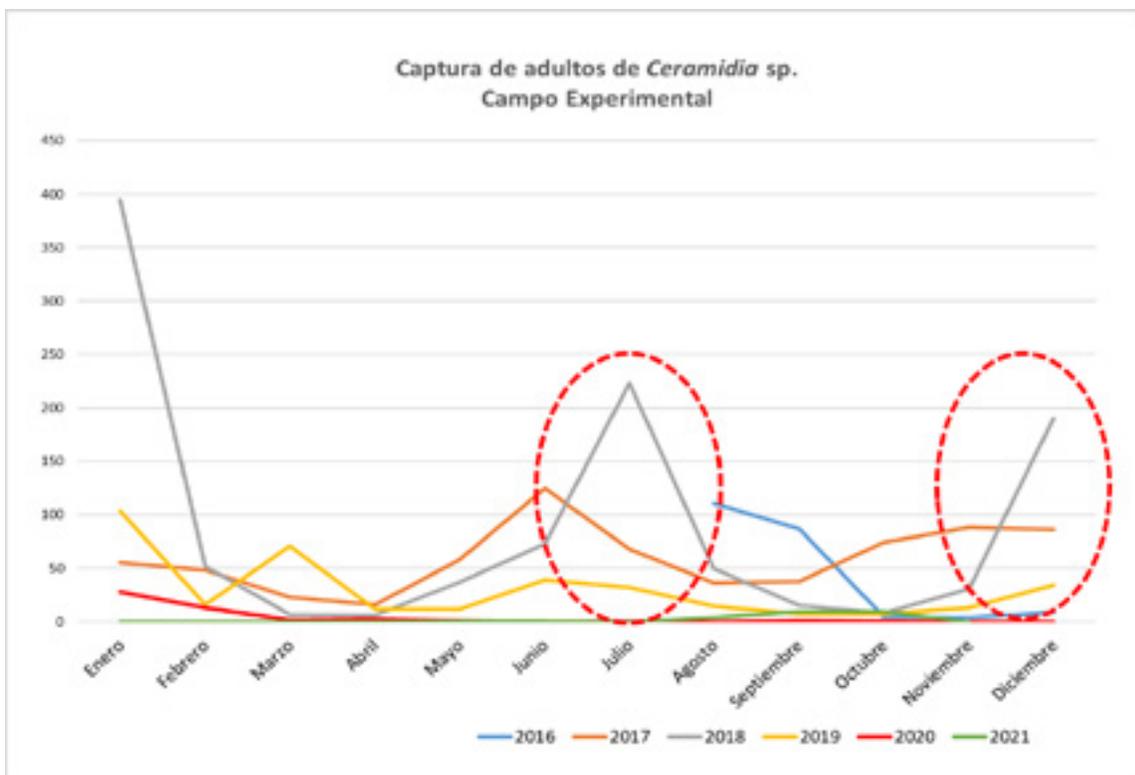


Figura 2. Promedio de captura de adultos de *Ceramidia* en el Campo Experimental de AUGURA durante 2016 a 2020. Halos rojos de línea discontinua, indican las épocas de mayor incidencia.



Figura 3. Fluctuación poblacional del promedio de adultos de *Ceramidia* en el Campo Experimental de AUGURA durante 2016 a 2021.

7.7.4. Conclusiones

- El monitoreo de plagas como *Ceramidia* sp., es una herramienta básica que permite a los productores observar y dar seguimiento oportuno del comportamiento de la plaga, al igual que su control, evitando de esta manera graves daños en la producción de banano.
- En los últimos tres años la incidencia de *Ceramidia* sp., ha disminuido considerablemente en la zona centro del eje bananero de Urabá.

7.7.5. Referencias bibliográficas

Benavides A. & Cadavid M. 2019. Identificación y manejo integrado de plagas de banano y Plátano en Urabá y Magdalena. Cenibanano. 96p.

León, M., Henao, A., Pinilla, C. & Gonzales, F.2002. Aportes al conocimiento de la *Ceramidia* en Urabá - Antioquia. C.I. Unibán S.A. 63 p.

7.8. EVALUACIÓN DE CUATRO TIPOS DE BOLSAS SOBRE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE COCHINILLA Y FUMAGINA EN BANANO

Autores: *Angela Benavides Martínez, Juan David Toro y Sebastián Zapata Henao*

Resumen

Las cochinillas harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae) (Heymons,1915) son insectos plaga que afectan principalmente la calidad de la fruta en la cadena productiva del banano. Por lo anterior y debido a la disminución de moléculas disponibles para el uso y control de esta plaga por parte de la Unión Europea (UE) y otras entidades internacionales, en el presente estudio se realizó la evaluación de un manejo integrado de la plaga en dos fincas de la región de Urabá, con reporte de alta incidencia de cochinillas. El trabajo se realizó de la semana 45 a la 49 de 2020. Se evaluaron 8 tratamientos con 20 plantas por tratamiento donde T1: Bolsa 1 (piriproxifen+bifentrina) con MIP, T2: Bolsa 2 (piriproxifen+bifentrina) con MIP, T3: Bolsa 3 (sin ingrediente activo) con MIP, T4: Bolsa 4 (bifentrina) con MIP, T5: Bolsa 1 (piriproxifen+bifentrina) sin MIP, T6: Bolsa 2 (piriproxifen+bifentrina) sin MIP, T7: Bolsa 3 (sin ingrediente activo) sin MIP, T8: Bolsa 4 (bifentrina) sin MIP. Los racimos fueron llevados a 11 semanas para su cosecha y se evaluó la incidencia y severidad de cochinillas y fumagina. Los resultados mostraron que T1 y T5 tuvieron menores incidencias y porcentajes de severidad que los otros tratamientos. Los tratamientos con MIP tuvieron menores porcentajes de incidencia y severidad que los tratamientos sin MIP. Se concluye que los tratamientos con bolsas tratadas presentaron menores porcentajes de incidencia y severidad respecto a bolsas sin ingrediente activo, por lo cual se recomienda el uso de este tipo de bolsas como parte del manejo integrado de la cochinilla harinosa; además, asegurar el proceso de lavado, desinfección y secado de todos los protectores de fruta antes de ser reutilizados.

7.8.1. Introducción

La cochinilla harinosa (Hemíptera) es un insecto plaga que afecta principalmente a calidad de la fruta en la cadena productiva del banano, debido a que la sola presencia

de una de ellas sobre la fruta exportada, puede generar problemas de rechazo sanitario debido a que en muchos países es considerada como una plaga cuarentenaria. Por otro lado, este insecto produce unas sustancias azucaradas que las hormigas usan como alimento, estableciendo una relación simbiótica con estas, quienes son fuente de dispersión. Estas sustancias promueven el crecimiento de microorganismos como el hongo productor de fumagina (*Capnodium* sp.), el cual crece sobre la corona de la mano, manchando y dañando la fruta, defecto que produce el rechazo y la pérdida de fruta. Debido a lo anterior y a la disminución de moléculas disponibles para el uso y control de esta plaga por parte de la Unión europea (UE) y otras entidades internacionales, se busca la necesidad de nuevas alternativas eficientes que incluyan un control cultural y químico para el manejo de esta plaga en banano. Por lo anterior, se plantea este trabajo, cuyo principal objetivo es la evaluación de cuatro tipos de bolsas en fincas con alta incidencia de cochinilla bajo dos condiciones de cultivo (con y sin manejo integrado de la plaga).

7.8.2. Materiales y métodos

7.8.2.1. Selección de racimos. Este trabajo se realizó en dos fincas de GRUPO 20, ubicadas en las zonas centro y norte del eje bananero de Urabá, las cuales tenían antecedentes de alta incidencia de cochinillas.

7.8.2.2. Fechas de montaje (embolse) y evaluación. El montaje fue realizado desde la semana 45 a la 49 de 2020 y la evaluación de la semana 3 a la 7 de 2021.

FINCA	Semana																			
Finca zona centro	45	46	47	48	49	50	51	52	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Finca zona norte	45	46	47	48	49	50	51	52	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		

Embolse
Evaluación
Instalación protector

7.8.2.3. Selección y marcaje de plantas. Se seleccionaron 20 plantas por tratamiento, dichas plantas recién paridas a las cuales se les realizó embolse prematuro con la bolsa del tratamiento respectivo. Las plantas fueron marcadas con

una tarjeta de cartón plástico que tenía el número de tratamiento (eje: T1-1), repetición (T1-1), semana de embolse (SE) y semana de cosecha o evaluación (SC). A la tercera semana de parición, se instaló a 10 plantas de cada tratamiento guantelete y a otras 10 yumbolón (con MIP debidamente lavados y desinfectados y SIN MIP como lo maneja la finca habitualmente). Posterior a las 11 semanas desde el embolse se cosecharon los racimos y se realizó la evaluación respectiva en cada semana.

7.8.2.4.Tratamientos. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

T1: Bolsa 1 (piriproxifen+bifentrina) con MIP

T2: Bolsa 2 (piriproxifen+bifentrina) con MIP

T3: Bolsa 3 (sin ingrediente activo) con MIP

T4: Bolsa 4 (bifentrina) con MIP

T5: Bolsa 1 (piriproxifen+bifentrina) sin MIP

T6: Bolsa 2 (piriproxifen+bifentrina) sin MIP

T7: Bolsa 3 (sin ingrediente activo) sin MIP

T8: Bolsa 4 (bifentrina) sin MIP

Se evaluó bajo dos condiciones en la misma finca.

CON MIP:

- Limpieza y manejo de guascas
- Manejo oportuno de arvenses
- Con guantelete y/o Yumbolon debidamente lavado (detergente e hipoclorito de sodio comercial) Ver lavado de protectores de fruta*.

SIN MIP:

- Sin manejo de guascas
- Manejo convencional de guantelete y Yumbolon
- Sin manejo de arvenses

Se supervisó por parte de la finca y Cenibanano que las labores de manejo integrado de la plaga se estuvieran llevando a cabo. Para el lavado y desinfección se colocó por 1 litro de agua 3 g de detergente en polvo o 3 ml de jabón coco líquido + 1 ml de hipoclorito de sodio comercial, se aplicó sobre el protector con un cepillo o esponja, estregando por 30 segundos y enjuagando con agua limpia, se dejó secar muy bien y se almacenó en un lugar limpio y seco. Para este trabajo Cenibanano se hizo responsable del lavado y desinfección de guanteletes y las respectivas fincas de los yumbolones.

7.8.2.5. Distribución de las plantas Las plantas se distribuyeron de acuerdo a la **figura 1**, donde se eligió hacia una banda del cable vía las plantas CON MIP y hacia la banda de enfrente las plantas SIN MIP, dentro de estas bandas se dejó un botalón de separación entre los diferentes tratamientos.



Figura 1. Distribución de tratamientos en el lote seleccionado de cada finca.

7.8.2.6.Cosecha y evaluación. Los racimos fueron llevados a 11 semanas para su cosecha y se evaluó la incidencia y severidad de cochinillas (Tabla 1) y fumagina (Tabla 2), de acuerdo a las escalas establecidas por Cubillos, 2013:

Tabla 1. Tabla para evaluar severidad de cochinillas

Grado de severidad	Descripción
0	Ausencia de cochinillas
1	Presencia de 1 a 10 cochinillas en vástago o "clusters".
2	Presencia de 11 a 30 cochinillas en vástago o "clusters".
3	Presencia de 31 a 100 cochinillas en vástago o "clusters".
4	Presencia de 100 o más cochinillas en vástago o "clusters"

Tabla 2. Tabla para evaluar severidad de fumagina

Grado de severidad	Descripción
0	Ausencia de fumagina
1	Menos del 25% de la corona con fumagina
2	Menos del 50% de la corona con fumagina
3	Mayor al 50% de la corona y de los pedúnculos de los dedos.

Posteriormente se realizó la merma general obtenida para cada una de las fincas y la participación de la merma para cicatriz de punta y otros. Los datos obtenidos fueron evaluados a través del programa estadístico R.

7.8.3. Resultados y discusión

Los resultados de porcentaje de incidencia mostraron que las bolsas tratadas con piriproxifen y bifentrina (Bolsa 1 y 2) tuvieron menores valores de incidencia que las bolsas 3 y 4. La bolsa 1 obtuvo los menores porcentajes de incidencia con un 62% con MIP y un 81% sin MIP, seguido de la bolsa 2 con un 85% con MIP y un 94% sin MIP, los tres primeros con diferencias significativas respecto a los demás tratamientos (**Figura 2**). La mayoría de tratamientos evaluados con guantelete, obtuvieron menores porcentajes de incidencia comparado a los evaluados con yumbolón (**Figura 3**).

Respecto a los porcentajes de severidad obtenidos, para 7 de los tratamientos los porcentajes fueron menores en aquellos donde se utilizaba el guantelete como elemento de protección de la fruta, solo para 1 de los tratamientos se presentó mayor porcentaje con guantelete respecto al yumbolon, se puede observar la influencia que tiene el yumbolón sobre la severidad de cochinilla en el racimo (**Figura 4 y 5**). Por otro lado, los valores de porcentaje de severidad fueron menores en los tratamientos con MIP respecto a los tratamientos sin MIP (**Figura 4**).

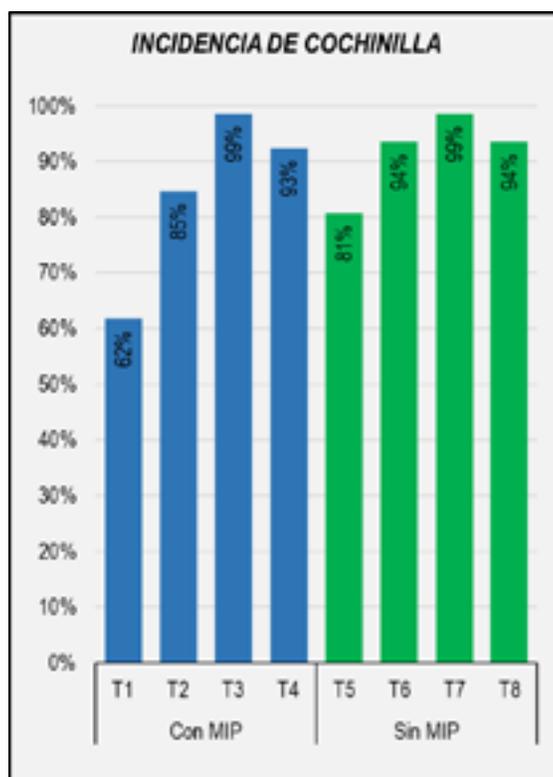


Figura 2. Porcentajes de incidencia para los cuatro tipos de bolsas con y sin MIP.

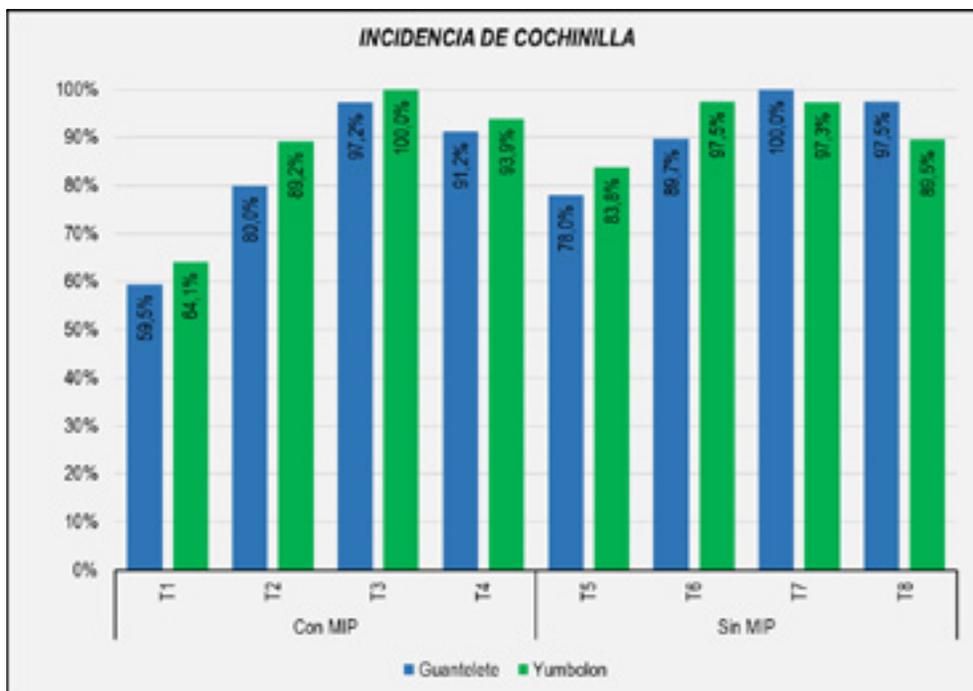


Figura 3. Resultados de porcentajes de incidencia de los tratamientos evaluados.

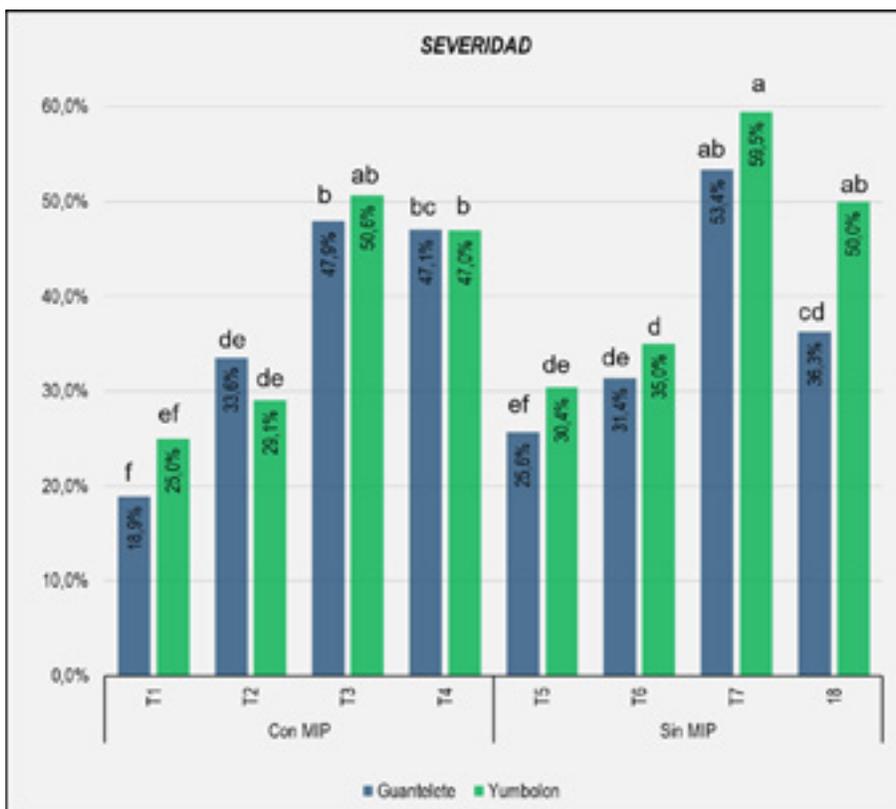


Figura 4. Resultados de porcentajes de severidad de los tratamientos evaluados.

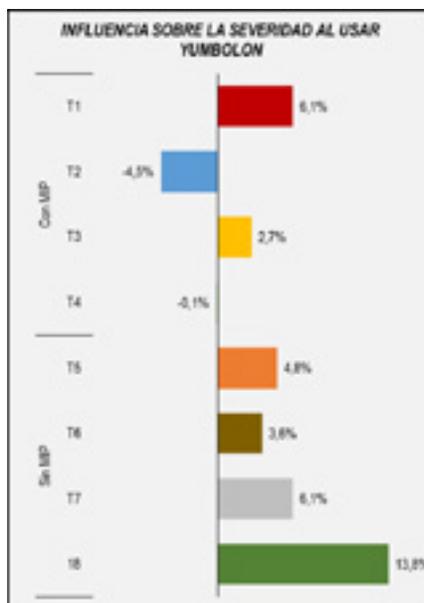


Figura 5. Porcentajes de influencia sobre la severidad utilizando yumbolon.

Respecto al ciclo de la plaga, se encontraron individuos de todos los estados biológicos, ninfa 1, ninfa 2, ninfa 3 y hembras adultas en todos los tratamientos evaluados. Sin embargo, el porcentaje de individuos fue menor en las bolsas 1 y 2 respecto a las bolsas 3 y 4, además, se observó que en la mayoría de tratamientos con MIP tenían menores porcentajes respecto a los de sin MIP (**Figura 6**).

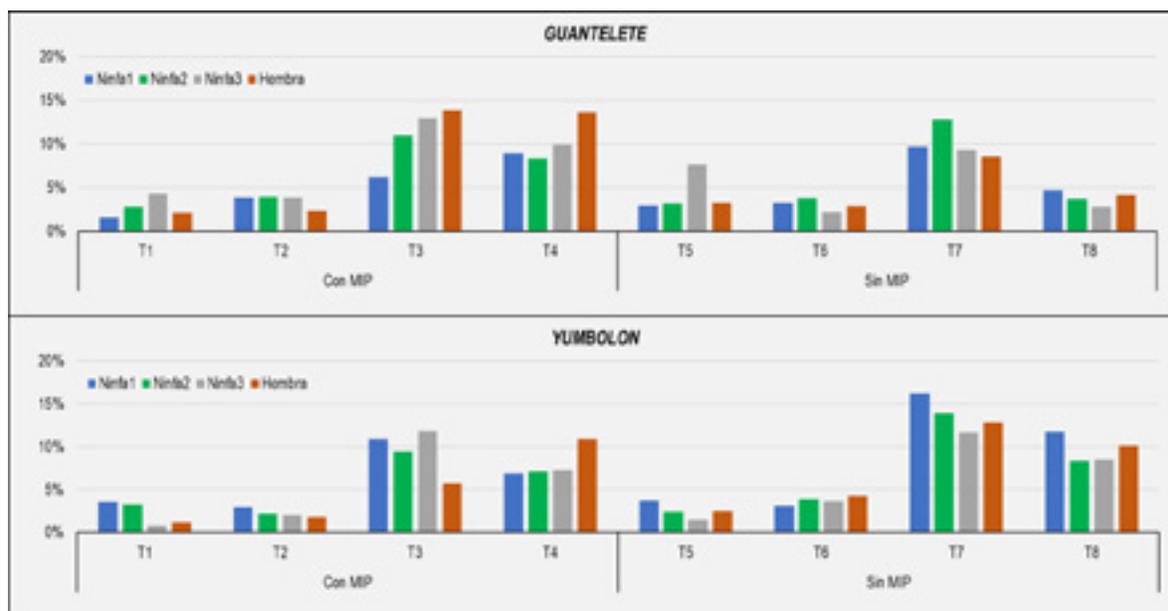


Figura 6. Porcentajes de individuos obtenidos en los tratamientos evaluados.

En la evaluación general de la merma de fruta, para este trabajo, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos donde se utilizaba guantelete y yumbolon como protector de fruta (**Figura 7**). En cuanto a la participación de la merma no se encontraron diferencias significativas entre los mismos tratamientos cuando fueron evaluados mancha de madurez, maduros, dedo corto, cicatriz de manejo, cicatriz de punta y otros (**Figura 8**). Se nota una diferencia entre los porcentajes de las mermas entre ambas fincas, sin embargo, puede ser por el manejo de la mismas.

De los 602 racimos evaluados solo el 0.4% presentaron incidencia de fumagina, la cual tenía instalado yumbolon como elemento de protección.

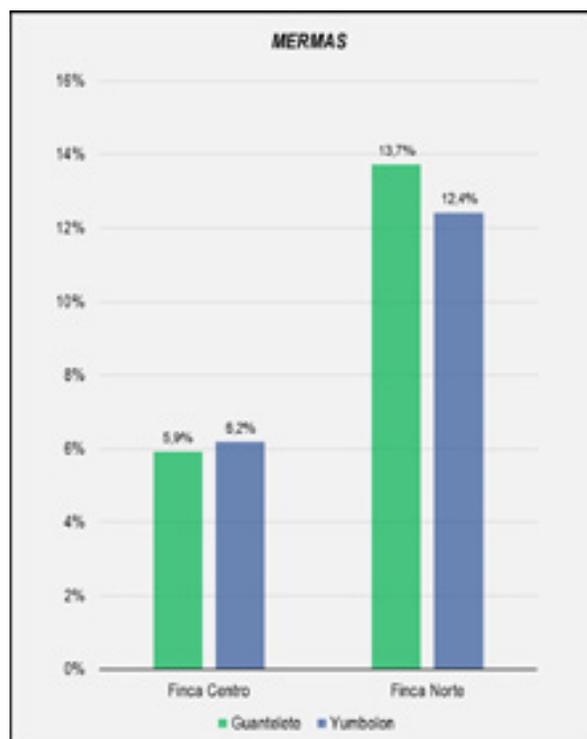


Figura 7. Porcentajes de merma utilizando guantelete y yumbolon para las fincas evaluadas.

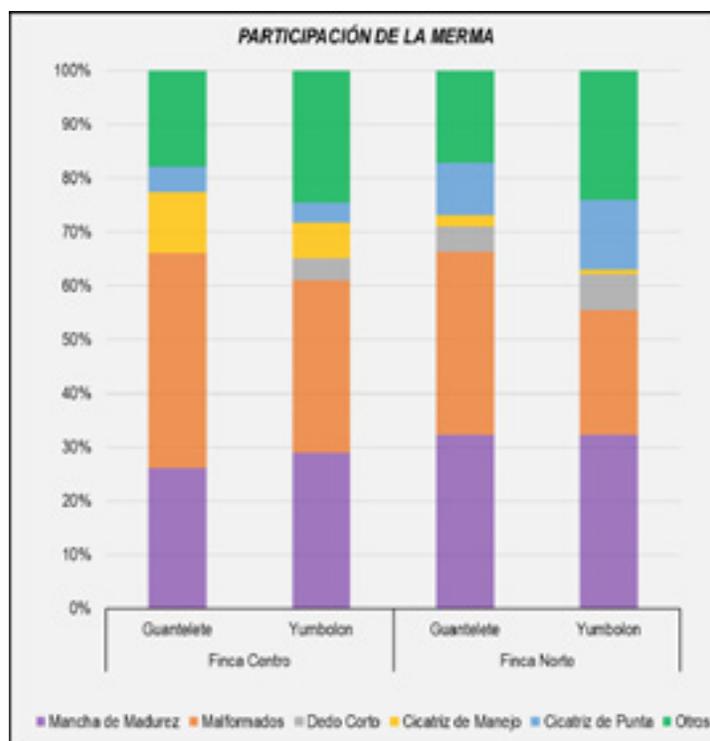


Figura. 8. Porcentajes de participación de la merma utilizando guantelete y yumbolon para las fincas evaluadas.

7.8.4. Conclusiones

- Los tratamientos con las bolsas tratadas con ingredientes activos para el control de cochinilla (piriproxifen+bifentrina) presentaron menores porcentajes de incidencia y severidad respecto a bolsas sin ingrediente activo y tratadas con solo bifentrina.
- Los tratamientos con bolsa tratada (piriproxifen+bifentrina) presentaron menores porcentajes de severidad de cochinilla con implementación de manejo integrado (MIP).
- En la mayoría de los tratamientos el yumbolon, usado como protector, aumenta el porcentaje de severidad de cochinilla en el racimo. Sin embargo, el lavado y secado del mismo disminuye la incidencia y severidad de la plaga y esta investigación no pretende determinar la pertinencia del uso de cierto protector de fruta, debido a que es una decisión que involucra otros aspectos como la conformación de racimo, productividad, entre otros.

- Para este estudio, no existen diferencias significativas entre el uso de guantelete y yumbolon respecto al total de la merma y al porcentaje (%) de merma por cicatriz de punta. Es necesario resaltar que la selección del protector debe realizarse de acuerdo a las épocas del año, variedad sembrada y conformación del racimo.

7.8.5. Referencias bibliográficas

Cárdenas, J.E. 2002. Algunos aspectos y de manejo de cochinillas (Homoptera: Pseudococcidae), en la zona bananera de Urabá (Antioquia). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. p. 82.

Cubillo, D. 2013. Manejo integrado de insectos plagas en el cultivo de banano. Conceptos y aplicaciones. P:105.

7.9. COLECCIÓN ENTOMOLÓGICA DE INSECTOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE BANANO

Autores: *Angela Benavides Martínez, Carlos Alberto Vicente Arenas*

Resumen

Para el sector bananero es importante desarrollar conocimiento para sus productores y personal relacionado a este, respecto a cuáles son las plagas insectiles y otros artrópodos que están asociados al cultivo de banano. Por esta razón se hace necesario la creación de la colección entomológica en su Centro de Investigación. Este trabajo se ha venido realizando desde el año 2020, inicialmente con la colección de estados inmaduros (larvas) de las plagas del cultivo y se le ha dado continuación con los diferentes estados como pupas, ninfas y adultos. Por otro lado, se hace relevante también conocer cuál es el tipo de entomofauna asociada a esta cadena productiva, la cual se continuará alimentando a través de los años.

7.9.1. Introducción

Dentro del manejo integrado de plagas en el cultivo de banano, una de las actividades de gran importancia es el monitoreo, pero para llevar a cabo esta labor, es necesario crear herramientas de conocimiento. Una de estas es la de dar a conocer a productores y personal relacionado al cultivo, cuales plagas afectan la producción del banano. Por tal razón, el objetivo de este trabajo es crear la colección entomológica de Cenibanano, la cual incluirá las plagas del cultivo y su entomofauna asociada, con fines de investigación y enseñanza para visitantes del centro.

7.9.2. Materiales y métodos

- Jama entomológica
- Aspiradores entomológicos
- Envases de 1 galón plásticos
- Botellas tipo PET de gaseosa de 1.5 o 2 L
- Alambre
- Cartón plástico
- Marcadores
- Tela tipo tull
- Tubos PVC
- Papel parafinado
- Envases de diferentes tamaños
- Alcohol etílico al 70%
- Alfileres entomológicos
- Láminas de icopor
- Horno o estufa

7.9.2.1. Base de datos. La sistematización de la base de datos entomológica general tanto como de la colección de arañas, se llevó a cabo utilizando el programa Excel, donde se crearon archivos para cada una, con la información importante de cada individuo (Taxonomía, datos de colecta, estructura de la planta (si aplica), método de colecta etc.).

7.9.2.2. Colecta y captura. Para la captura y colecta de los insectos se utilizaron diferentes metodologías:

- Captura con jama entomológica
- Captura por trampas (con cebo o dosel (especialmente para mariposas), pitfall o de caída y trampas de botella con cebo).
- Captura con aspiradores entomológicos.

7.9.2.3. Montaje e Identificación. Para el montaje de tuvieron en cuenta los órdenes al cual pertenecían los insectos, ya que depende de este como se realiza su montaje (Figura 1).

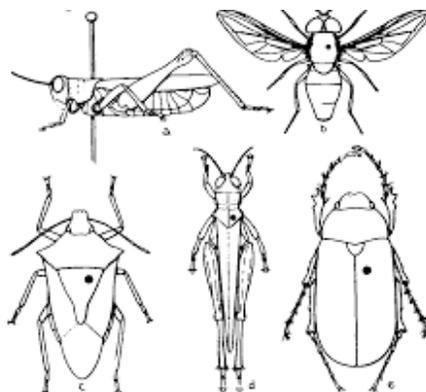


Figura 1. Esquema para el montaje de insectos según su orden

Luego de realizar cada montaje, se colocan en un proceso de secado en un horno a 40°C por un periodo de 8 días (como mínimo) y posteriormente se ubican en las cajas entomológicas. Para lograr la identificación y clasificación taxonómica de los artrópodos recolectados se utilizaron claves taxonómicas (Chapman, et al. 2013; Triplehorn, et al. 2005; Aguiar et al., 2006; Mound, et al. 2009) y otras revisiones bibliográficas.

7.9.3. Resultados y discusión

7.9.3.1. **Base de datos.** En la base de datos entomológica general, organizada en Excel se incluyó la siguiente categorización:

- Colección de formas inmaduras (CFI)
- Colección taxonómica central (CTC) (Entomofauna asociada)
- Colección económica central (CEC) (Plagas de colección)
- Colección taxonómica didáctica (CTD) (Entomofauna para capacitaciones)
- Colección económica didáctica (CED) (Plagas para capacitaciones)

Además de la información importante de cada individuo (Taxonomía, datos de colecta, estructura de la planta (si aplica), método de colecta etc.) **(Figura 2 y 3)**.



Figura 2. Colección líquida de formas inmaduras



Figura 3. Colección de adultos

Por otro lado, se actualizó la base de datos de la colección de arañas (realizada en el año 2017) **(Figura 4)**.



Figura 4. Colección líquida de arañas

7.9.3.2. **Colecta y captura de insectos.** Se colocaron diferentes trampas en campo (**Figura 5**) para dar continuación al proceso de captura para colección entomológica, las cuales eran revisadas cada tercer día para realizar la colecta de los individuos en alcohol al 70% y llevadas al laboratorio para el posterior montaje.

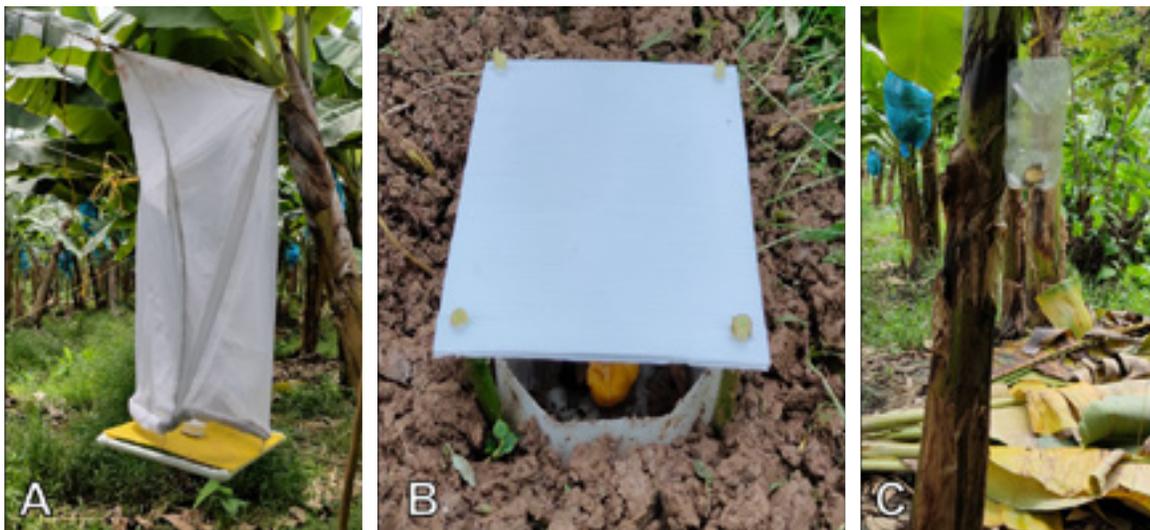


Figura 5. Tipos de trampas instaladas en campo para la captura de insectos. A. Tipo Dose (con cebo para mariposas), B. Tipo caída o pitfall y C. Tipo botella con cebo.

7.9.3.3. **Colecta y captura de insectos.** Todos los insectos luego de colectados, se montaban con las especificaciones según el orden (**Figura 6**) y de una vez se ingresan a la base de datos creada de la colección entomológica.



Figura 6. Montaje de especímenes de diferentes órdenes.

Posteriormente se llevan a un proceso de secado en horno o estufa con una temperatura de 40°C por un periodo mínimo de 8 días, dependiendo del tamaño del individuo. Luego del proceso de secado, los individuos fueron montados en cajas entomológicas, donde se etiquetaron con datos importantes como son identificación del individuo, orden, fecha y lugar de colecta, nombre del colector, ciudad, ubicación y forma de captura, luego fueron organizados por órdenes y familias (**Figura 7**). Para realizar el etiquetado y categorización de los individuos pertenecientes a la colección entomológica, se revisaron diversos autores, fuentes y publicaciones; como, por ejemplo, la diversidad de artrópodos de Cenicafé y manuales de Cuidado, Manejo y Conservación de las colecciones biológicas de la Universidad Nacional de Colombia, entre otros.



Figura 7. Identificación y etiquetado de los especímenes de acuerdo a los diferentes órdenes y familias de la entomofauna asociada al cultivo de banano.

7.9.4. Referencias bibliográficas

Áfidos (Hemiptera: Aphididae) de Colombia con nuevos registros para el Norte de Suramérica.

Aguiar, A., Amarante, S., Arias-Penna, D., Arias-Penna, T., Brothers, D., Buffington, M., Campos, D., Cantor, F., Carmean, D., Carpenter, J., Cure, J., Darling, D., Deans, A., Delvare, G., Fernández, F., Finnamore, A., Fontal-Cazalla, F., Gates, M., Gibson, G., González, V. Hanson, P., Heraty, J., Heydon, S., Huber, J., Kimsey, L., La Salle, J., Liu, Z., López-Ávila, A., Masner, L., Manson, W., Morrone, J., Nates-Parra, G., Nieves-Aldrey, J., Noyes, J., Olmi, M., Palacio, E., Pineda, D., Pinto, J., Rasplus, J., Ronquist, F., Sarmiento, C., Schauff, M., Sharkey, M., Scott Shaw, R., Smith, D., Soldati, L., Terayama, M., Vargas-Rojas, J., Virla, E. & Wahl, D. 2006. Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical.

Aguirre-Tapiero, M. 2009. Clave de identificación de géneros conocidos y esperados de Elateridae Leach (Coleoptera: Elateridae), en Colombia.

Almaguel, L. 2002. Morfología, taxonomía y diagnóstico fitosanitario de Ácaros de importancia agrícola.

Chapman, R.F., Simpson, S. & Douglas, A. 2013. The Insects: Structure and function. Fifth edition.

- Cruz, C. & Posada, F. 2003. Evaluación de la diversidad de la zona cafetera colombiana representada en la colección de artrópodos de Cenicafé.
- De Borbón, C. 2007. Clave para la identificación del segundo estadio larval de algunos thrips comunes (Thysanoptera: Thripidae). Mendoza, Argentina.
- Delvare, G., Aberlenc, H., Michel, B. & Figueroa, A. 2002. Los Insectos de África y de América Tropical. Claves para la identificación de las principales familias. CIRAD.
- McGinley, R. 1993. Where's The Management in Collections Management? Planning for improved Care, Greater Use, and Growth of Collections.
- Montaño, M., Meza, A. & Dias, L. 2012. La Colección entomológica CEBUC y su potencial como colección de referencia de insectos acuáticos.
- Mound, L. A. & NG, Y.F. 2009. An illustrated key to the genera of Thripinae (Thysanoptera) from south east Asia.
- Mound, L., Retana, A. & du Heaume, G. 1993. Claves ilustradas para las familias y los géneros de *Terebrantia* (Insecta: Thysanoptera), de Costa Rica y Panamá.
- Rodríguez, A., Samper, C., Quevedo, F., Fernández, F., Simmons, J., Hernández-Camacho, J., Montenegro, M. & Muñoz-Saba, Y. 2005. Cuidado, Manejo y Conservación de las colecciones biológicas. Conservación Internacional. Serie Manuales de Campo. Universidad Nacional de Colombia.
- Simbaqueba, R., Serna, F. & Posada-Flórez, F. 2014. Curaduría, morfología e identificación de Áfidos (Hemiptera: Aphididae), del museo entomológico UNAB. Primera aproximación.
- Soto, G. & Retana, A. 2003. Clave ilustrada para los géneros de Thysanoptera y especies de *Frankliniella* presentes en cuatro zonas hortícolas en Alajuela, Costa Rica.
- Téllez-Farfán, L. & Posada-Flórez, F. 2013. Curaduría e identificación de la fauna de *Bombus* de la colección de entomología de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.
- Triplehorn, C., Johnson, N. & Borror, D. 2005. Borror's Introduction to the Study of Insects. Seventh edition.

7.10. INCIDENCIA DE PLAGAS EN BANANO

Autores: Angela Benavides Martínez, Carlos Alberto Vicente Arenas

Resumen

Desde el año 2020, en la zona bananera de Urabá se ha venido presentando la incidencia de nuevas plagas en algunas plantaciones de banano. Estas nuevas apariciones vienen asociadas probablemente a los cambios climáticos que se están viviendo actualmente, sin embargo, siempre relacionado también a las condiciones del cultivo.

7.10.1. *Colaspis hypochlora*

En abril de 2020, en algunas fincas de la zona sur y centro del eje bananero, se reportó la presencia de un insecto que producía daño en fruta de 2 y 3 semanas (**Figura 1**). Este insecto el cual fue identificado como *Colaspis hypochlora* (**Figura 2**), solo había sido reportado en la zona del Magdalena, causando daños principalmente sobre la fruta (en todo el racimo) y no en hojas como es típico en la especie *C. submetallica*.



Figura 1. Daño producido por *Colaspis hypochlora* sobre la fruta.



Figura 2. Individuo de *Colaspis hypochlora* (5.5 a 6 mm)

La taxonomía establecida para el organismo identificado fue:

Orden: Coleóptera

Familia: Chrysomelidae

Especie: *Colaspis hypochlora* (Lefévre, 1878)

7.10.2. *Cephaloleia neglecta*

La modificación del ecosistema por ampliación de áreas de cultivo o por nuevas áreas ubicadas en cercanías a zonas boscosas o a otros cultivos, también pueden influir en la aparición de estas plagas. Tal es el caso del insecto *Cephaloleia neglecta*, reportado en marzo de 2021 por primera vez en cultivo de banano en la zona de Chigorodó (**Figura 3**), más específicamente en la finca Monte Cristo (Sarapalma S.A.), causando daños en fruta. Este género en Colombia ha sido reportado en el cultivo de palma africana.

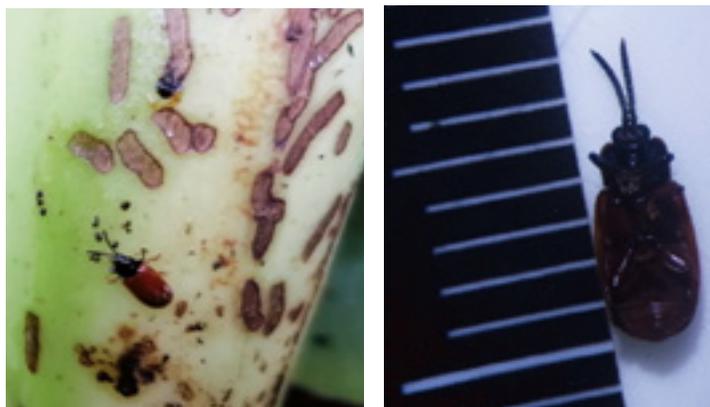


Figura 3. Individuo de *Cephaloleia neglecta* (5 mm) causando daño en fruta.

La taxonomía establecida para el organismo identificado fue:

Orden: Coleóptera

Familia: Chrysomelidae

Especie: *Cephaloleia neglecta* (Weise, 1910)

Estos dos tipos de coleópteros además de pertenecer a la misma familia presentaron un daño similar, por esta razón se realizó el reporte y se dieron algunas recomendaciones, emitidas en la Ceninota N°6 de mayo 18 de 2021 de Cenibanano, dentro de las cuales se encontraban:

- Monitoreo
- Embolse prematuro
- Manejo de arvenses
- Manejo de la plaga en suelo con biológicos
- Manejo con bolsa tratada en áreas cercanas a bosques o a plantaciones de palma
- No aplicar productos químicos

7.10.3. *Phyllocoptruta musae*

El día 19 de agosto de 2021 a través de la red latinoamericana de acarología se informa el primer reporte del ácaro del bronceado del banano *Phyllocoptruta musae* Keifer (Acari: Eriophyidae), detectado por primera vez en Latinoamérica en octubre de 2020. La plaga fue localizada en altas densidades poblacionales sobre plantaciones de banano (Gran Enano y Williams) en República Dominicana (Gómez-Moya et al., 2021). Este reporte se realizó para la zona de Urabá y Magdalena, a través de la Ceninota N°10, emitida el día 26 de agosto de 2021.

7.10.4. Complejo de picudos

Hacia finales de octubre de 2021, se recibe el reporte de daños por complejo de picudos (picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) y picudo (*Polytus mellerborgii*) (**Figura 4**) en diferentes plantaciones de la zona centro y sur del eje bananero, más específicamente finca Carepa y finca San Juan.

A pesar de conocer que estas plagas no han sido de alta incidencia en la zona de Urabá, se consideró importante iniciar a realizar un monitoreo y control especialmente en estas dos fincas. Se está llevando a cabo una labor de acompañamiento mensual, para observar las fluctuaciones poblacionales de la plaga en el cultivo y verificar la efectividad de trampas para monitoreo y control, las cuales fueron recomendadas para el inicio de esta labor.



Figura 4. De izquierda a derecha: Picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), Picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) y picudo (*Polytus mellerborgii*). Nótese la diferencia de tamaño (mm) entre las tres especies.

Las recomendaciones se basaron inicialmente en la revisión de literatura mediante artículos y piezas audiovisuales, principalmente para conocer los diferentes modelos de trampas utilizados en el manejo de picudos y poder observar su adaptabilidad y eficiencia en campo. Posteriormente, se fueron ajustando de acuerdo a las condiciones de incidencia de la plaga en la finca y a la disposición de trabajo y materiales de las fincas.

Dentro de las recomendaciones establecidas al inicio, el montaje de trampas en cada finca fue entre 15 y 20 trampas / ha tipo “sándwich”, con y sin entomopatógenos. Dichas trampas debían revisarse cada 2 o 3 días, realizando labores de conteo y recolecta de individuos con el objetivo de llevar registros detallados de la incidencia de la plaga. Finalmente, para el manejo se sugirió colocar trampas de pseudotallo tipo “sándwich” (**Figura 5**), debido a su mayor área de captura, fácil revisión y mantenimiento. Estas trampas pueden ser utilizadas con entomopatógenos o sin ellos, no obstante, si lo que se busca es hacer control por trampeo, es importante adicionarlos.

En algunas fincas se determinó realizar control con este mismo tipo de trampa utilizando un insecticida químico debido a la alta población de individuos, sin embargo, se recomendó utilizar productos con registro, el cuidado de manipulación para evitar contaminaciones cruzadas y uso de EPP.



Figura 5. Trampa para captura de picudos tipo sándwich con entomopatógenos.

Según la literatura revisada, los factores asociados a la incidencia de este complejo de picudos son material orgánico en descomposición sumado a condiciones de alta humedad (residuos de cosecha sin repicar cercano a las plantas), semilla vegetativa contaminada y también a algunas deficiencias nutricionales como por ejemplo de potasio. Todo lo anterior, junto con las recomendaciones de manejo y control, fueron emitidas en la Ceninota N° 15 en noviembre 3 de 2021.

Dentro del seguimiento en el primer mes, en finca Carepa se estaban manejando 40 trampas/ha, con una captura promedio de 200 individuos /trampa y sin haberse presentado volcamiento de plantas. El número de capturas por semana se muestra en la **figura 6**.

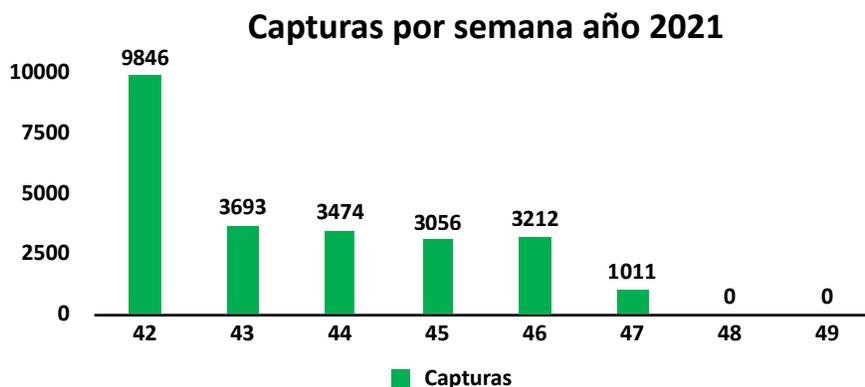


Figura 6. Capturas por semana de picudos en finca Carepa. Fuente: C.I. Tropical

En finca San Juan se estaba manejando 2 trampas / botalón, con una captura promedio 2 a 3 individuos /trampa y no se ha presentado volcamiento de plantas. Esta finca no estaba llevando registros semanales de sus capturas debido a que modificaron las trampas dos veces.



Fisiología y Nutrición Vegetal

2. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN FISIOLÓGÍA

2.1. SINCRONIZACIÓN DE BANANO CAVENDISH Y SU EFECTO SOBRE ALGUNOS COMPONENTES DEL RENDIMIENTO (Segunda fase)

Autores: *Diego Alejandro Londoño Puerta, Diego Felipe Feria Gómez, Jackson Danilo Osorio Cardona y Sebastian Zapata Henao*

Resumen

La sincronización se establece en plantas que, al momento de la emisión floral, su hijo de sucesión tiene por lo menos la hoja F10 (primera hoja con diez centímetros de ancho) completamente abierta, si el hijo de sucesión no ha emitido esta hoja, la unidad productiva se establece como desincronizada. Este parámetro se midió semanalmente, en botalones seleccionados, y se señalaron plantas cada cuatro semanas, para evaluación del retorno, variables morfológicas y de producción. La sincronización es una variable de calificación para la labor del desmache, que cuando alcanza valores significativamente altos se pueden obtener más racimos por hectárea (aumento del retorno) sin recurrir al aumento de densidades de siembra, además no se encontró relación entre esta y el peso del racimo.

Palabras clave: Retorno, desmache, pentágono, hoja F10.

2.2.1. Introducción

De acuerdo con Borja, Osorio, Herrera y Sánchez (2018), una oportuna selección de yemas (desmache) permite tener ajustado temporalmente el desarrollo de la madre y el hijo de sucesión, y así disminuir el intervalo de tiempo entre la cosecha del racimo de ambos, medido como retorno (número de racimos por año por unidad productiva). La sincronización se establece en plantas que, al momento de la emisión floral, su hijo de sucesión tiene por lo menos la hoja F10 (primera hoja con diez centímetros de ancho) completamente abierta, si el hijo de sucesión no ha emitido esta hoja, la unidad productiva se define como desincronizada.

El pseudotallo de la planta madre influye sobre el crecimiento del hijo de sucesión, debido al suministro de reservas y agua desde esta estructura (Rodríguez y Serrano 2001), en la zona de Urabá se maneja el modelo de unidad productiva con un solo hijo de sucesión, por ello es importante la oportuna selección de yemas para concentrar la distribución de éstos en este hijo. Además, diferentes autores han sugerido que los hijos con raíces propias también participan en la nutrición de la planta madre, y que después de la floración es probable que los retornos intervengan en la absorción de nutrientes para el llenado del fruto (Sánchez & Mira 2013).

En cuanto a la selección de los hijos de sucesión que mejor expresan parámetro de vigor y producción, Ehle Filho & Ferreira de Sene (1998) encontraron que al seleccionar el primero o el segundo rebrote del pentágono dos del rizoma, tiende a mejorar el crecimiento en altura y diámetro del pseudotallo, además de ser cosechados a las 80 y 82 semanas después de nacida la planta madre respectivamente. También destacan que después de la cosecha de las plantas madre el crecimiento se acelera debido al quiebre de la dominancia apical y eliminación del sombrío. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la sincronización de las unidades productivas del Campo Experimental y discutir sus variaciones, además de correlacionar esta variable con diferentes componentes del rendimiento.

2.2.2. Materiales y métodos

El Campo Experimental Ramiro Jaramillo Sossa, ubicado en el municipio de Carepa, Antioquia, cuenta con una subdivisión espacial en lotes y botalones para el arreglo del cultivo de banano Cavendish, en esta evaluación se propone la selección de dos a tres botalones por lote, sujeto al área y disposición espacial del mismo, los cuales servirán como zonas de muestreo representativas (**Figura 1**).

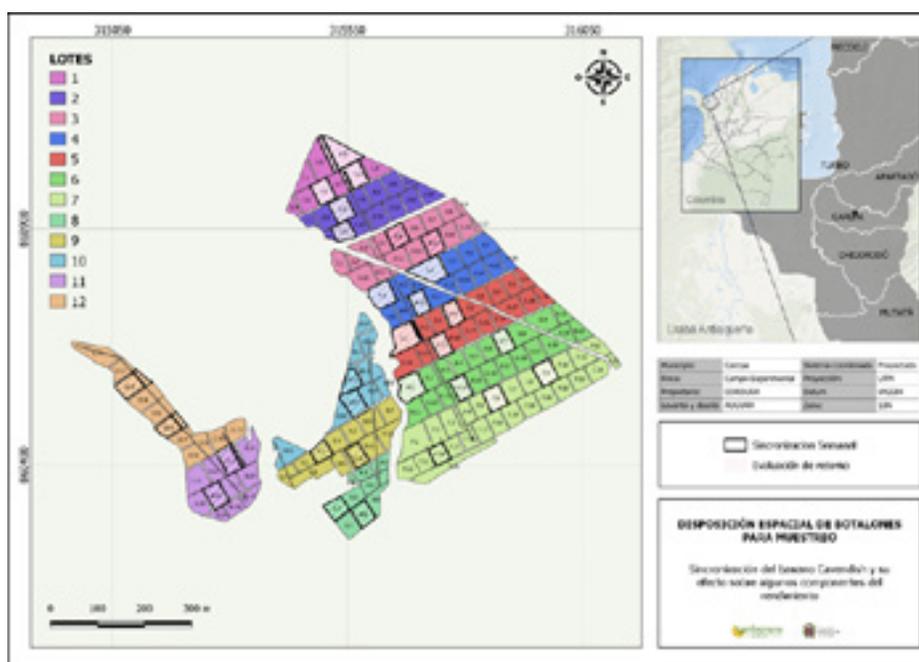
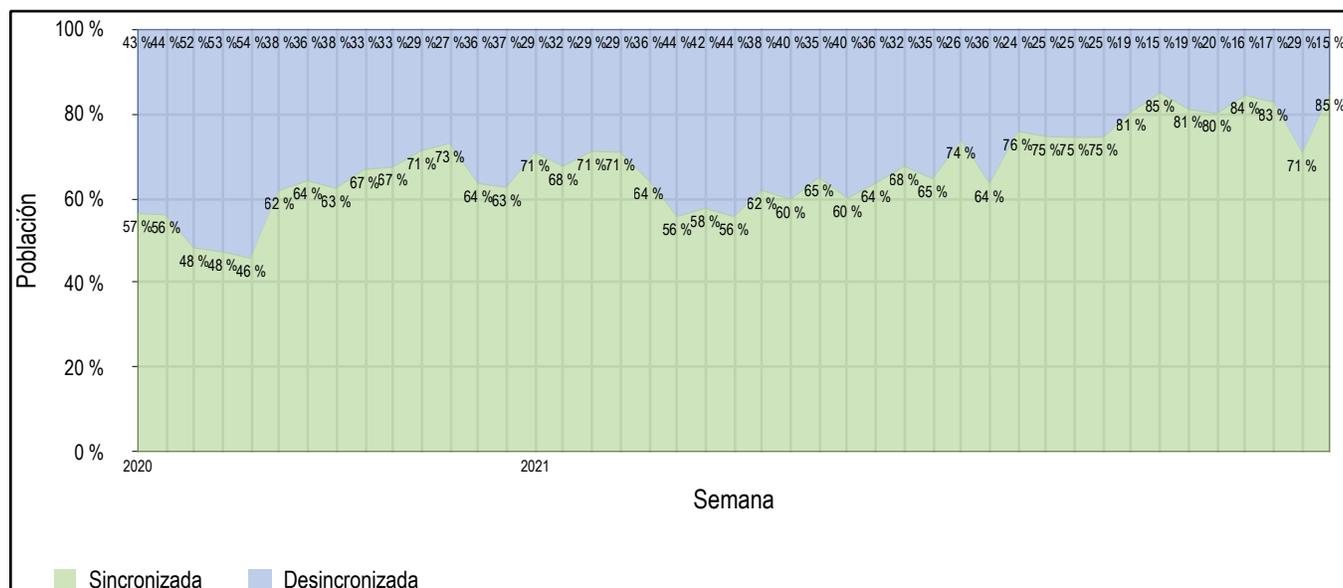


Figura 1. Disposición espacial de botalones para muestreo de sincronización y retorno.

Los botalones seleccionados se recorren en su totalidad semanalmente, desarrollando la búsqueda de plantas con la bacota totalmente emitida, con un máximo de dos brácteas abiertas, dichas plantas son contabilizadas como sincronizadas o desincronizadas dependiendo de la presencia o ausencia de la hoja F10 en sus hijos de sucesión, además, cada cuatro semanas se marcan las plantas para ser cosechadas once semanas después y contabilizar el tiempo que tarda el hijo de sucesión en emitir la bacota.

2.2.3. Resultados y discusión

2.2.3.1. Sincronización. El comportamiento de la sincronización semanal, acumulada para todo el Campo Experimental (**Figura 2**), mostró una zona de baja sincronización entre las semanas 40 y 44, pero que ha ido aumentando en el tiempo a valores superiores al 55%. En la ejecución de la evaluación se identificaron atrasos en la labor de desmache en las semanas 40 y 51 del 2020 y 6, 18 y 31 del 2021, lo que significó reducciones de sincronización de entre 10 al 20 %, esto explica la susceptibilidad fisiológica de las plantas a la selección oportuna del hijo de sucesión; cuando la planta mantiene múltiples yemas el crecimiento de estas se ve disminuido, lo que puede alargar significativamente la fenología del hijo, pero de igual forma la focalización de la fuente-vertedero en un solo hijo de sucesión estimula el crecimiento de este y aumenta la sincronización.



Atraso en el desmache

Figura 2. Sincronización semanal en el Campo Experimental.

2.2.3.2. Retorno. La cantidad de racimos que se obtienen de una unidad productiva al año, dependen de los estados fenológicos en los que la madre y el hijo de sucesión presentan en un punto determinado, cuando comparamos hijos que aun no emiten hoja F10 al momento del bacoteo de la madre (desincronización) el retorno varía entre 1.5 y 1.6 y cuando la unidad productiva se sincroniza varía entre 1.6 a 1.9 racimos año. Dentro del análisis de los diferentes clones resalta la respuesta de Gran Enano a la sincronización al superar un retorno de 1.9, y Williams con valores más estables al comparar los valores medios (**Figura 3**).

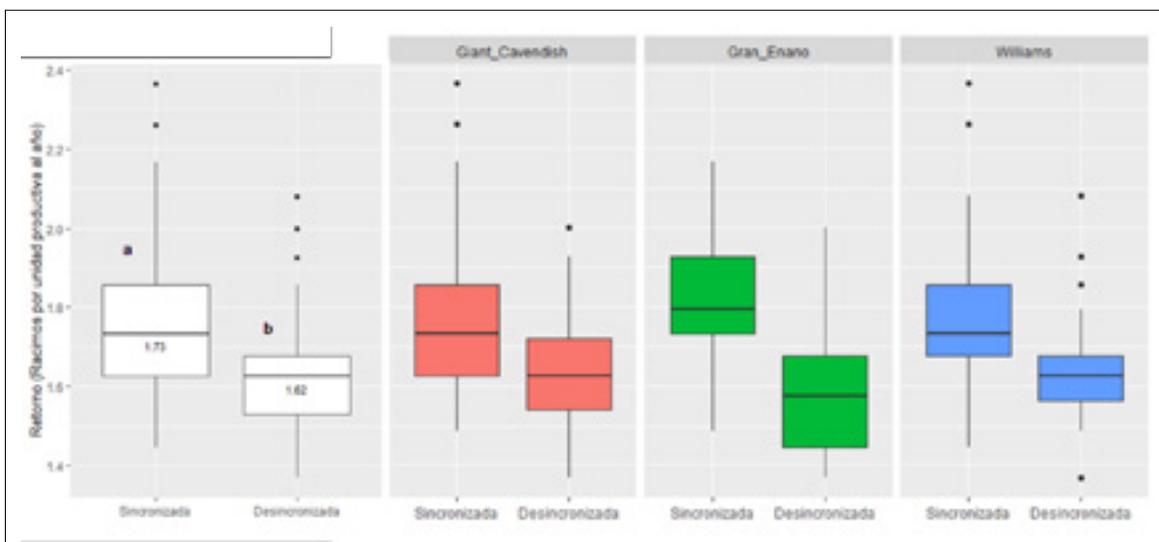


Figura 3. Retorno en función de la sincronización. Según la prueba de Kruskal-Wallis, las casillas con diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre las hojas ($p \leq 0,05$).

La sincronización se convierte en una variable de calificación para la labor del desmache que puede ser medida bajo diversas metodologías, y que cuando alcanza valores significativamente altos se pueden obtener más racimos por hectárea sin recurrir al aumento de densidades de siembra, como se muestra en la **tabla 1**, en donde se muestra que es una plantación con mayor densidad poblacional, pero sin sincronización, la cantidad de racimos por año es menor que una plantación con densidad poblacional mas baja, pero sincronizada.

Tabla 1. Racimos por hectárea considerando la sincronización.

Sincronización	Retorno	Densidad poblacional	Racimos año/ha
Si	1.8	1.800	3.240
No	1.6	1.800	2.880
No	1.6	1.900	3.040

Cuando la sincronización se categoriza usando la cantidad de hojas que ha emitido el hijo de sucesión, a partir de la F10, al bacoteo de la madre, se observa que el retorno se mantiene estable entre F10 y F10+2, lo que indica un rango optimo poblacional para esta variable, pero si los hijos presentan cuatro hojas verdaderas (F10+3 ultima hoja emitida completamente) los valores de retorno aumentan significativamente por encima de 1.8 (**Figura 4**).

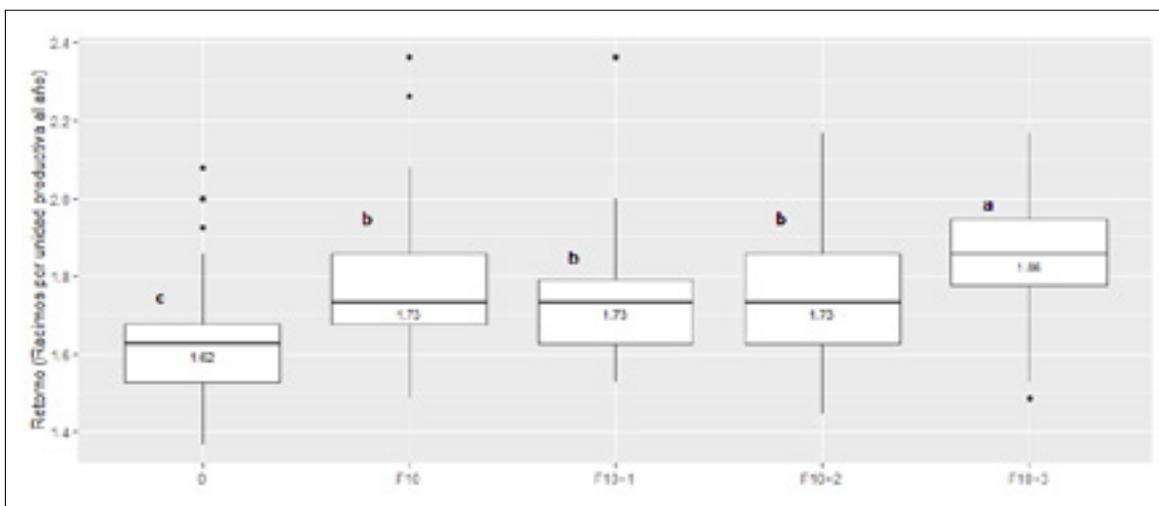


Figura 4. Retorno bajo distintos niveles de sincronización. Según la prueba de Kruskal-Wallis, las casillas con diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre las hojas ($p \leq 0,05$).

2.2.3.3. Peso del racimo. La sincronización no es una variable directa de alta correlación con el peso del racimo, en la **figura 4 (A)** no se presenta diferencias significativas cuando se monitorea el peso de unidades sincronizadas y desincronizadas, pero al comparar peso del racimo y el vigor de la planta (calculado como el volumen fresco aproximado de pseudotallo) (**Figura 4, B**) se presenta una correlación del 0.486261 ($p \leq 0,05$), siendo esta una variable que explica de mejor forma la acumulación de materia seca en el racimo.

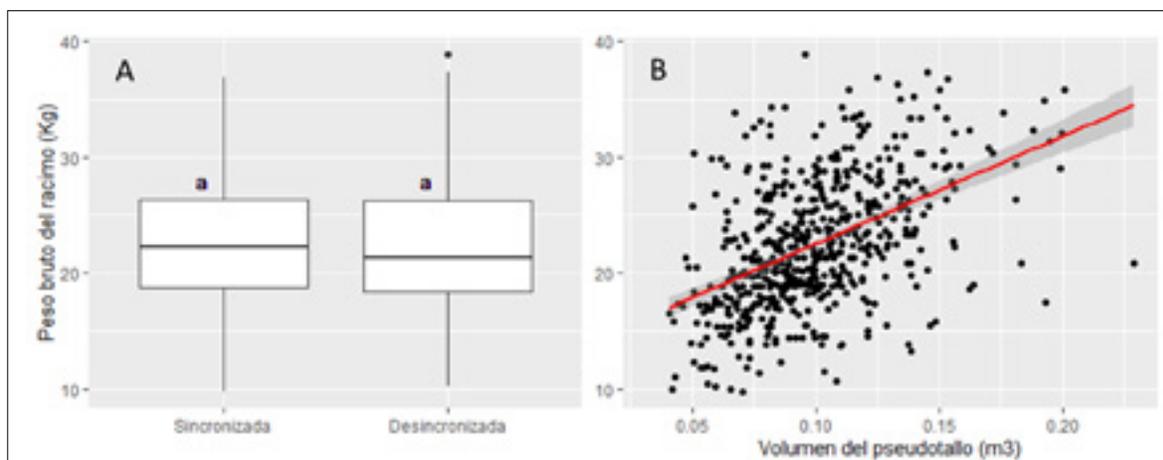


Figura 5. (A) Influencia de la sincronización sobre el peso del racimo, **(B)** Peso del racimo en función del vigor. Según la prueba de Kruskal-Wallis, las casillas con diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre las hojas ($p \leq 0,05$).

2.2.4. Conclusiones

La sincronización es una variable de seguimiento y calificación cuantitativa del desmache, que expresa de una forma eficiente mejoras o atrasos en la labor, aumentar esta variable poblacionalmente repercute en el aumento del retorno, lo que mejora la cantidad de racimos producidos al año por hectárea sin realizar ajustes de sobrepoblación, además esta variable no debe apuntar a la mejora del peso del racimo, y si se desea mejorar esta variable se recomienda el uso de estrategias que respondan óptimamente a las condiciones de cada finca y expresen su vigor máximo potencial.

2.2.5. Referencias bibliográficas

- Borja, W., Osorio, J., Herrera, N., & Sánchez, J. (2018). *Fundamentos En Fenología De Banano Cavendish (Musa AAA) En Cultivo Establecido*. Boletín n° 1. AUGURA. ISSN: 0121-4659.
- Ehle Filho, B., & Ferreira de Sene, F. (1998). *Sincronización de la producción de bananos clon "Gran Enano" a través de la selección de los hijos de sucesión en el Trópico Húmedo de Costa Rica* (Tesis de Pregrado). Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda, Guácimo, Costa Rica.
- Rodríguez W., Serrano E. (2001). *Respuesta de las hojas de banano (Musa AAA, cv. Grande Naine) de diferente edad a la radiación incidente*. CORBANA 26(55):1-16.
- Sánchez, J., & Mira, J., (2013), *Principios para la nutrición del cultivo de banano*, Colombia, Augura.

2.2. RELACIÓN ENTRE LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA A Y EL RENDIMIENTO EN EL BANANO CV. CAVENDISH

Autores: *Diego Felipe Feria Gómez, Diego Alejandro Londoño Puerta, Oscar de Jesús Córdoba-Gaona*

Resumen

La fluorescencia de la clorofila es una técnica empleada para caracterizar la respuesta, en diferentes especies vegetales, a ambientes naturales o bajo condiciones de estrés. El objetivo de este estudio fue identificar correlaciones entre la máxima eficiencia cuántica de PSII (Q_y) con variables climáticas y edáficas asociadas al rendimiento del cultivo. Se seleccionaron al azar 72 unidades productivas en etapa vegetativa independiente, 36 en un lote de baja producción y 36 en un lote de alta producción, a cada una de los cuales se le midió el rendimiento cuántico (Q_y : F_v/F_m) del fotosistema II, y se correlacionó con variables climáticas (precipitación, temperatura, radiación, humedad y velocidad del viento); variables edáficas (pH, resistencia a la penetración y textura del suelo); con el contenido de nutrientes en la hojas y con el peso promedio del racimo en cada uno de los lotes muestreados. Los resultados indicaron una correlación entre Q_y de -0.703 con respecto a la temperatura y -0.583 con la radiación. Por otro lado, el pH y la resistencia a la penetración del suelo se relacionaron de forma directa con Q_y en menor proporción con valores de r^2 de 12.77% y 24.28% respectivamente. La precipitación, el viento y sus rachas, el punto de rocío, la presión atmosférica y la composición textural del suelo no afectaron de forma significativa la variación Q_y . Cuando se produjeron ataques de plagas en hojas (ácaros), también se observaron reducciones significativas en Q_y . Q_y es una variable que responde al estrés generado por factores externos a la planta, estos pueden afectar significativamente la producción, la cual se reduce hasta en dos kg por racimo, con un sesgo de tres a cuatro semanas, al presentarse la pérdida de 0.04 puntos en el valor de Q_y .

2.2.1. Introducción

Uno de los mayores desafíos para la producción de banano en la región es implementar estrategias de manejo agronómico para reducir los efectos negativos de la variabilidad climática en el rendimiento de los cultivos (Barrera et al., 2020). Determinar las respuestas fisiológicas de las plantas y cómo se ven afectadas por aspectos ambientales como el clima, la nutrición y el manejo agronómico, entre otros; es de gran importancia conocer cuáles son los principales factores que afectan la producción (Maxwell & Johnson, 2000). Uno de los componentes afectados con mayor regularidad es el fotosistema II (PSII) debido a deficiencias en la nutrición, cambios en las variables climáticas, condiciones del suelo y daños generados por el manejo de los cultivos. Esto conduce a una reducción en la absorción de luz y aumentos en los mecanismos de disipación del exceso de energía por fluorescencia (Maxwell & Johnson, 2000).

2.2.2. Materiales y métodos

2.2.2.1. Ubicación: La investigación se realizó en el Campo Experimental Ramiro Jaramillo Sossa – AUGURA-CENIBANANO (CE) ubicado en el municipio de Carepa, Antioquia (Colombia) (7°46'48.2" N; 76°40'23.0" W), plantada en 2007.

2.2.2.2. Unidad experimental: El trabajo corresponde a un estudio observacional. Se seleccionaron dos áreas experimentales (parcelas) de 1.563 m², con dos niveles productivos. La primera parcela (P12) con un peso medio de 27,13 kg por racimo, y la segunda parcela (P6) con un peso medio de racimo de 22,91 kg. En cada parcela experimental (**Figura 1**), se seleccionaron aleatoriamente 36 unidades productivas (madre-hija). El material vegetal utilizado corresponde al grupo *Musa* AAA, subgrupo Cavendish, clon Gran Enano, sembrado a una densidad de 1.780 plantas ha⁻¹ en parcela P6 y 1.685 plantas ha⁻¹ en parcela P12.

2.2.2.3. Fluorescencia de clorofila: la fluorescencia máxima (Fm), basal (Fo), variable (Fv) y la máxima eficiencia cuántica del PSII ($Q_y = F_v / F_m$) se estimaron en el tercio medio de la hoja en cada unidad de producción. El fluorómetro de clorofila OS30p+ (Opti-Sciences) se utilizó en láminas adaptadas a la oscuridad (30 minutos), lo anterior se repitió hasta la hoja F10+10 (etapa vegetativa independiente), garantizando siempre el muestreo foliar en la posición tres, desde la semana 47 de 2020 hasta la semana 8 de 2021.

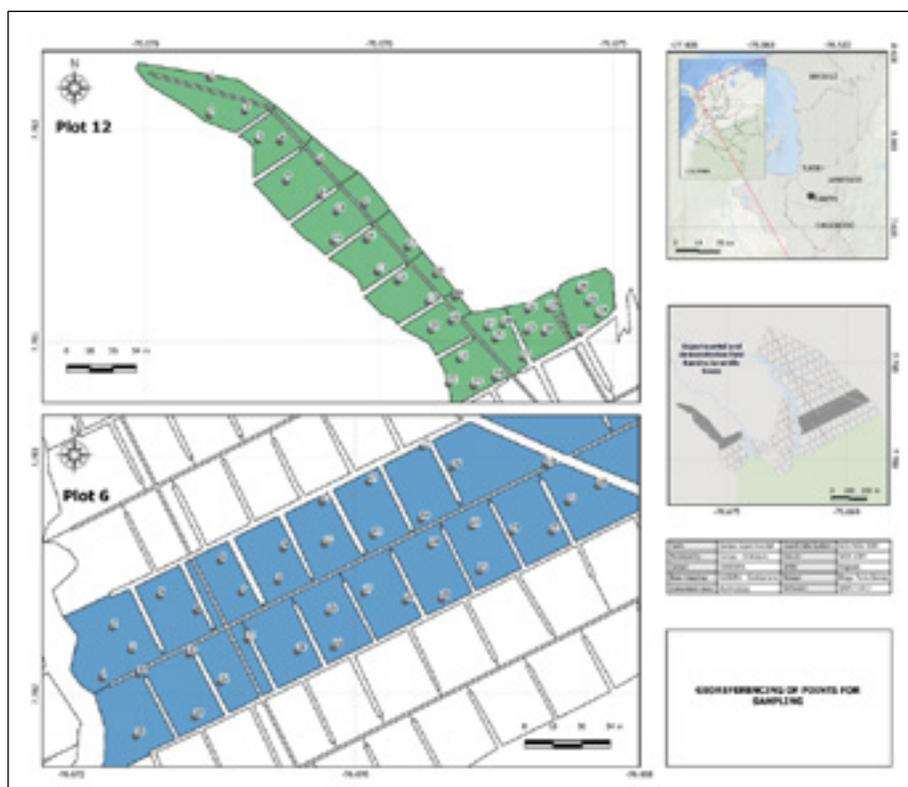


Figura 1. Distribución espacial de las unidades productivas para muestreo seleccionadas en las parcelas P6 (baja producción) y parcela P12 (alta producción). Campo Experimental Ramiro Jaramillo Sossa-AUGURA-CENIBANANO.

2.2.2.4. Variable de rendimiento de fruta: El peso promedio del racimo de las plantas en cosecha en cada parcela se registró semanalmente utilizando la báscula electrónica XR3000 (Tru-Test®).

2.2.2.5. Condiciones climáticas: Con el uso de una estación meteorológica AgroMET (RainWise® Inc) y en intervalos de 15 minutos se determinaron las variables climáticas: radiación ($W m^{-2}$), temperatura ($^{\circ}C$), humedad relativa (%), punto punto de rocío ($^{\circ}C$), presión atmosférica (mb), precipitación (mm), velocidad del viento ($m s^{-1}$) y déficit de presión de vapor VPD.

2.2.2.6. Análisis de suelos: Se tomó una muestra de suelo a 0,3 m del pseudotallo en cada unidad de producción. La textura del suelo se determinó utilizando el método Bouyoucos (hidrómetro) (1936) mientras que el pH del suelo se estimó utilizando un medidor de pH SevenCompact S220 con sensor Inlab® Expert Pro - ISM (Mettler - Toledo) en solución 1:1 (20 g de suelo: 20 ml de agua destilada). Además, se determinó la resistencia a la penetración del suelo en los primeros 0,8 m de profundidad en cada sitio, utilizando el Penetrologger 6,08 (Eijkelkamp) con el sensor de humedad del suelo Thetaprobe ML3.

2.2.3. Resultados y discusión

2.2.3.1. Rendimiento cuántico: El Q_y (F_v/F_m) está sujeto al desarrollo foliar del banano. La **figura 2** muestra el rendimiento cuántico del fotosistema II (Q_y) para cada hoja emitida en la etapa fenológica vegetativa independiente (F10 \pm 11 hojas). En esta etapa, la planta de banano emite varias hojas (\pm 12) antes de la diferenciación floral. Los valores de Q_y aumentan de la hoja F10 a F10 + 4, momento en el que las hojas emitidas presentan valores similares para la eficiencia cuántica del fotosistema II. Esta variación se asocia con el hecho de que a pesar de que la hoja F10 es una hoja funcional, es la primera hoja completamente abierta que se emite y comienza la etapa de crecimiento vegetativo independiente; a partir de este momento, las hojas emitidas aumentan de tamaño y funcionalidad. Desde la hoja 5 (F10 + 4) hasta la 9 (F10 + 8), Q_y permanece constante. Este comportamiento muestra que, aunque los fotosistemas están activos en el tejido foliar, el desarrollo foliar influye significativamente en su eficiencia.

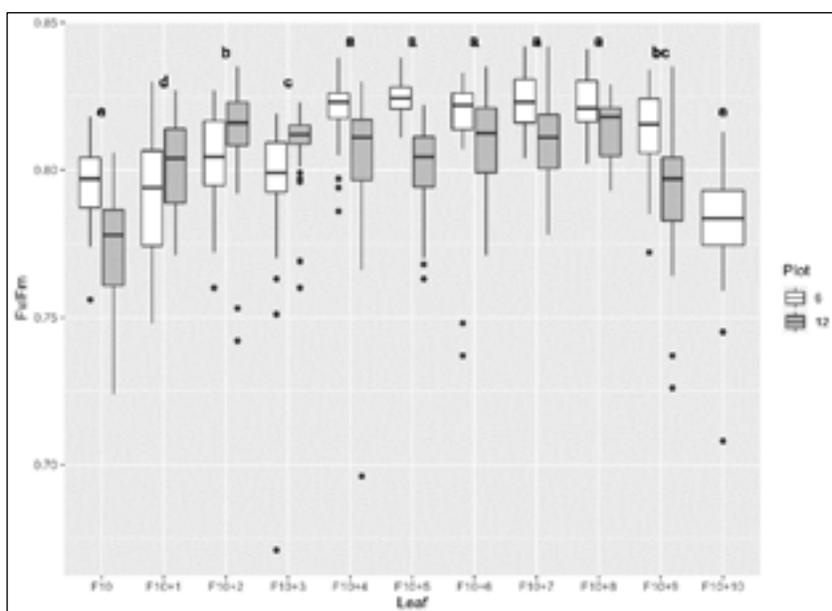


Figura 2. La máxima eficiencia cuántica del PSII ($Q_y = F_v/F_m$) en cada hoja emitida. Según la prueba de Kruskal-Wallis, las casillas con diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticas entre las hojas ($p \leq 0,05$).

En este experimento, las hojas F10+9 y F10+10 mostraron síntomas de un ataque severo por parte del ácaro fitófago (*Tetranychus* sp.) comúnmente conocido como "araña roja" en el banano, que genera bronceado foliar debido a su alimentación, hay una disminución significativa en el Qy. Resultados similares fueron reportados por Chacón-Hernández et al. (2018), quienes indicaron que los períodos prolongados de alimentación por *Tetranychus urticae* resultan en una disminución significativa en el contenido y la fluorescencia de la clorofila.

2.2.3.2. Clima - fluorescencia de clorofila: Cuando el Qy se relacionó con las variables climáticas, se encontró una correlación significativa ($P < 0.05$) para el rendimiento cuántico de clorofila a, en comparación con el comportamiento de la temperatura (-0.703), el déficit de presión de vapor (VPD) (-0.740) y la radiación (-0.583); factores ambientales que influyen inmediatamente en el funcionamiento del fotosistema y son inversamente proporcionales (**Figura 3**).

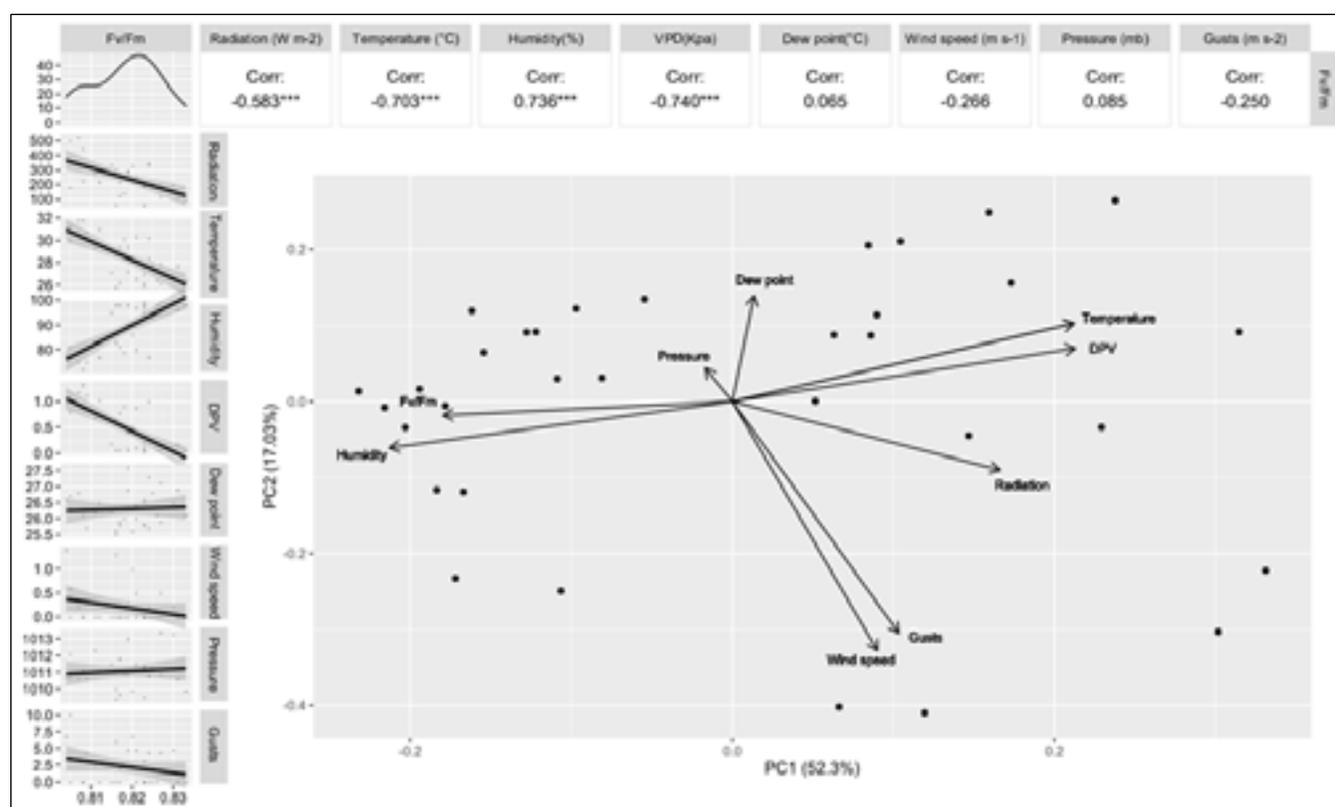


Figura 3. Correlación entre variables climáticas y rendimiento cuántico del fotosistema II ($Q_y = F_v/F_m$) en hojas de banano subgrupo Cavendish, clon gran enano.

2.2.3.4. Suelo - fluorescencia de clorofila: Cuando se correlacionaron las propiedades físicas del suelo y el Qy, se presentaron los coeficientes más altos sobre pH en parcela P6 y resistencia a penetración de 0,3 - 0,6 m en parcela P12 con valores de r^2 de 12,77% y 24,28% respectivamente. El resultado anterior indica una distribución espacial de zonas Qy bajas con pH inferior a 5,4 (Figura 4A) y resistencias inferiores a 1,36 Mpa (**Figura 4B**).

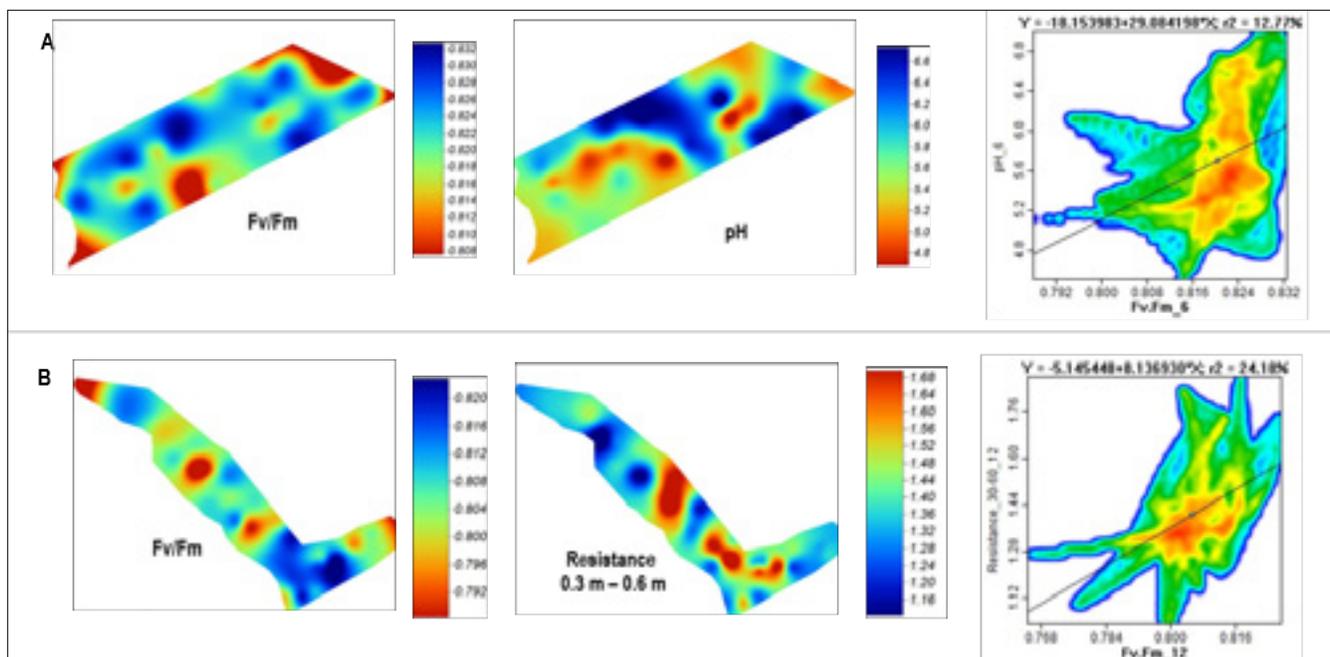


Figura 4. Correlación espacial de variables del suelo y el rendimiento cuántico del fotosistema II ($Q_y = F_v/F_m$) en hojas de banano subgrupo Cavendish, clon Gran Enano. A: parcela número 6 y B: parcela número 12.

2..2.3.5. Producción - fluorescencia de clorofila: La curva de peso promedio semanal del racimo se evaluó con diferentes sesgos (0 a 4 semanas) a la medición de Q_y , encontrando que el r^2 más alto = 0.68 se presentó cuatro semanas después de medir la eficiencia de rendimiento cuántico en hojas de banano en la parcela P6, y tres semanas con $r^2 = 0.67$ en la parcela P12; lo que representa, además de una sensibilidad más rápida de la parcela P12 al estrés, una disminución de aproximadamente 1,5 kg en los racimos de P6 y 2,9 kg en P12 después de que el colapso en Q_y ocurriera en la semana 5 (**Figura 5**).

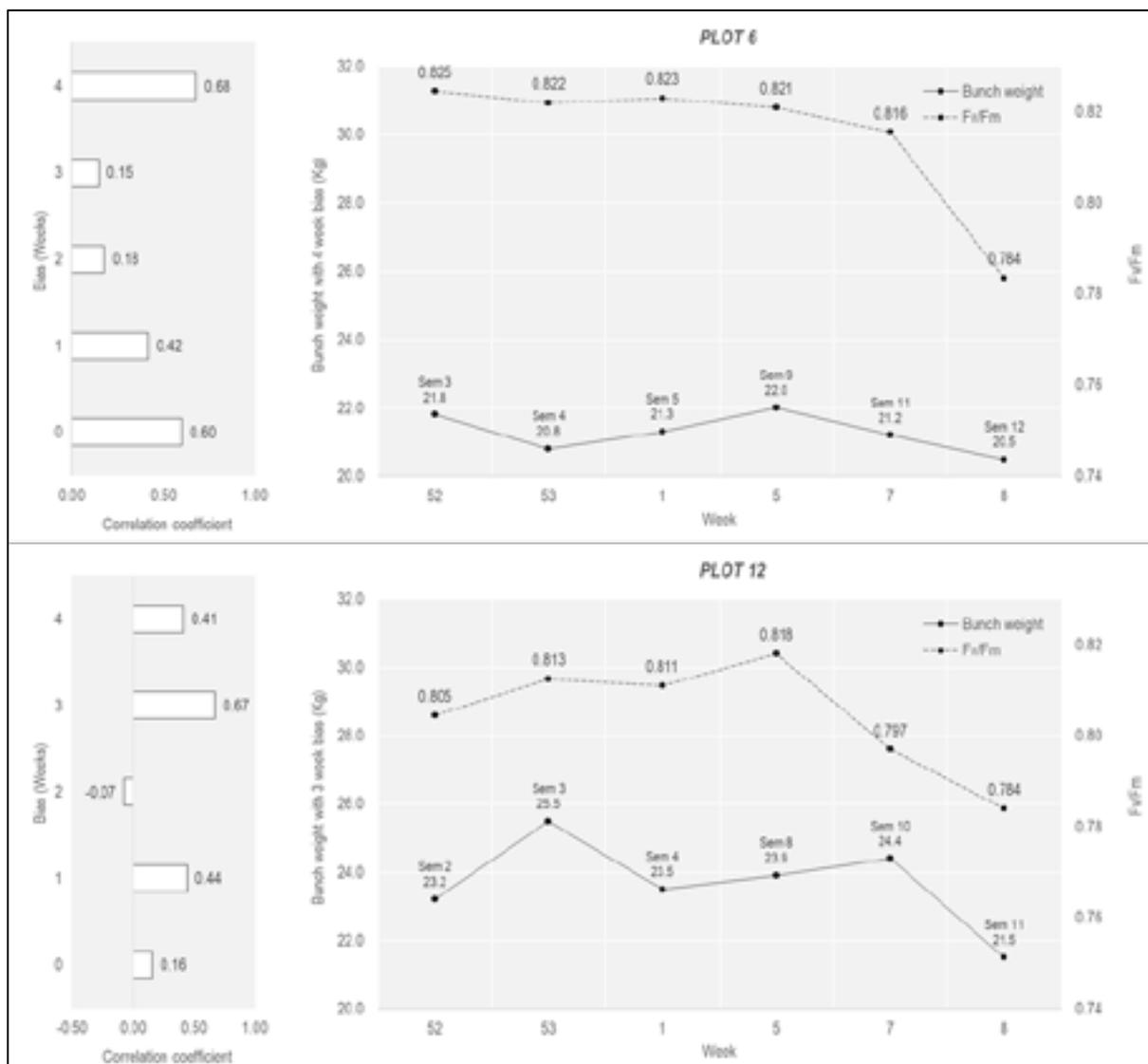


Figura 5. Correlación con la producción sesgada en el tiempo y el rendimiento cuántico del fotosistema II ($Q_y = F_v/F_m$). A: P6 y B: P12

2.2.4. Conclusiones

La variación del Q_y se correlacionó significativamente con la cantidad de radiación, temperatura, VPD, humedad relativa, pH del suelo y resistencia a la penetración. Por otro lado, la producción se ve afectada por la disminución de Q_y en la misma parcela; El rendimiento del racimo podría perder hasta 2,9 kilogramos. Las deficiencias nutricionales como el nitrógeno, el manganeso y el boro evidenciaron la disminución de Q_y . La fluorescencia de la clorofila a través del Q_y como respuesta de las plantas de banano a cualquier estrés nos permite explicar las reducciones en el rendimiento de la fruta que afectan la productividad de la granja.

2.2.5. Referencias bibliograficas

- Chacón-Hernández, Julio C., Camacho-Aguilar, Isaac, Cerna-Chavez, Ernesto, Ordaz-Silva, Salvador, Ochoa-Fuentes, Yisa M., & Landeros-Flores, Jerónimo. (2018). Efectos de *Tetranychus urticae* y *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae) en la clorofila de plantas de rosal (*Rosa* sp.). *Agrociencia*, 52(6), 895-909. Recuperado en 18 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000600895&lng=es&tlng=es.
- Barrera, J., Cartagena, J., & Gómez, O. (2020). Influence of high planting densities and arrangements on yield and fruit development of Musa AAA Simmonds. *Acta Agronómica*, 69(1), 46-53. doi:10.15446/acag.v69n1.79834
- Bouyoucos, G. J. (1936). Directions for making mechanical analyses of soils by the hydrometer method. *Soil Science*, 42(3), 225-230. doi:10.1097/00010694-193609000-00007
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668. doi:10.1093/jexbot/51.345.659

2.3. RESPUESTA DEL pH A LA INCUBACIÓN DE CALES EN SUELOS DEL URABÁ

Autores: *Diego Felipe Feria Gómez, Diego Alejandro Londoño Puerta, Diego Alexander Calle Zuleta y Sebastian Zapata Henao*

Resumen

La acidez en suelos bananeros, y en consecuencia la alta concentración de aluminio intercambiable, limitan el crecimiento radicular y normal desarrollo de la plantación que conlleva a una baja producción. Una de las estrategias para el control de la acidez es la aplicación de fuentes encalantes. El encalado consiste en aplicación al suelo de sales básicas que neutralizan la acidez. Con el objetivo de evaluar el comportamiento de diferentes fuentes encalantes, mediante incubaciones, y su interacción con el pH en varios suelos de la subregión de Urabá, para el cultivo de banano (*Musa AAA*), se planteó la presente investigación. En las instalaciones de Cenibanano, ubicadas en Carepa, Antioquia, se realizaron incubaciones con siete (7) fuentes encalantes. Se encontraron diferencias entre las fuentes evaluadas, concluyendo que la metodología de incubación de enmiendas es una muy buena alternativa para tener una aproximación más exacta de la cantidad de enmienda que se necesita para llegar a un pH determinado. Este ensayo da un abanico de opciones para que el productor escoja, según su necesidad, cual fuente encalante se acomoda a su necesidad.

2.3.1. Introducción

Tradicionalmente todos los suelos tropicales han sido asociados a fuerte acidez, alto potencial fitotóxico del Aluminio (Al) y/o Manganeseo (Mn) y baja disponibilidad de Fósforo (P). Se ha estimado que del 80 - 85 % de los suelos de Colombia son ácidos. Es necesario aclarar que, si bien los suelos ácidos son abundantes en los trópicos, la agricultura intensiva de altos rendimientos se establece en suelos que son ligeramente ácidos o neutros (Osorio, 2014).

Existen varios procesos en el suelo que promueven la disminución del pH. Dentro de las principales causas de la acidificación de los suelos en los sistemas productivos agrícolas se encuentran: 1. Remoción de nutrientes por el cultivo y lavado de bases, 2. La aplicación de fertilizantes nitrogenados, 3. El contenido de aluminio en el suelo y su reacción en cadena (Espinosa & Molina, 1999).

La acidificación de los suelos va a limitar la producción bananera en el tiempo, si no se toman medidas correctivas. El pH y la concentración de aluminio intercambiable en suelos bananeros es variable espacialmente, lo que puede ayudar a explicar en parte la alta variabilidad en el desarrollo y rendimiento dentro de un mismo lote de cultivo. Además, se ha encontrado a través de los años de explotación bananera en suelos de la subregión de Urabá un aumento en los porcentajes de saturación de aluminio. La limitante más importante de la acidificación de los suelos es el incremento de la disponibilidad de aluminio para las plantas (Sánchez & Mira, 2013).

El aluminio es tóxico para las plantas, a corto plazo se observa que la elongación de la raíz se inhibe y a largo plazo se reduce la biomasa de las raíces finas y en general del sistema radical, por

lo cual la planta reduce el volumen de suelo que puede explorar, disminuyendo de este modo la absorción de nutrientes, de agua y reduciendo la producción de materia seca total y puede haber caída de plantas por pérdida de anclaje. La forma más fitotóxica del aluminio es Al^{3+} , está predominando en la solución del suelo en pH por debajo de 5.5, donde aumenta exponencialmente a medida que se reduce el pH (Sánchez & Mira, 2013).

Una de las estrategias para el control de la acidez es la aplicación de fuentes encalantes. El encalado consiste en aplicación al suelo de sales básicas que neutralizan la acidez. Son diversos los materiales que pueden utilizarse para el encalado de los suelos, pero todos difieren en su capacidad de neutralización. Los materiales más comunes son carbonatos, óxidos, hidróxidos y silicatos de calcio y magnesio (Espinosa & Molina, 1999). La aplicación de estas fuentes tienen varios objetivos: 1. Neutralizar parcial o totalmente las especies iónicas de Al, 2. Aumentar pH del suelo para insolubilizar el Al y/o mejorar la solubilidad de algunos nutrientes, 3. Aportar calcio y en algunos casos magnesio, 4. Mejorar la actividad microbiana del suelo al mejorar pH, neutralizar Al, entre otros beneficios los efectos que se obtengan con el encalamiento dependerán en buena medida de la dosis y la fuente aplicada, del valor del Al intercambiable y de la capacidad buffer del suelo para amortiguar el cambio de pH (Osorio, 2014). Desafortunadamente, los criterios para determinar la dosis y tipo de cal no son ampliamente conocidos y, con frecuencia, se falla en estos aspectos. Entre los métodos que existen para la determinación de dosis de aplicación, se encuentra la incubación con cal, la cual consiste en tomar porciones de suelo (20-50 g) que reciben la aplicación creciente de cal (0-16 g.kg⁻¹). Las muestras se someten a dos ciclos de secado y humedecimiento durante 15 días. Finalmente se mide el pH y se grafica la relación de pH en función de la cal adicionada y se obtiene una regresión entre las variables, con la cual se puede interpolar o extrapolar el requerimiento de Cal para alcanzar un pH deseado (Osorio, 2012).

Con el objetivo de evaluar el comportamiento de diferentes fuentes encalantes, mediante incubaciones, y su interacción con el pH en varios suelos de la subregión de Urabá, para el cultivo de banano (*Musa AAA*), se planteó la presente investigación.

2.3.2. Materiales y métodos

Se seleccionaron dos fincas bananeras, una en el norte y otra en el sur de la zona, con características de suelo con pH lo más cercano posible a 5 y textura franco arcillosa; estas muestras fueron secadas, molidas y pasadas por tamiz de 2 mm.

En las instalaciones de Cenibanano, ubicadas en Carepa, Antioquia, se realizaron las incubaciones con siete (7) fuentes encalantes (**Tabla 1**) según metodología propuesta por (Uchida & Hue, 2000) modificada por Cenibanano, en los tiempos de incubación, esta se describe a continuación:

Tabla 1. Composición de fuentes encalantes utilizadas en la investigación.

Fuente	CaO	MgO	P2O5	SiO2	S
Cal agrícola	50.4				
Cal Dolomita	31.9	15.7			
Dolomita calcinada	56	28			
Silicato de calcio	39	11		25	
Silicato de magnesio		30		31	
Mezcla Pentax	31	15	3	15	3
Yeso agrícola	24				14.5

En vasos plásticos con 20 gr de suelo, se les adiciona las fuentes encalantes, a razón de 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, y 16 gr kg⁻¹ suelo, y se mezclan uniformemente. Se incuban las muestras humedeciéndolas al 50% de su retención máxima de humedad, se dejan a temperatura ambiente, al cabo de una semana se humedecen de nuevo para mantener el contenido de humedad inicial, y así sucesivamente durante 6 semanas.

Cada tratamiento contó con 18 repeticiones, cada semana se realizaba medición de pH de 3 de estas repeticiones, mediante uso del potenciómetro con electrodos de vidrio, en una mezcla peso/volumen de 1:1 suelo/agua, así, sucesivamente, durante las 6 semanas. En el laboratorio Agroambiental del Complejo Tecnológico Agroindustrial y Turístico, SENA Urabá, se calculó el aluminio intercambiable, mediante la metodología de titulación, en las muestras incubadas por 6 semanas.

Se grafican los resultados entre la fuente encalante aplicada y la variación del pH, además se hallaron los modelos de regresión que permite saber cuánta fuente encalante debe aplicarse para obtener una variación de pH deseada.

2.3.3. Resultados y discusión

En la **figura 1** se muestra la reactividad de las fuentes encalantes a la variación de pH después de 6 semanas de incubación.

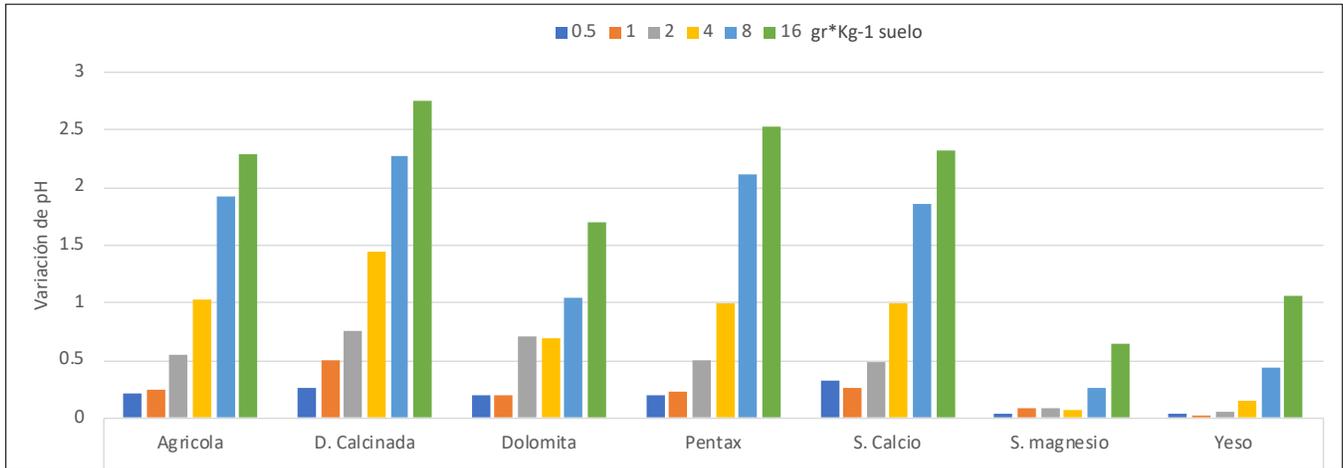


Figura 1. Variación del pH a medida que se aumenta la dosis de fuentes encalantes evaluadas.

En esta figura se puede observar el aumento del pH a medida que se aumenta la dosis de la fuente encalante. La fuente que mayor reactividad tuvo fue la Dolomita Calcinada, seguida en orden por Pentax, Agrícola, Silicato de calcio, Dolomita, yeso y Silicato de magnesio; estas dos últimas no tuvieron una buena reactividad con relación a la variación de pH. Sobre el Yeso agrícola se ha demostrado que no tiene un efecto en el aumento del pH del suelo, pero es muy usado en suelos ácidos por su alta solubilidad ($2.0 \text{ gr} \cdot \text{L}^{-1}$) y, en consecuencia, mayor movimiento hacia horizontes subsuperficiales, donde es posible precipitar aluminio intercambiable (Osorio, 2014).

En la **figura 2** se observa el efecto en la reducción de aluminio intercambiable a medida que se aumenta las dosis de encalante después de 6 semanas de incubación.

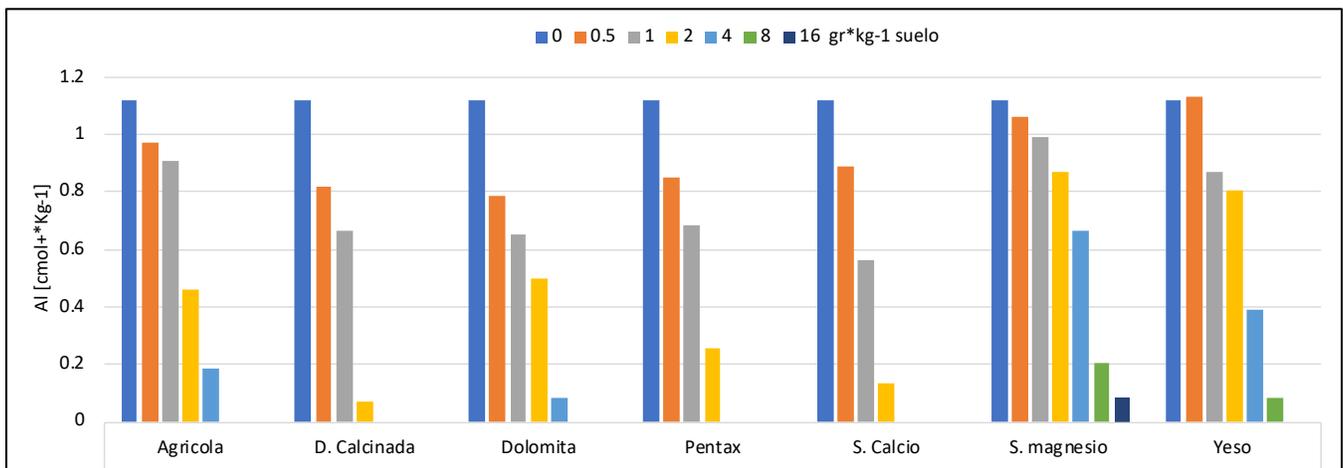


Figura 2. Concentración de Aluminio intercambiable a medida que se aumenta la dosis de fuentes encalantes evaluadas.

En la **figura 3** se muestra el efecto que tiene la aplicación de las diferentes fuentes encalantes sobre el pH y el aluminio intercambiable en las dos zonas de estudio (Sur y norte).

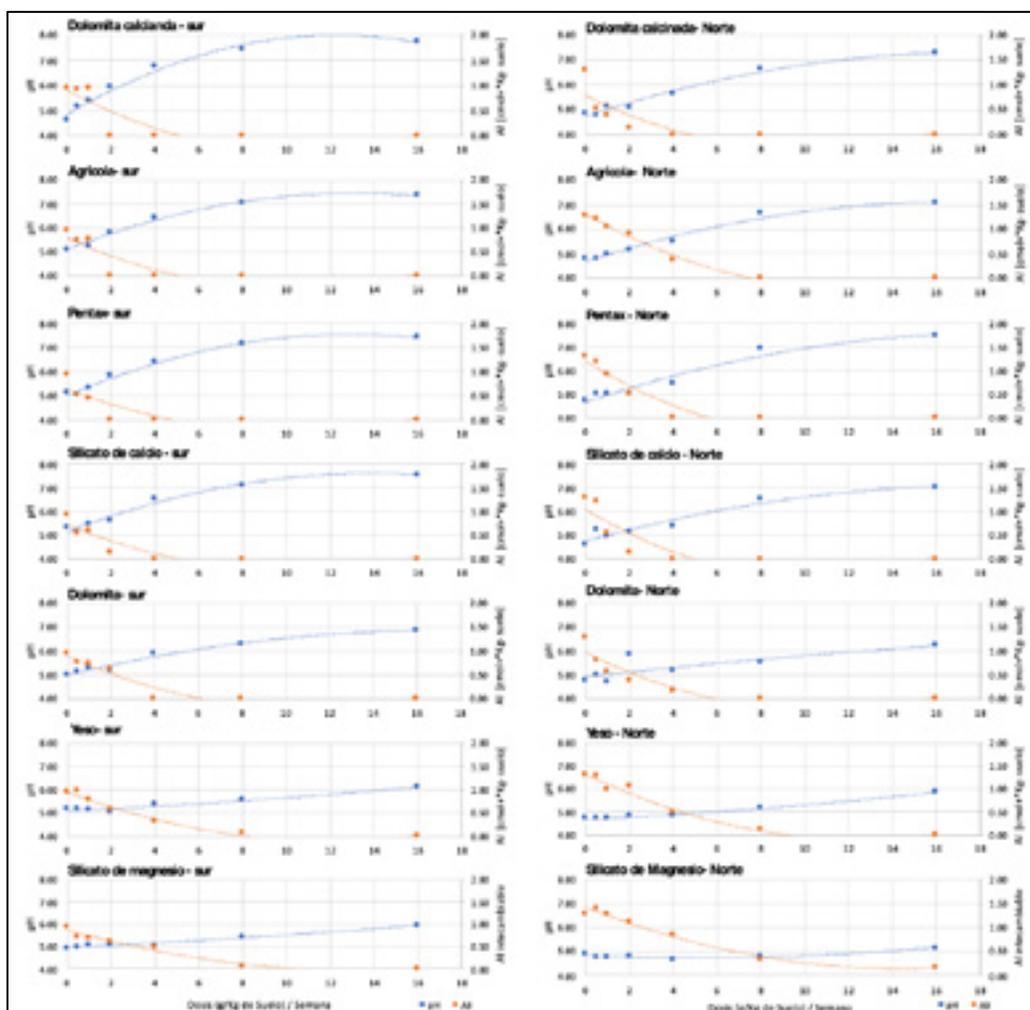


Figura 3. Efecto de la aplicación de diferentes fuentes encalantes a diferentes dosis sobre el pH y el aluminio intercambiable, en un suelo del sur y otro del norte la zona bananera de Urabá.

Las fuentes olomita calcinada, Silicato de calcio y Pentax, a dosis de 4 gr*kg⁻¹ de suelo ya el aluminio intercambiable no era detectable, en el caso de la Dolomita y Agrícola, fue la dosis de 8 gr*kg⁻¹ de suelo y en el caso del Yeso agrícola la dosis de 16 gr*kg⁻¹; en el caso del silicato de magnesio, se vio una reducción en las concentraciones de aluminio, pero no alcanzó, en las dosis evaluadas, a precipitarlo completamente.

En la **figura 4** se muestra los gráficos para cada una de las fuentes evaluadas, para cada dosis y cada semana de evaluación, en paralelo de la muestra del sur y la del norte de la zona bananera.

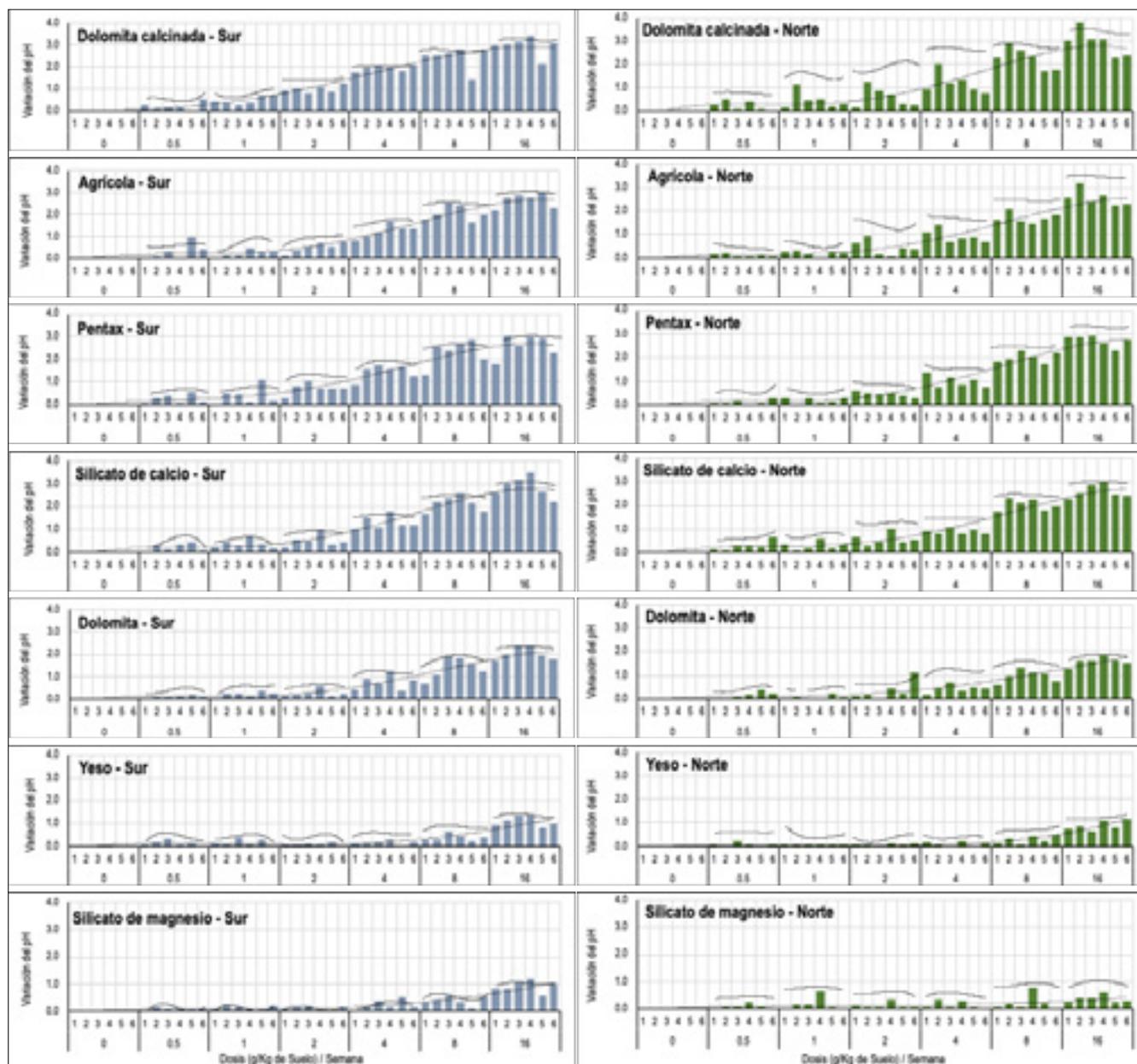


Figura 4. Gráficos de variación de pH por incubación de cada fuente encalante

Estas graficas se observa la evolución en la reactividad de cada fuente evaluada, además de la línea de tendencia, con la cual se extrae la ecuación de regresión (**Tabla 2**). En esta grafica también se puede apreciar la evolución de cada dosis a través de las semanas de evaluación, donde se observa una mayor reactividad en las primeras semanas, la cual después decae.

Tabla 2. Formulas de regresión para cada una de las fuentes evaluadas.

Fuente encalante	Formula de regresión
Dolomita Calcinada	$y = 2.0255x^2 - 1.0884x + 0.6795$
Agrícola	$y = 1.8679x^2 + 0.9538x + 0.4879$
Pentax	$y = 2.1377x^2 - 0.3079x + 0.6450$
Silicato de Calcio	$y = 1.7474x^2 + 0.6767x + 0.4829$
Dolomita	$y = 2.3221x^2 + 4.3004x + 0.1704$
Silicato de Magnesio	$y = 1.7178x^2 + 25.701x - 0.7862$
Yeso	$y = -13.075x^2 + 29.684x - 0.5339$

Con las formulas de regresión obtenidas, descritas en la tabla 3, se construyó la tabla 3, la cual muestra la cantidad de cal requerida para obtener una variación de pH determinada.

Tabla 3. Dosis, en gr*kg⁻¹ de suelo, de cada fuente encalante para alcanzar una variación de pH deseada.

		Dosis (g cal / Kg suelo)						
		Dolomita Calcinada	Agrícola	Pentax	Silicato de Calcio	Dolomita	Silicato de magnesio	Yeso
Variación del pH	0.5	0.64	1.43	1.03	1.26	2.90	12.49	11.04
	1.0	1.62	3.31	2.47	2.91	6.79	26.63	16.08
	1.5	3.60	6.12	4.99	5.43	11.85	41.63	14.57
	2.0	6.60	9.87	8.58	8.83	18.06		
	2.5	10.62	14.55	13.24	13.10	25.43		
	3.0	15.64	20.16	18.96	18.24	33.97		

Se realizó un ejercicio práctico de pasar la dosis a Ton*ha⁻¹, para un suelo con una densidad aparente de 1.3Mg/m³ y una profundidad efectiva de 10 cm, los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Dosis, en Ton*ha⁻¹ de suelo, de cada fuente encalante para alcanzar una variación de pH deseada.

		Dosis (Ton cal / ha suelo) *						
		Dolomita Calcinada	Agrícola	Pentax	Silicato de Calcio	Dolomita	Silicato de magnesio	Yeso
Variación del pH	0.5	0.83	1.86	1.33	1.64	3.77	16.24	14.35
	1.0	2.10	4.30	3.22	3.78	8.83	34.62	20.90
	1.5	4.69	7.96	6.49	7.06	15.40	54.12	18.95
	2.0	8.59	12.83	11.15	11.47	23.48		
	2.5	13.80	18.91	17.21	17.02	33.06		
	3.0	20.34	26.21	24.65	23.71	44.16		

*Calculado a partir de una densidad aparente de 1.3 Mg/m³ a 0.1 metros de profundidad

Esta tabla nos da una mejor aproximación a las dosis que deben ser empleadas a la hora del manejo del pH del suelo en la región de Urabá

2.3.4. Conclusiones

- La metodología de incubación de enmiendas es una muy buena alternativa para tener una aproximación mas exacta de lo cantidad de enmienda que se necesita para llegar a un pH determinado.
- Este ensayo da un abanico de opciones para que el productor escoja, según su necesidad, cual fuente encalante se acomoda a su necesidad.
- Se hace necesario realizar mas incubaciones en diferentes puntos de la zona de Urabá, para así alimentar el modelo realizado y tener mayor precesión y eficiencia.

2.3.5. Referencias bibliográficas

- Osorio, N. W. (2014). *Manejo de Nutrientes en Suelos del Trópico*. Medellín: Editorial L. Vieco S.A.S.
- Espinosa, J., & Molina, E. (1999). *Acidez y encalado de los suelos*. Ecuador: International Plant Nutrition Institute.
- Sánchez, J. D., & Mira, J. J. (2013). *Principios para la nutrición del cultivo de banano*. Medellín: AUGURA.
- Osorio, N. W. (30 de Mayo de 2012). ¿COMO DETERMINAR LOS REQUERIMIENTOS DE CAL DEL SUELO? *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, pág. 6.
- Uchida, R., & Hue, N. (2000). Soil acidity and liming. En Silva, & Uchida, *Plant nutrient management in Hawaii's soils*. Manoa: College of Tropical Agriculture and Human Resources.

2.4. EVALUACIÓN DE LA EMISIÓN FOLIAR EN ÁREAS DE CONFLUENCIA DE BLOQUES DE ASPERSIÓN AÉREA

Autores: Diego Felipe Feria Gómez, Diego Alejandro Londoño Puerta y Sebastian Zapata Henao

Resumen

En la zona de Urabá existen tres empresas de aspersión aérea, con planes de manejo químico diferentes contra la sigatoka negra, hay sectores de fincas que confluyen dos o más planes de manejo químico comercial del microorganismo. Con el objetivo de evaluar el posible efecto de la confluencia de programas de aspersión aérea sobre la emisión foliar de la planta de banano, se planteó la presente investigación. Se seleccionaron tres fincas, cada finca asperjada por una compañía diferente (C1, C2 y C3), donde se delimitó el área de confluencia y área de control. En cada finca, se seleccionaron 10 plantas en estado fenológico F10, 5 en el área de confluencia y 5 plantas en el interior de la finca (control), a las cuales se les evaluó, semanalmente, el número de hojas emitidas. No se encontró efecto de la confluencia de programas de aspersión aérea sobre la emisión foliar de la planta de banano en las semanas evaluadas.

2.4.1. Introducción

El crecimiento y producción del cultivo de banano depende del desarrollo progresivo de las hojas, las cuales deben mantenerse funcionales desde la emisión floral y durante el desarrollo de los frutos. En la fase reproductiva se culmina la producción de hojas, lo que significa que el desarrollo y llenado de los frutos depende, principalmente, de la actividad de las hojas funcionales presentes con la aparición de la inflorescencia (Belalcázar, Valencia, Arcila, & Cayón, 1995).

La tasa de emisión de hojas semanal es una variable sensible a cambios en las condiciones climáticas imperantes durante el desarrollo del cultivo de banano, viéndose principalmente afectado por las variaciones estacionales en la precipitación. La tasa de emisión foliar promedio anual en los principales cultivares utilizados en la producción de banano es de 0.8 hojas por semana (Sánchez & Mira, 2013). Sin embargo, bajo condiciones de estrés hídrico, esta se reduce a un ritmo entre 0.6 hojas a 0.4 hojas semanales (Martínez & Cayón, 2011), debido a que los tejidos en expansión son los primeros en ser afectados bajo esta condición (Turner, Fortescue, & Thomas, 2007).

El manejo de la Sigatoka Negra, causado por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, es catalogado como el rubro más alto en la producción de la fruta fresca, debido a la presencia del patógeno en todo el ciclo productivo del cultivo (Alcalá, Hernández, Iliná, Cisneros, & Castillo, 2017; Manzo, Orozco, & Guzmán, 2001). Debido a que las labores culturales no logran controlar el rápido avance de la enfermedad, además de lo dispendioso y riguroso de la actividad en grandes extensiones, se torna necesario el empleo de fungicidas químicos de acción sistémica y protectante (FRAC, 2021). Los ciclos de aplicación de fungicidas para el manejo de la enfermedad han ido aumentando con los años, debido a la pérdida de sensibilidad del patógeno a diferentes moléculas y reglamentaciones en los países de destino de la fruta que restringen el uso de determinados

compuestos empleados en su control (Regulation Commission Implementing, 2020; Marín, Romero, Guzmán, & Sutton, 2003)). Los fungicidas utilizados para el control de la Sigatoka Negra se aplican con aceite agrícola como producto adherente; sin embargo, debe tomarse en cuenta las dosis de aceite que se aplican, ya que pueden provocar fitotoxicidades (Soto, 2015).

En la zona de Urabá existen tres empresas de aspersión aérea, con planes de manejo químico diferentes cada una; hay sectores de fincas que confluyen dos o más planes de manejo químico comercial del microorganismo, es por esto que se desarrolló la presente investigación, con el objetivo de evaluar el posible efecto de la confluencia de programas de aspersión aérea sobre la emisión foliar de la planta de banano.

2.4.2. Materiales y métodos

Se seleccionaron tres fincas, cada finca asperjada por una compañía diferente (C1, C2 y C3), donde se delimitó el área de confluencia en este sector se seleccionaron los puntos de muestreo, uno al interior del área de confluencia y otro mas alejado al interior de la finca (control) (**Figura 1**).

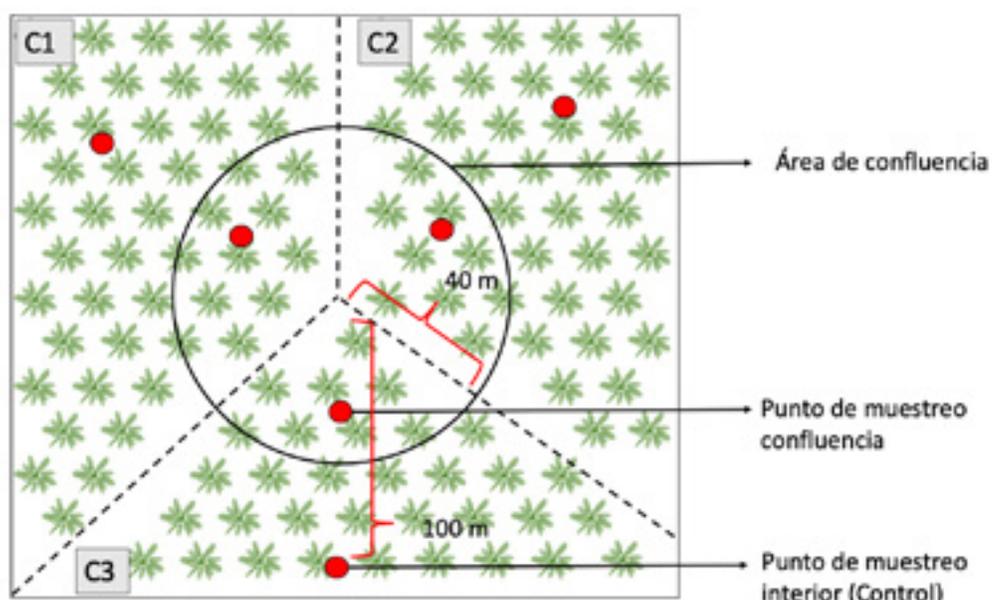


Figura 1. Distribución de puntos de muestreo.

Para la primera cohorte de evaluación de emisión foliar, en cada finca, se seleccionaron 10 plantas en estado fenológico F10, 5 en el área de confluencia y 5 plantas en el interior de la finca (control), a las cuales se les evaluó, semanalmente, el número de hojas emitidas. Los resultados fueron analizados como un diseño de bloques completos al azar en el software R-project.

2.4.3. Resultados y discusión

En la **figura 2** se observa la evolución de la emisión foliar en las tres fincas asperjadas por cada una de las compañías (C1, C2 y C3).

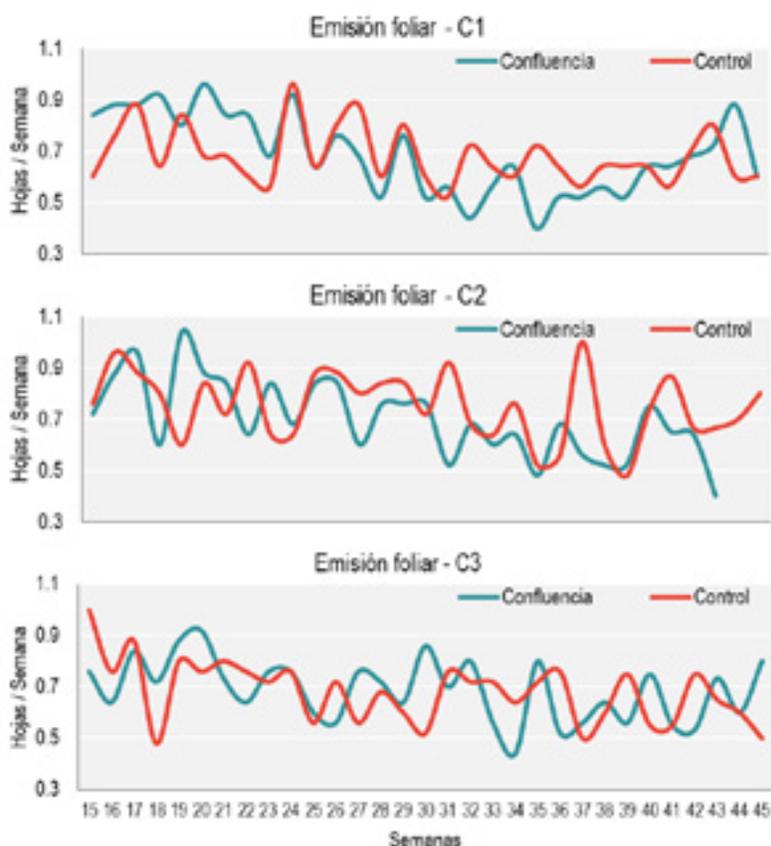


Figura 2. Evaluación de la emisión foliar en las áreas de confluencia y control de las tres fincas evaluadas.

No se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en la emisión foliar entre las áreas de confluencia y control, ni en la fase vegetativa (F10) ni en la fase reproductiva (Diferenciación). Si se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre fases fenológicas F10 y diferenciación (**Figura 3**); esto ya ha sido reportado por diferentes autores (Soto, 2015; Borja, Osorio, Herrera, & Sánchez, 2018); donde muestran que, en la etapa vegetativa, el ritmo de emisión foliar es mayor que en la etapa reproductiva. Esto es debido a que, en la etapa reproductiva, la planta de banano debe emitir las hojas que están dentro del pseudotallo, además, a la par desarrollar la bacota que va ascendiendo por el pseudotallo.

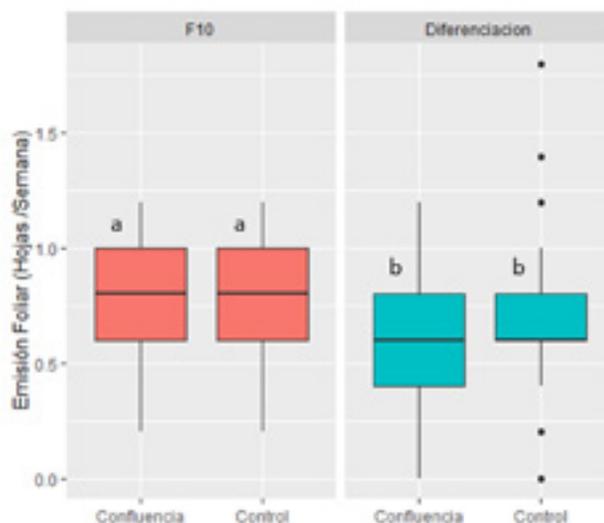


Figura 3. Boxplot de la emisión foliar, primera cohorte, en las fases fenológicas vegetativa (F10) y reproductiva (diferenciación)

En la **figura 4** se muestra en paralelo la emisión foliar de las tres fincas asperjadas por cada compañía, para la fase vegetativa (F10) y reproductiva (Diferenciación). No se encontraron diferencias significativas entre las fincas para la variable emisión foliar, ni en la etapa vegetativa (F10) ni reproductiva (diferenciación). Diversos autores han reportado que la emisión foliar es afectada mayormente por condiciones climáticas estresante, tal como un déficit hídrico que puede reducir el ritmo de emisión foliar a 0.4 hojas por semana (Robinson, 1996; Turner *et al.*, 2007; Sánchez y Mira, 2007).

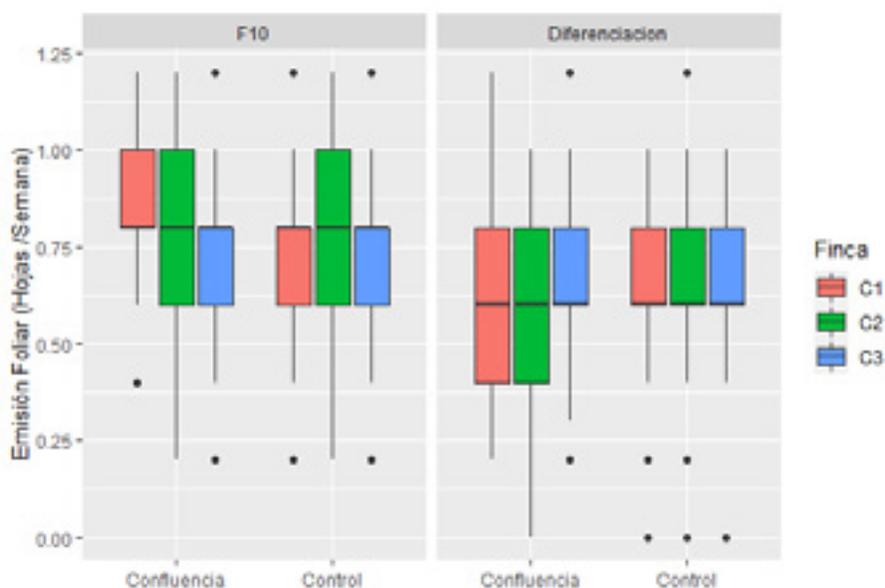


Figura 4. Boxplot de la emisión foliar, primera cohorte, en las fases fenológicas vegetativa (F10) y reproductiva (diferenciación) en las tres fincas evaluadas.

2.4.4. Conclusiones

No se encontró efecto de la confluencia de programas de aspersión aérea sobre la emisión foliar de la planta de banano en las semanas evaluadas; de igual manera se está en proceso de evaluación de una nueva cohorte donde se pretende hacer las mismas evaluaciones, pero en época seca.

2.4.5. Referencias bibliográficas

- Regulation Commission Implementing. (2020). COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2020/2087 of 14 December 2020. *Official Journal of the European Union*.
- Alcalá, E. I., Hernández, J. L., Iliná, A., Cisneros, L. G., & Castillo, F. D. (2017). Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10.
- Belalcázar, S., Valencia, J., Arcila, M., & Cayón, G. (1995). *Efecto de la defoliación selectiva durante la floración sobre el llenado de los frutos del clon dominico Hartón (Musa AAB Simmonds)*. Armenia: Mejoramiento de la producción de plátano. Segundo Informe Técnico 1984-1994. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA; Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA.
- Sánchez, J. D., & Mira, J. J. (2013). *Principios para la nutrición del cultivo de banano*. Medellín: AUGURA.
- Martínez, A. M., & Cayón, D. G. (2011). Dinámica del Crecimiento y Desarrollo del Banano (Musa AAA Simmonds cvs. Gran Enano y Valery). *Rev.Fac.Nal.Agr*, 10.
- Turner, D., Fortescue, J., & Thomas, D. (2007). Environmental physiology of the bananas (Musa spp.). *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22.
- Manzo, G., Orozco, M., & Guzmán, S. (2001). Caracterización Morfológica de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet de la Región Pacífico-Centro de México y su Desarrollo en Medios Líquidos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 5.
- FRAC. (2021). *Mode of Action Group. F*. Obtenido de FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE: <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-frac-mode-of-action-group>
- Marín, Romero, Guzmán, & Sutton. (2003). (). Black Sigatoka: An Increasing Threat to Banana Cultivation. *Plant Disease*, 87(3), 208–222. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.208>, 14.
- Soto, M. (2015). *Bananos II: Tecnologías de producción*. ISBN 978-9977-66-324-1. 706 pp. . Cartago, Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica. .
- Borja, Osorio, Herrera, & Sánchez. (2018). *Fundamentos En Fenología De Banano Cavendish (Musa AAA) En Cultivo Establecido*. . Carepa: Boletín n° 1. AUGURA. ISSN: 0121-4659.



Suelos y Agricultura de Precisión

3. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN SUELOS Y AGRICULTURA DE PRECISIÓN

3.1. SERVICIOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS DE SALUD DEL SUELO - CENIBANANO

Autores: *María Luisa Anaya Gómez, Laura Delgado Bejarano, Jackson Danilo Osorio Cardona y Juan José Pérez Zapata.*

Resumen

La calidad del suelo es uno de los factores críticos para la productividad del cultivo de banano, este parámetro suele medirse con diversos indicadores como lo son el pH, disponibilidad de nutrientes, resistencia a la penetración, porosidad, textura, entre otros. Es por esto, que desde el área de suelos y agricultura de precisión se realiza el servicio integrado de suelos y evaluación de perfil edáfico, en miras de evaluar la variabilidad espacial de algunos de estos parámetros, hacer recomendaciones de manejo específicas y determinar las aptitudes y limitaciones del suelo. En el año 2021 se evaluaron 39 fincas en donde se determinó que la resistencia a la penetración aumenta de forma general con la profundidad, el pH se ve fuertemente influenciado por la actividad antrópica y existe una alta presencia de texturas adecuadas para el cultivo de banano en la zona. Además, se realizó seguimiento de las decisiones de manejo realizadas en las fincas con base en las recomendaciones técnicas realizadas desde el servicio, obteniendo casos de éxito en los que se evidencia mejoras en las propiedades del suelo.

Palabras clave: Acidez, textura, compactación y descripción de perfiles edáficos.

3.1.1. Introducción

En la actualidad el reto es incrementar la producción de alimentos mediante la disminución de los recursos, tales como el agua, el suelo e insumos agrícolas. Esto con el fin de implementar un sistema de agricultura sostenible, eficiente y productivo; es por esta razón que ha tomado fuerza el concepto de agricultura de precisión, la cual busca realizar los procesos de forma diferenciada y por sitio, según las necesidades específicas del cultivo, minimizando las pérdidas, incrementando la productividad y disminuyendo costos. Esto se realiza mediante la recolección de datos e información para un posterior procesamiento y análisis que le permitirá a los agricultores reconocer la variabilidad espacial y temporal de los diferentes parámetros del cultivo y su entorno, facilitando de esta forma la realización de actividades de manejo diferenciadas (Shafi et al., 2019; Cisternas et al., 2020). Con base en lo anterior, desde CENIBANANO seguimos comprometidos con los servicios con el objetivo de realizar diagnósticos y monitoreo de la salud y aptitud de suelos mediante la evaluación de variables como pH, textura y resistencia a la penetración con miras a una mayor productividad y competitividad del sector bananero en Colombia.

Así mismo, se busca realizar un acompañamiento a los productores realizando un seguimiento de las decisiones de manejo tomadas por la finca con base en los resultados presentados en los servicios y en los casos que el productor lo requiera, se brinda apoyo técnico en la toma de decisiones.

Finalmente, desde la calidad del suelo, entendiendo este concepto como la capacidad del mismo para funcionar con el ecosistema en función de la productividad, eficiencia y calidad ambiental (Bünemann et al., 2018) se efectúa la evaluación de los perfiles edáficos, proceso realizado desde la observación, calificación y cuantificación de las diferentes propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, determinando de esta manera la variabilidad espacial de las mismas, definiendo las aptitudes y limitaciones del suelo y permitiendo brindar recomendaciones de uso y manejo racional del recurso (Jaramillo, 2014; Muñoz, 2018).

2. Materiales y métodos

1. Servicio Integrado de Suelos. CENIBANANO, dando continuidad a los servicios de diagnóstico de salud y calidad del suelo solicita al productor el formato de servicio diligenciado, la cartografía base actualizada y en caso de requerir recomendaciones específicas, datos de productividad por lote. Con dicha información se radica la solicitud y se procede a realizar el servicio, en este se comienza con un muestreo en campo a partir de una malla de tres (3) puntos por hectárea. Una vez se localiza el punto de muestreo en campo, se toman aproximadamente 500 g de suelo de una cajuela de 20 cm x 20 cm x 30 cm, verificando que el lugar esté libre de enmiendas, fertilizantes u otras aplicaciones, es importante resaltar que dicha cajuela es realizada a 50 cm de distancia del hijo de sucesión de la unidad productiva. Posteriormente mediante un penetrológico digital marca *Eijkelkamp* se lleva a cabo la medición de resistencia a la penetración. A las muestras se les efectúa un proceso de secado en el invernadero de CENIBANANO durante aproximadamente 10 días y cuando están secas se procesan en una licuadora, se ciernen por un tamiz de malla de 2 mm y se trasladan al laboratorio para su posterior análisis. En el laboratorio de CENIBANANO se determina el pH a través de un potenciómetro con una relación 1:1 (V:V) (SSL, 1996). El análisis de textura se realiza mediante el método del hidrómetro (Bouyoucos) como lo menciona Jaramillo (2014). Finalmente, con los datos capturados con el penetrológico, se realizó el diagnóstico de la resistencia a la penetración del suelo.

Con base en los resultados de laboratorio y de campo anteriormente mencionados, se realizó una base de datos para cada finca y mediante el software *QGIS* se realizaron las interpolaciones correspondientes a cada una de las variables evaluadas, posteriormente se reclasificaron y se analizaron en función de su aptitud para el cultivo de banano, asignando colores verdes, amarillos y rojos, los cuales hacen referencias a condiciones adecuadas, regulares y malas, respectivamente (CENIBANANO, 2020). Para finalizar, la información obtenida se lleva al software *ArcGIS*, en donde se diseñan los mapas finales de variabilidad espacial y manejo de cada uno de los parámetros; con esta información se procede a elaborar el informe final. En la **figura 1** se ilustran las categorías de

acidez del suelo, las cuales están en función del desarrollo de cultivo y disponibilidad de nutrientes en el suelo.

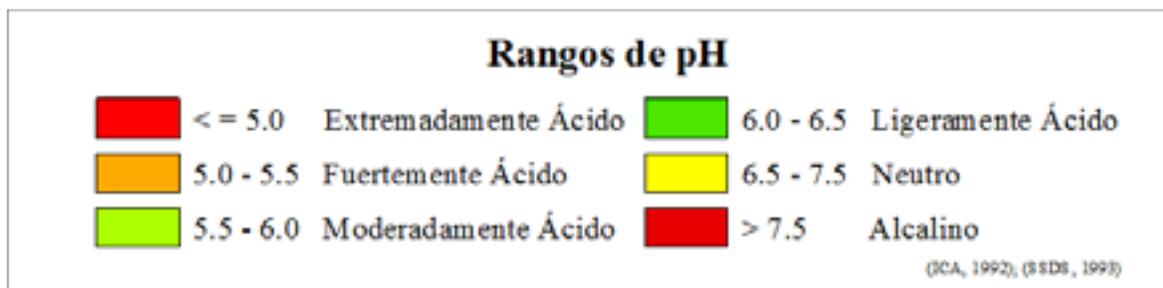


Figura 1. Rangos y categorías de los valores de pH.

De igual forma, en la **figura 2**, se presenta la clasificación de las 12 clases texturales establecidas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), de acuerdo a su aptitud para el cultivo de banano.

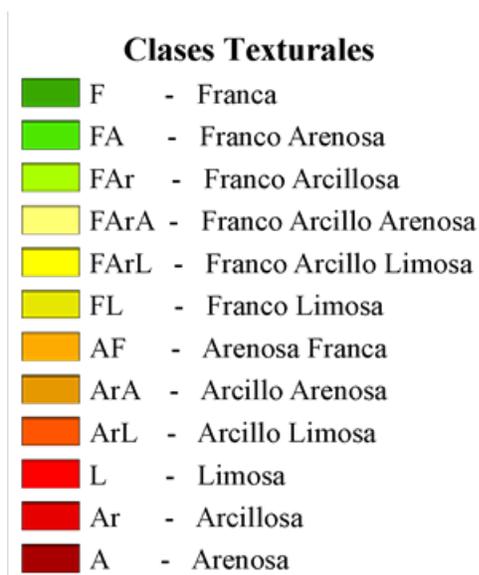


Figura 2. Clases texturales, según la clasificación USDA

Finalmente, en función del desarrollo radicular del cultivo de banano y la porosidad del suelo se muestra la clasificación de la resistencia a la penetración (**Figura 3**).

Rangos de Resistencia a la Penetración (MPa)

	<= 1.0	Muy Friable
	1.0 - 1.2	Friable
	1.2 - 1.5	Moderadamente Firme
	1.5 - 2.0	Firme
	2.0 - 2.5	Firme
	2.5 - 3.0	Firme
	> 3.0	Firme

Figura 3. Rangos y categorías de resistencia a la penetración.

La **figura 3** ilustra una nueva clasificación, planteada debido a que, en las fincas del Magdalena y algunas fincas evaluadas en la zona de Urabá, se presentan valores más altos de resistencia a la penetración, generando limitaciones más críticas en el cultivo.

2.Seguimiento. Desde el área de suelos y agricultura de precisión se realiza el seguimiento de las variables pH y resistencia a la penetración a las fincas productoras que requieran determinar el impacto de las decisiones de manejo tomadas a partir de los resultados y recomendaciones técnicas del servicio integrado de suelos, para esto se realizan muestreo en campo, mediciones de pH y análisis edáficos. A su vez se le solicita al productor los planes de fertilización y manejo de suelos, con el fin de brindar apoyo y mitigar las condiciones críticas para el cultivo de banano.

3.Plan piloto servicio integrado de suelos-Magdalena. Con el fin de incentivar al productor del Magdalena a conocer la variabilidad espacial de las diferentes variables y darle manejo específico por sitio, se llevó a cabo un plan piloto de evaluación de resistencia a la penetración en fincas de la zona bananera del Magdalena, en donde se realizó el mismo procedimiento de muestreo y análisis que se presta para la variable en el servicio integrado de suelos.

4.Evaluación de perfiles edáficos. Para la realización del servicio de evaluación y análisis de los perfiles edáficos, al igual que para el servicio integrado, el productor debe diligenciar la solicitud de servicio, suministrar la cartografía base del predio y enviar datos de productividad; con el equipo técnico de la finca en cuestión se determina, las necesidades del productor, el nivel de detalle del estudio, la cantidad y ubicación de los puntos de muestreo. Posteriormente se realiza el muestreo en campo mediante barrenadas, minicalcatas y calcatas de 1.50 m de profundidad. En esta última, se efectúa una descripción general, se toman registros de coordenadas, altitud, clima ambiental y edáfico, tipo de relieve, geomorfología, precipitación y temperatura promedio anual, erosión, pedregosidad, niveles freáticos del predio. Una vez realizado dicho análisis, se procede con el estudio y descripción detallado del perfil de suelo, identificando cada uno de los horizontes

y/o capas a los que se les examinan las diferentes propiedades físicas (estructura, densidad aparente, porosidad, textura, entre otras), químicas (pH) y biológicas (presencia de organismos). Posteriormente, se ejecuta la caracterización de cada horizonte y/o capa y se clasifica mediante las claves taxonómicas del USDA. Con esta información se lleva a cabo la clasificación de la aptitud del suelo para el cultivo de banano (**Figura 4**) y se realiza el informe y recomendaciones correspondientes.

Clase I	Solo requieren practicas simples	
Clase II	Con mayor restricción en drenaje	
Clase III	Con restricciones considerables (marginal)	
Clase IV	Grandes restricciones para siembra de banano (No aptas)	

Figura 4. Clasificación de aptitud de suelo para el cultivo de banano.

3. Resultados y discusión

3.1. Servicio Integrado de Suelos.

Durante el año 2021, en la región de Urabá, se ejecutó el servicio integrado de suelos en 39 predios, para un acumulado total de 81 servicios realizados a lo largo de los últimos dos años, entregando un total de 405 mapas de variabilidad espacial de pH, textura y resistencia a la penetración y 324 mapas de zonas manejo para resistencia a la penetración y pH, para un total de 729 mapas.

El pH es una de las variables más importante en la química del suelo debido al efecto que tienen en diferentes aspectos, tales como mineralización de la materia orgánica causado a su vez debido al efecto directo que presenta sobre la población microbiana, solubilidad de algunos nutrientes, entre otros. Además del impacto generado sobre las plantas en términos de desarrollo radicular, absorción de nutrientes y productividad, es por esto que suele usarse el pH como un indicador de la calidad del suelo (Neina, 2019; Jaramillo, 2014). En la **figura 5** se presenta el mapa de variabilidad espacial de las fincas muestreadas.

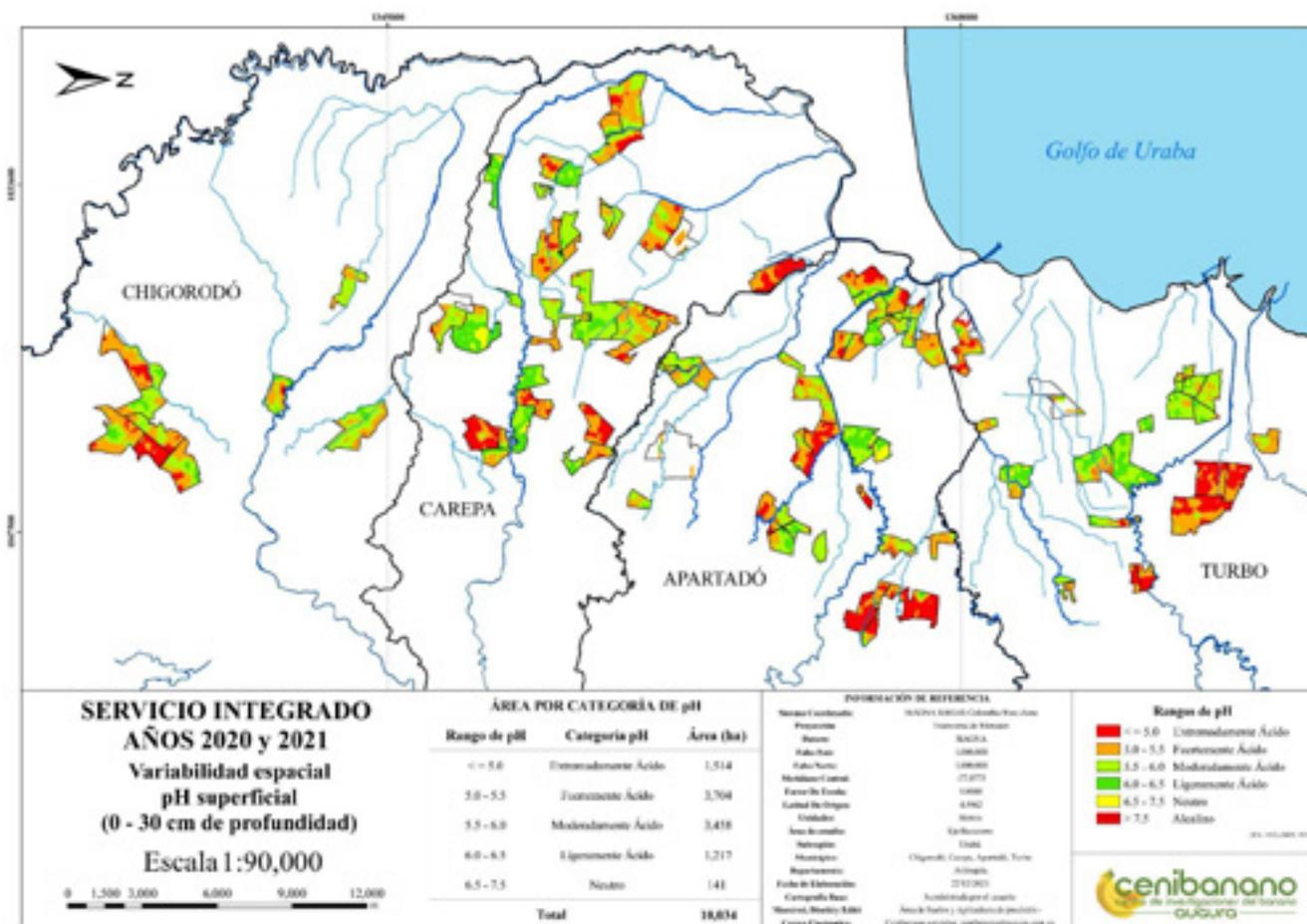


Figura 5. Mapa de distribución de acidez de las fincas muestreadas, año 2020 y 2021.

Como se puede visualizar en la **figura 5**, el 53.7 % del área muestreada representa condiciones de pH limitantes para el desarrollo del cultivo de banano, representadas por las categorías extremadamente ácido (≤ 5.0), fuertemente ácido (5.0 - 5.5) y neutro (6.5 - 7.5). Donde los procesos de acidificación de suelos suelen generarse por razones naturales o por procesos antropogénicos tales como malas prácticas de fertilización con productos nitrogenados (amoniacaes) comúnmente aplicados en el cultivo de banano (Bojórquez et al., 2017; Li et al., 2021; Zhang et al., 2019; Gauggel et al., 2005). Condiciones de pH bajos en el suelo hacen referencia a la presencia de aluminio intercambiable, causando toxicidad, daños en el sistema radicular de las plantas y reducción en la absorción de nutrientes tales como el calcio (Ca), magnesio (Mg), el potasio (K), entre otros (Osorio, 2014). Para el caso de los suelos con pH neutro se resaltan los problemas de absorción de nutrientes como el zinc (Zn), el manganeso (Mn) y el hierro (Fe) afectando el desarrollo y formación de fruta.

Adicionalmente, la textura del suelo tiene gran importancia en el desarrollo de los diferentes cultivos debido a la influencia sobre otras propiedades del suelo, tales como porosidad, infiltración, retención de humedad, susceptibilidad a la erosión, entre otras. Por esta razón se presenta el mapa de variabilidad espacial de textura en la **figura 6**.

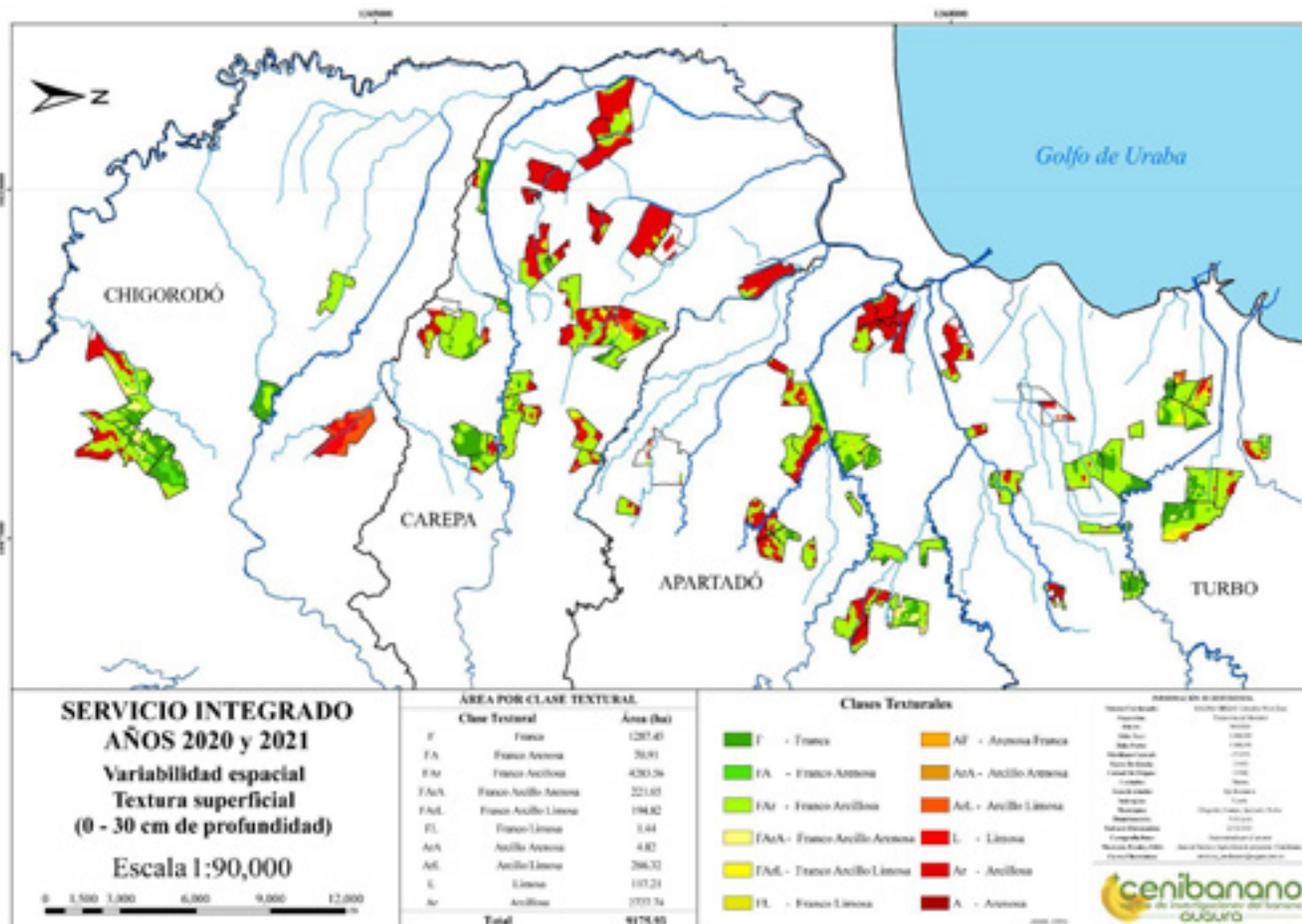


Figura 6. Mapa de variabilidad espacial de la textura superficial de las fincas muestreadas, año 2020 y 2021.

De las 9,175.93 ha muestreadas en textura, el 46.7% presenta una textura franco arcillosa (FAR), la cual debido a su composición física y granulométrica indica una buena aireación e infiltración del agua en el suelo, siendo una textura adecuada para la agricultura del cultivo de banano. Por otro lado, los suelos del 29.7 % del área muestreada presentan una textura arcillosa, en donde existen condiciones limitantes debido a la cohesividad entre sus partículas, causando bajas tasas de infiltración, mayor retención de humedad y un incremento de los niveles freáticos, situación que finalmente se traduce en alto deterioro de las raíces del cultivo.

Otro punto a resaltar es el efecto de la compactación en términos de productividad y calidad del suelo, ya que esta condición afecta diversas propiedades del mismo, tales como estructura, porosidad, infiltración, permeabilidad, entre otras; generando limitaciones en el desarrollo de raíces de las plantas y la disminución del movimiento de agua y nutrientes en el suelo (Columbi & Keller, 2019). Es por esto que se evaluó la resistencia a la penetración en tres estratos (0 - 30 cm, 30 - 60 cm y 60 - 80 cm) como indicador de la compactación existente en los diferentes predios. Sin embargo, es necesario tener en cuenta otros parámetros como la textura y la densidad

aparente del suelo (Vaquero, 2005). En la **figura 7** se presenta el mapa de variabilidad espacial de resistencia a la penetración en el estrato superficial.

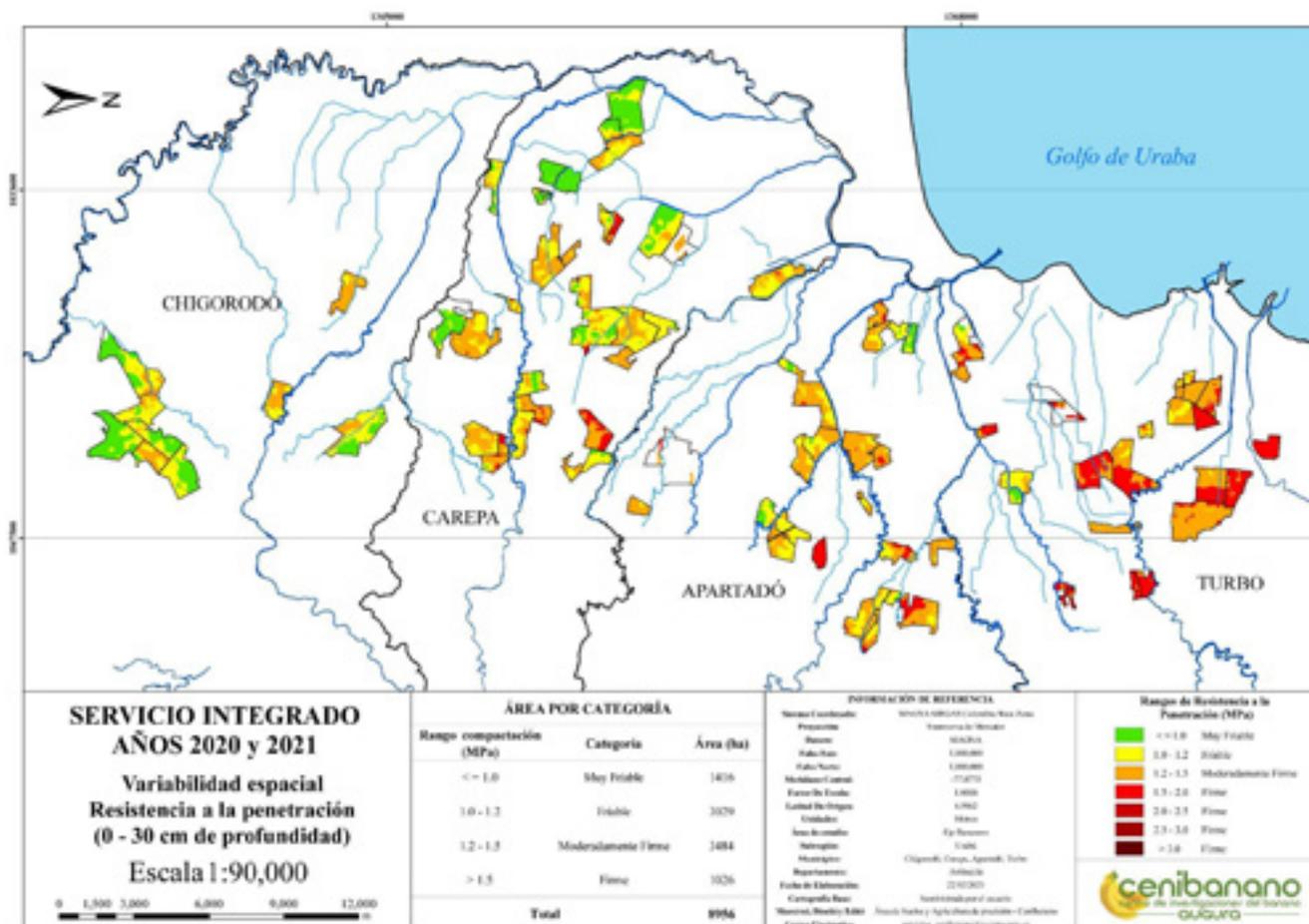


Figura 7. Mapa de variabilidad espacial de resistencia a la penetración 0-30 cm de profundidad

En el estrato superficial del suelo de las fincas evaluadas, se encontró que predominan los suelos moderadamente firmes (39.0 %), condición en la que se presentan limitantes para el óptimo desarrollo del cultivo. En el 33.8 % del área muestreada se presentan suelos friables, los cuales son aceptables para el crecimiento de las plantas.

En la **figura 8** se presenta el mapa de variabilidad de resistencia a la penetración de 30 a 60 cm de profundidad.

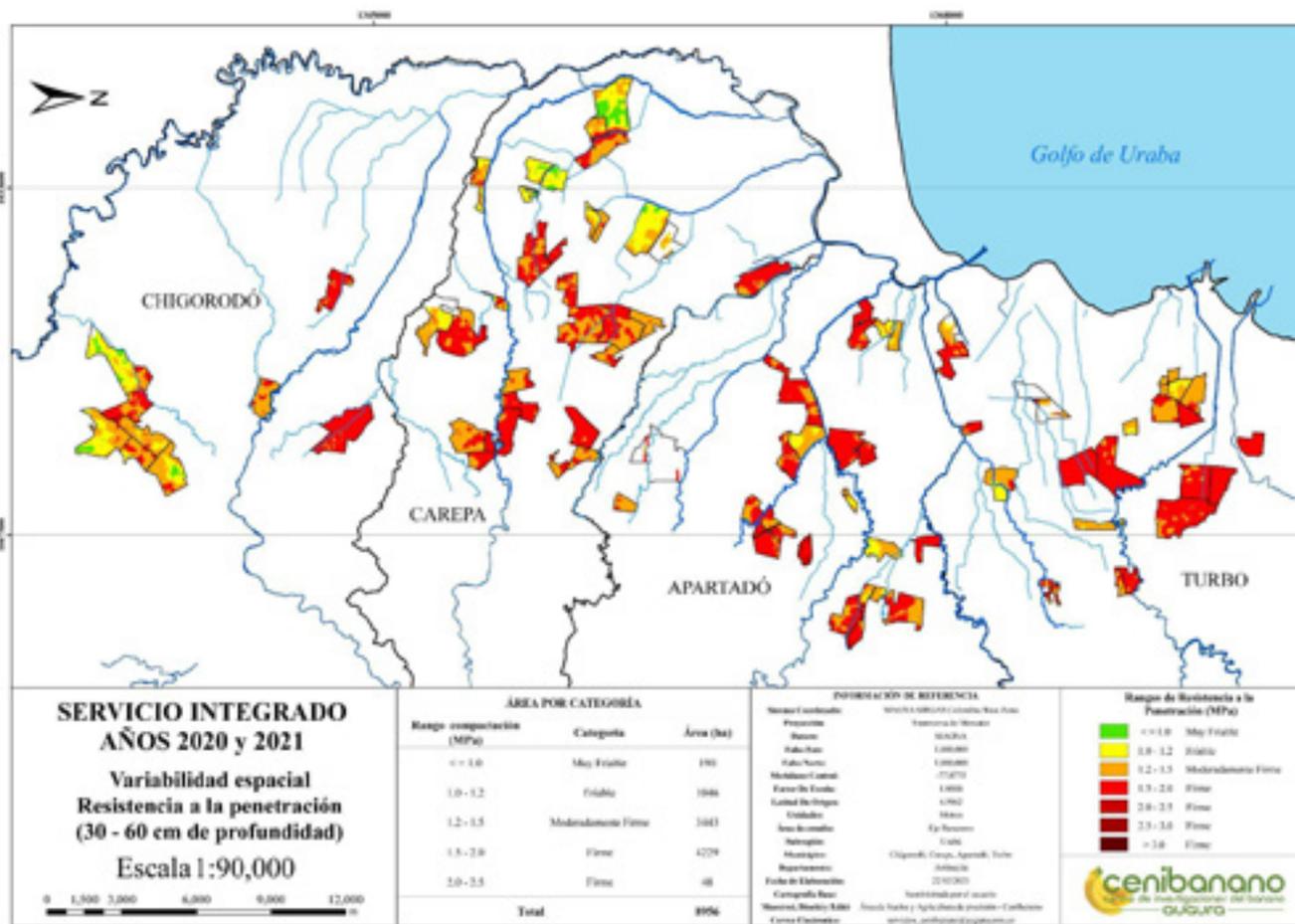


Figura 8. Mapa variabilidad espacial de resistencia a la penetración en el estrato de 30 a 60 cm de profundidad.

En contraste con el estrato superficial, la resistencia a la penetración de 30-60 cm en el 47.2 % del área evaluada fue Firme (1.5 - 2.0 MPa), estos suelos presentan un nivel de porosidad reducido; el 38.4 % son suelos moderadamente firmes (1.2 - 1.5 MPa). Estos valores llevan a generar limitaciones en el desarrollo radicular del cultivo de banano, disminuyendo las tasas de crecimiento y la profundidad que pueden llegar a alcanzar y por consiguiente afectando la productividad.

El mapa de variabilidad espacial del último estrato evaluado (60 - 80 cm) se puede visualizar en la **figura 9.**

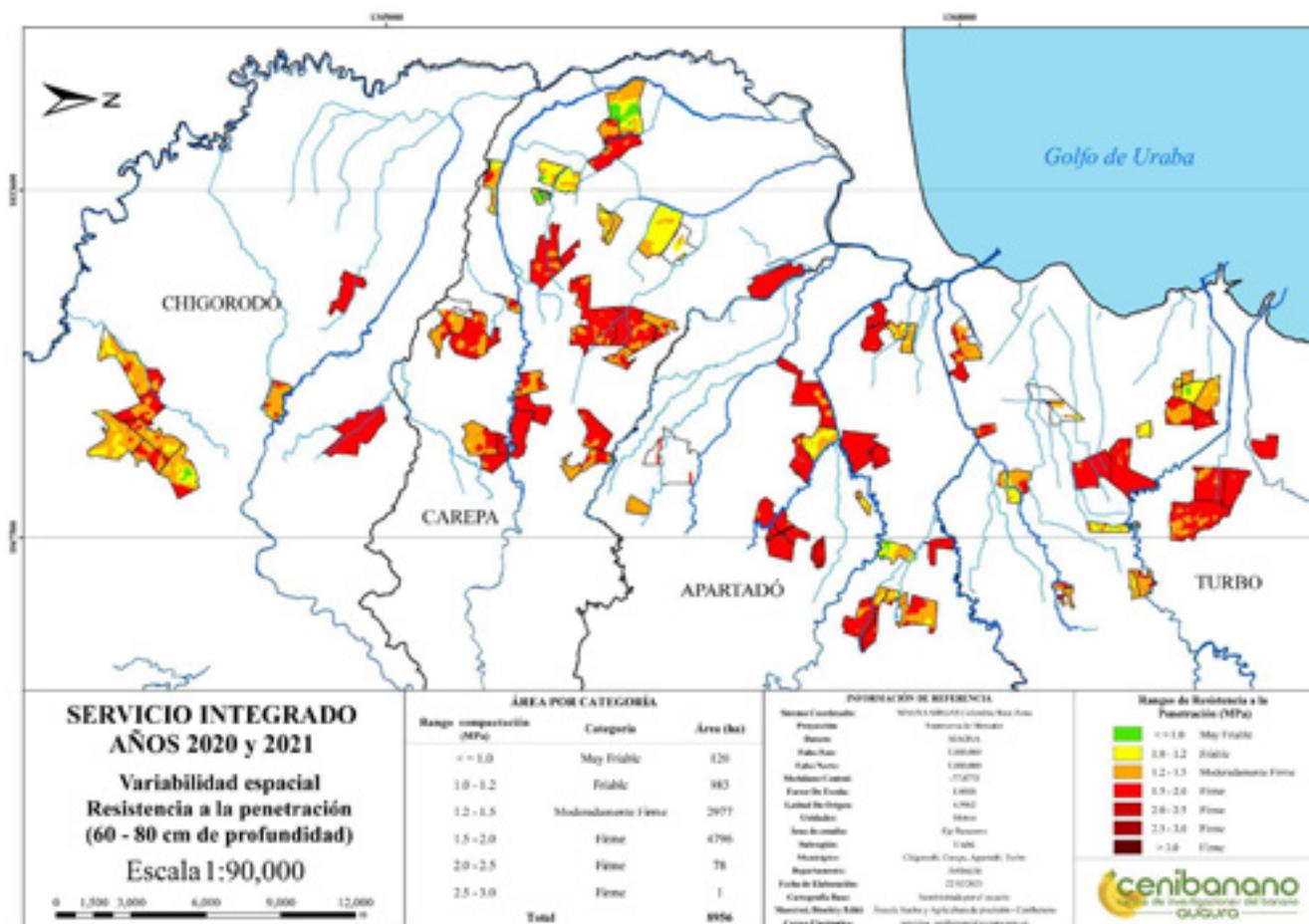


Figura 9. Mapa de variabilidad espacial de resistencia a la penetración de 60-80 cm de profundidad.

De forma similar al estrato de 30 - 60 cm, la resistencia a la penetración en el estrato más profundo fue en la mayoría del área muestreada clasificada como Firme (1.5 - 2.0 MPa) abarcando un 53.6 %. Con base en lo anterior, es importante resaltar que la resistencia a la penetración tiende a aumentar con la profundidad del perfil del suelo, por lo que en estos estratos las raíces del cultivo de banano pueden presentar mayores dificultades para movilizarse y desarrollarse, en consecuencia, disminuyen los valores de densidad de raíces (Vaquero, 2005).

Es por esta razón que se recomienda la implementación de labores para la aireación del suelo, mediante el uso de herramientas manuales (hércules), máquinas mini retroexcavadoras, aplicación e incorporación de materia orgánica y compostaje, además de la siembra y manejo de coberturas.

Analizar el comportamiento de las variables evaluadas en el servicio integrado en conjunto con los manejos realizados y los datos de productividad y rendimiento de la finca, permiten tener un conocimiento más integral del agroecosistema, de sus componentes e interacciones, lo que conlleva a tener bases sólidas para tomar adecuadas y oportunas decisiones agronómicas.

3.2. Proyecto Uso eficiente del agua de riego - Convenio derivado C-046 CIAT - AUGURA.

Desde el área de Suelos y agricultura de precisión de CENIBANANO, se brindó apoyo al proyecto "Uso eficiente del agua de riego" del convenio derivado C-046 CIAT - Augura. En donde se realizó el servicio integrado en 10 fincas de la zona de Urabá y 3 fincas de la zona bananera de Magdalena. En la **tabla 1** se ilustran las áreas muestreadas.

Tabla 1. Área y número de fincas muestreadas

Zona	Número de fincas	Área muestreada (ha)
Urabá	10	1891.65
Magdalena	3	270.98
Total	13	2162.63

El área correspondiente a Urabá se presentó en los mapas de variabilidad espacial presentados anteriormente.

3.3. Seguimiento. Con miras a incrementar la productividad del sector bananero en Colombia, desde el área de suelos y agricultura de precisión se está realizando seguimiento y acompañamiento al productor, evaluando parámetros como pH y resistencia a la penetración después de la realización de las recomendaciones técnicas del servicio integrado de suelo, esto con el fin de determinar el impacto de las recomendaciones en las variables del suelo, el efecto en la productividad del cultivo y apoyar desde un concepto técnico en la toma de decisiones.

A modo de ejemplo, en la **figura 10** se muestra la evolución del pH en tres lotes de una finca de la zona de Urabá, los cuales presentaban niveles de acidez extremadamente ácidos y recibieron un manejo diferenciado tanto en dosis como en la fuente de enmienda.

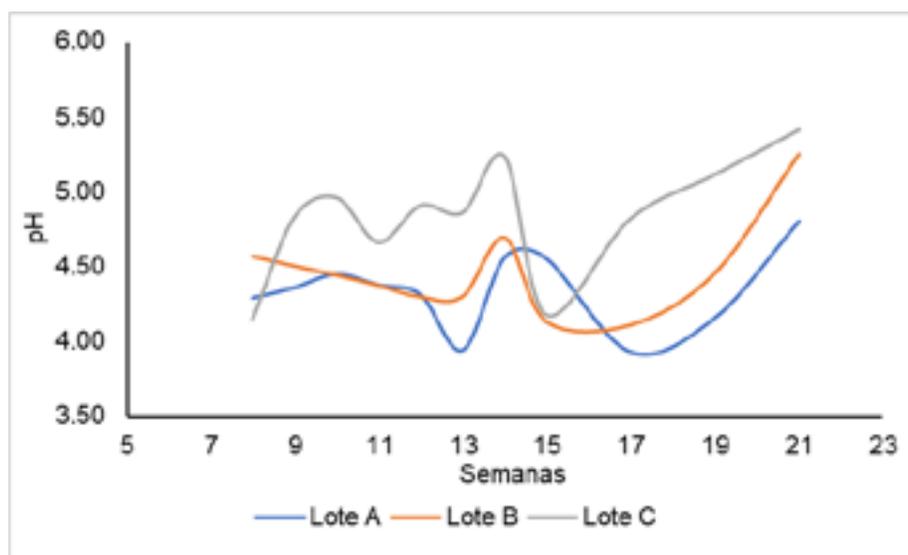


Figura 10. Evolución del pH del suelo en tres lotes de una finca bananera

De la **figura 10** se puede observar que los lotes inicialmente presentaron una condición de pH extremadamente ácida, por lo que se realizó un proceso de aplicación de enmiendas, si bien se evidencian fluctuaciones en los valores de pH registrados durante el seguimiento, se puede determinar que para el lote C la dosis y producto aplicados presentaron un mayor efecto en la corrección de la acidez del suelo, con una variación de 1.26. Si bien las condiciones siguen siendo críticas para el cultivo de banano (pH moderadamente ácido), se puede evidenciar un aumento en el pH debido a las decisiones de manejo tomadas en campo y la importancia de realizar los procesos de manera diferenciada, ya que como se visualiza en la **figura 10**, los lotes no presentan valores de pH iguales, lo que indica que las dosis necesarias para el manejo deben de variar en función de dichos resultados.

3.4. Plan piloto Servicio integrado de suelos - Magdalena. Dado que las condiciones climáticas del Magdalena son contrastantes con las que se presentan en la zona de Urabá, es normal encontrar niveles de producción diferentes, para el caso del Magdalena se ha observado un aumento en el número de cajas exportadas pasando de 2,155 cajas/ha en el año 2019 a 2,299 cajas/ha en el año 2020 (AUGURA, 2020). Esta es una de las razones por las que CENIBANANO busca reforzar e incrementar la investigación para dicha zona, apuntando a la articulación con las instituciones presentes en la región. En este marco, se implementó un plan piloto en el que se evaluó la resistencia a la penetración como medida indirecta de la compactación del suelo, buscando que el productor del Magdalena se familiarice con la metodología, entienda su importancia y algunas ventajas como la visualización del comportamiento espacial de la variable estudiada, permitiéndole tomar decisiones de manejo diferenciadas. En la **figura 11** se observan los valores de resistencia a la penetración obtenidos en una de las fincas evaluadas.

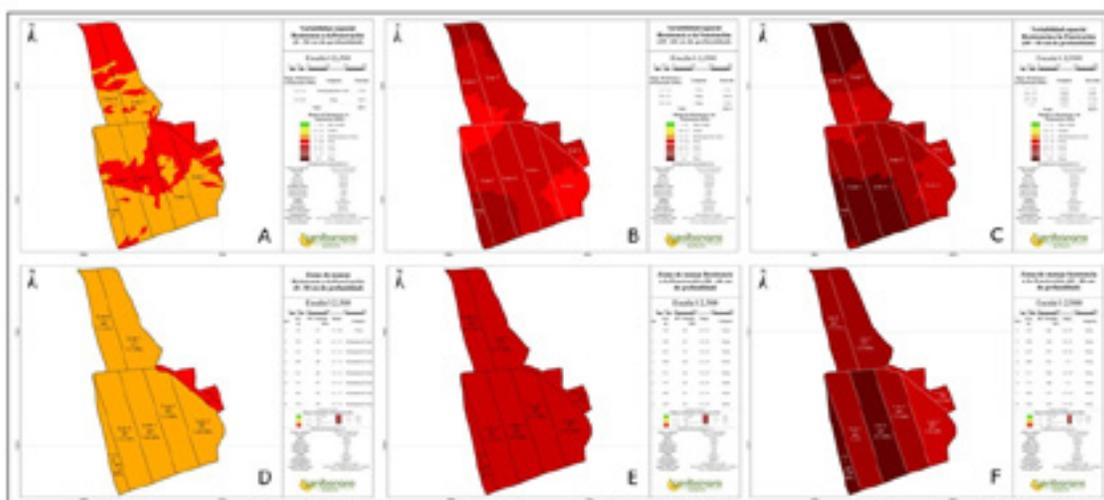


Figura 11. Mapas de variabilidad espacial de la resistencia a la penetración a diferentes profundidades: **(A)** 0-30 cm; **(B)** 30-60 cm; **(C)** 60-80 cm. Mapas de zonas de manejo de resistencia a la penetración a diferentes profundidades: **(D)** 0-30 cm; **(E)** 30-60 cm; **(F)** 60-80 cm.

De forma general, se encontraron valores de resistencia a la penetración mayores a los encontrados en los estudios de la zona de Urabá, en esta última se consideraba valores críticos aquellos que superan 1.5 MPa y los máximos eran del orden de 2.0 MPa, mientras que como se visualiza en la **figura 11**, para la zona bananera del Magdalena, existen predios con resistencia a la penetración que superan los 3.0 MPa, siendo condiciones totalmente limitantes para el desarrollo

radicular del cultivo (Jaramillo, 2014), estos valores tan críticos se deben a la posible acumulación de sales en el suelo, producto de la calidad del agua de riego de las fincas de la zona. Adicionalmente, se hallaron barreras impenetrables, dando indicios de altos niveles de compactación.

Para poder implementar los servicios de salud del suelo en el departamento del Magdalena, se requiere de un protocolo de bioseguridad riguroso y claro, en el que se especifique los procesos de toma de muestras, movilización, manipulación y disposición final del suelo. En este sentido y con el fin de movilizar lo menos posible las muestras, Augura y Cenibanano, realizaron un convenio con el Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), para el uso e implementación de instalaciones (laboratorio) en las que se pueda realizar los diferentes procesos de evaluación de dichos parámetros y a futuro implementar nuevos procesos como la valoración de la calidad del agua de riego.

3.5. Evaluación de perfiles edáficos. El servicio de evaluación de perfiles edáficos fue realizado de manera parcial en una finca de la zona bananera de Urabá, en donde se encontraron suelos con un epipedón ócrico sobre un endopedón cámbico, el cual se denomina un endopedón de transformación debido a la alteración de 15 cm o más del material original del suelo (Jaramillo, 2014), para el caso específico esta perturbación se da debido al manejo y actividades propias de la agricultura del banano. En el predio predomina una secuencia de horizontes Bg, los cuales suelen ser horizontes subsuperficiales. Sin embargo, en la finca evaluada se encuentran expuestos, indicando procesos erosivos en el suelo, adicionalmente son perfiles con procesos de gleización, situación causada por drenajes internos lentos, niveles freáticos elevados y condiciones de saturación del suelo constantes, producto de un sistema de drenaje deficiente; también en menor proporción se presentaron horizontes tipo Ap, los cuales son horizontes minerales con materia orgánica mezclada con la fracción mineral, resultante de la disturbación antrópica. En términos de la estructura del suelo, se encontró que esta es blocosa con consistencias variables desde friables a firmes; la textura predominante en el predio fue arcillosa (Ar) y arcillo limosa (ArL), texturas que presentan bajas velocidades de infiltración, restringiendo el flujo de agua y causando el incremento de los niveles freáticos, generando los procesos de gleización anteriormente mencionados. En la **figura 12**, se ilustran dos perfiles representativos de la finca.

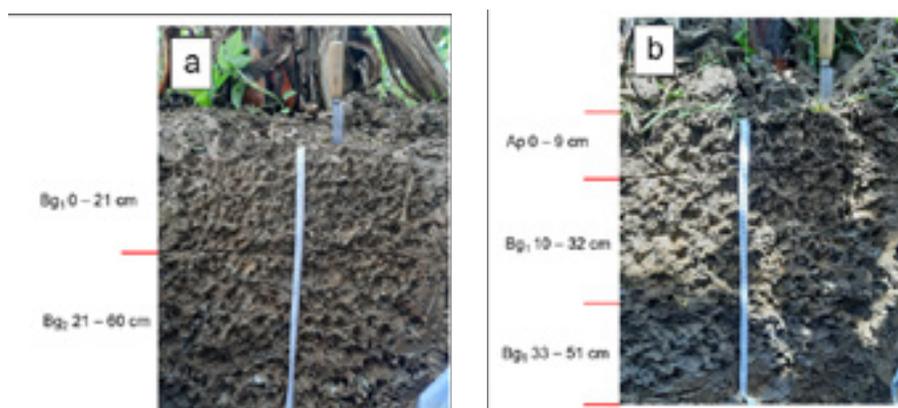


Figura 12. Perfiles representativos de la finca A. (a) Horizonte erosionado con procesos fuertes de gleización; (b) Perfil con horizonte A con disturbación antrópica y procesos de gleización

En los perfiles se encontró presencia baja de macro-organismos, en donde los predominantes fueron hormigas, las cuales se han usado como indicadores de calidad de suelo. Adicionalmente, los valores de resistencia a la penetración fueron mayores en los horizontes superficiales y disminuyeron con la profundidad, lo cual se explica desde el sellamiento del suelo por el tráfico de personal y maquinaria al momento de realizar las labores del cultivo, generando una disminución de la cantidad de poros presentes.

Los horizontes superficiales y subsuperficiales de los perfiles edáficos presentaron color pardo, pardo amarillento y tonalidades grises (gley), colores que dan indicios de contenidos bajos de materia orgánica y condiciones de mal drenaje respectivamente. Adicionalmente se presentaron moteos en tonalidades rojas/naranjas indicando la presencia de óxidos de hierro y manganeso

En la **figura 13** se presenta el mapa preliminar de las unidades cartográficas de suelo resultantes del muestreo realizado en la finca A.

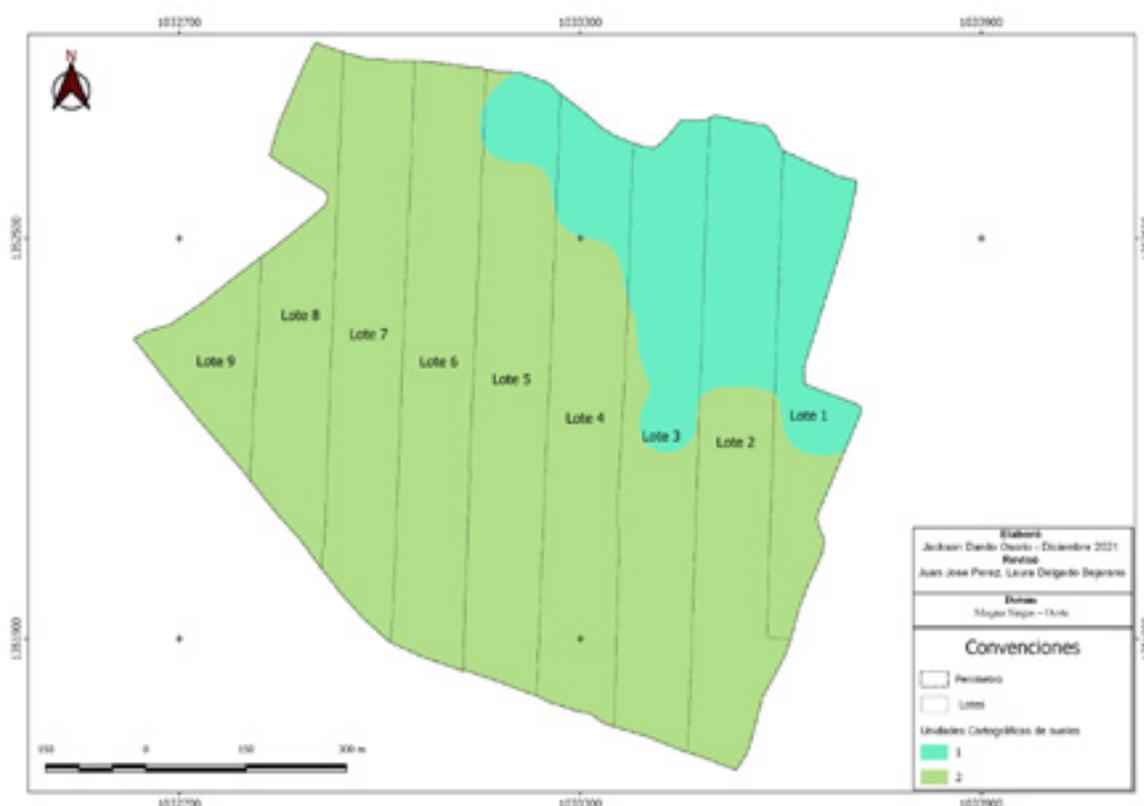


Figura 13. Mapa parcial finca A de las unidades cartográficas de suelo.

Considerando que el estudio se encuentra en desarrollo, se presenta la **figura 13**, donde mediante las barrenadas de comprobación se pueden determinar dos unidades cartográficas de suelo que deben de clasificarse. Sin embargo, esto permite determinar que existen dos zonas de manejo para la realización de labores en campo, permitiendo delimitar de una forma más precisa las decisiones que se toman en la finca.

4. Conclusiones

Durante la evaluación de los indicadores de salud y calidad del suelo, se determinó que el pH no presenta una tendencia específica en la distribución espacial, lo cual indica que este parámetro se ve influenciado directamente por las decisiones de manejo tomada en las plantaciones, tales como la aplicación de fertilizantes amoniacales, ocasionando una acidificación del suelo, situación que se presentó en la mayor parte de la zona evaluada. A su vez, se detectó una tendencia de aumento de la resistencia a la penetración a lo largo del perfil del suelo, esto se da debido a un incremento en la compresión en el horizonte superficial debido al tránsito de personal y maquinaria al momento de realizar labores típicas del cultivo de banano y las condiciones de humedad del suelo en la zona, situaciones que en conjunto generan la disminución de porosidad del suelo hasta estratos más profundos. Esto unido a la generación de un pie de arado por un proceso de labranza realizado a la misma profundidad, por esta razón es de suma importancia efectuar el subsolado a diferentes profundidades, con el fin de descompactar el suelo y evitar estos procesos de sellamiento. Adicionalmente, se encontró que hacer un seguimiento a las decisiones de manejo tomadas en campo por los productores permite dimensionar el impacto y alcance de las recomendaciones técnicas realizadas, en donde se hallaron casos de éxito al presentar mejoras en las propiedades del suelo.

5. Referencias bibliográficas

- Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA). (2020). Coyuntura bananera 2020. AUGURA. Recuperado de: <https://augura.com.co/wp-content/uploads/2021/06/Coyuntura-Bananera-2020.pdf>
- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., de Goede, R., ... & Brussaard, L. (2018). Soil quality—A critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 105–125.
- Bojórquez-Quintal, E., Escalante-Magaña, C., Echevarría-Machado, I., & Martínez-Estévez, M. (2017). Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Frontiers in plant science*, 8, 1767.
- Centro de Investigaciones del Banano (CENIBANANO); Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA). Informe Anual (2020). Urabá – Colombia.
- Cisternas, I., Velásquez, I., Caro, A., & Rodríguez, A. (2020). Systematic literature review of implementations of precision agriculture. *Computers and Electronics in Agriculture*, 176, 105626.
- Colombi, T., & Keller, T. (2019). Developing strategies to recover crop productivity after soil compaction—A plant eco-physiological perspective. *Soil and Tillage Research*, 191, 156–161
- Gauggel, C. A., Moran, D., & Gurdian, E. (2005). Interrelations between the soil chemical properties and the banana plant root system. In *Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema Radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional* (p. 134).

- Li, Z., Jiao, Y., Yin, J., Li, D., Wang, B., Zhang, K., ... & Liu, Y. (2021). Productivity and quality of banana in response to chemical fertilizer reduction with bio-organic fertilizer: Insight into soil properties and microbial ecology. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 322, 107659.
- Neina, D. (2019). The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019.
- Muñoz-Rojas, M. (2018). Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5, 47-52
- Osorio, N. W. (2014). Manejo de nutrientes en suelos del trópico. *Editorial Medellín, Colombia: L. Vieco SAS*, 117-129.
- Jaramillo, D. F. J. (2014). *El suelo: origen, propiedades, espacialidad*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias, Escuela de Geociencias.
- Shafi, U., Mumtaz, R., García-Nieto, J., Hassan, S. A., Zaidi, S. A. R., & Iqbal, N. (2019). Precision agriculture techniques and practices: From considerations to applications. *Sensors*, 19(17), 3796.
- Soil Survey Laboratory (1996). *Methods Manual*. United States Department of Agriculture.
- USDA (2006). Claves para la Taxonomía de Suelos. *Soil Survey Staff Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Servicio de Conservación de Recursos Naturales*.
- Vaquero, R. (2005). Soil physical properties and banana root growth. In *Banana root system: towards a better understanding for its productive management*. Proceedings of an International Symposium held in San José, Costa Rica on 3-5 November 2003 (pp. 125-131). International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP).
- Zhang, J., Bei, S., Li, B., Zhang, J., Christie, P., & Li, X. (2019). Organic fertilizer, but not heavy liming, enhances banana biomass, increases soil organic carbon and modifies soil microbiota. *Applied Soil Ecology*, 136, 67-79.

3.2. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE RAÍCES DE BANANO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN DEL SUELO

Autores: *María Luisa Anaya Gómez, Laura Delgado Bejarano, Jackson Danilo Osorio Cardona y Juan José Pérez Zapata.*

Resumen

El estudio fue un plan piloto donde se evaluó el crecimiento y profundidad radicular de dos plantas sembradas en rhizotrones bajo diferentes condiciones de resistencia a la penetración del suelo, recreando los escenarios in situ del perfil edáfico de dos fincas de la zona del Urabá Antioqueño. Las mediciones se realizaron mediante procesamiento digital de imágenes con el software ImageJ, encontrando que valores cercanos a 2.5 kg/cm² de resistencia a la penetración, presentan limitantes en el desarrollo radical de la planta, afectando el crecimiento fisiológico de la misma y su sistema de anclaje al suelo. Se sugiere realizar nuevas evaluaciones en las que se contemplen diferentes parámetros del suelo, tales como pH, textura, estabilidad estructural, nutrientes y contenido de humedad con el fin de determinar las correlaciones de dichos parámetros con el desarrollo y productividad del cultivo.

3.2.1. Introducción

Las raíces del banano, como en cualquier cultivo, son las encargadas del sistema de anclaje, absorción de nutrientes y agua, además de permitirle a la planta el intercambio de sustancias como las giberelinas y demás hormonas fomentando el crecimiento de la misma. Por otro lado, las raíces del cultivo de banano se pueden ver afectadas por factores abióticos y bióticos, tales como mal drenaje, estrés hídrico, insectos, toxicidad, compactación del suelo y otros, lo cual afecta la productividad de las plantas y el rendimiento (Vargas et al., 2018; Belalcázar et al., 2005).

Si bien existen muchos factores que pueden influir en la productividad de un cultivo, la calidad y salud del suelo tienen un papel importante en este parámetro, entendiendo calidad de suelo como la capacidad de este para funcionar con el ecosistema y la productividad de plantas y animales. Se puede evaluar su calidad por medio de diferentes indicadores, tales como contenido de materia orgánica, presencia de macro y micro nutrientes, pH, compactación, actividad biológica, salinidad, entre otros. (Bünemann et al., 2018; Li et al., 2022; Olivares et al., 2020). En la mayoría de los casos, esto se puede mejorar mediante actividades de manejo, como es el caso de los suelos compactados en los que se realizan labores de labranza, es por esta razón que se desea determinar el efecto de la compactación en el crecimiento y desarrollo de las plantas de banano, realizando un análisis desde el sistema radical, ya que, una de las mayores causas de degradación del suelo se da por la compactación, la cual se caracteriza por el aumento de la densidad aparente del suelo, la disminución de la porosidad, aumento de la resistencia a la penetración y retención de agua, razones que causan la disminución de absorción de agua y nutrientes por parte de la planta, reducción en el crecimiento de raíces y limitaciones en la emergencia de plántulas (Benevenuto et al., 2020; Vallejo, 2013).

Como se ha mencionado anteriormente la compactación es un factor crítico de análisis y uno de los parámetros para evaluarla es la resistencia a la penetración, teniendo en cuenta que la compactación se da por diferentes variables como la textura, estructura y contenido de agua. Es por esto que se han analizado los valores de resistencia a la penetración que pueden ocasionar

una disminución en el crecimiento de las raíces, considerando que la densidad de estas es mayor en consistencias friables y muy friables (Vaquero, 2005).

3.2.2. Materiales y métodos

3.2.2.1. Descripción de la zona de estudio. La investigación se realizó como un plan piloto en dos fincas pertenecientes a la subregión de Urabá, en el departamento de Antioquia. Estas unidades de muestreo se localizan en altitudes comprendidas entre los 0 a los 100 msnm, con precipitaciones promedias anuales entre 2500 y 3600 mm, y temperaturas medias anuales entre 23°C y 35°C. En la zona de estudio domina el paisaje de planicie aluvial y de piedemonte con un tipo de relieve de terraza y formas de terreno albardón, napa de desborde y napa de explayamiento, bajo sedimentos de aluviones medios y finos en un clima cálido húmedo iso-hipertérmico údico (CENIBANANO, 2019).

3.2.2.2. Diseño experimental. En las fincas seleccionadas se realizó un análisis de perfil edáfico, mediante una mini calicata de 70 cm de profundidad; en su descripción se observaron las propiedades morfológicas (espesor del horizonte o capa, color de la matriz del suelo, color de moteados, textura, estructura, consistencia, contenido de raíces, contenido de poros, presencia de pedregosidad, presencia de cutanes, límites de horizonte o capa, pendiente del terreno, resistencia a la penetración) y biológicas (conteo de macroorganismos); una vez realizado el análisis de dichos parámetros se extrajo el suelo para la realización del ensayo.

El ensayo se realizó en el invernadero de Cenibanano, en el cual se construyeron dos rhizotrones en madera con una lámina de acrílico para visualizar el crecimiento de las raíces de la planta (**Figura 1**), donde fue llevado el suelo simulando las condiciones de campo presentes en las fincas A y B respectivamente.

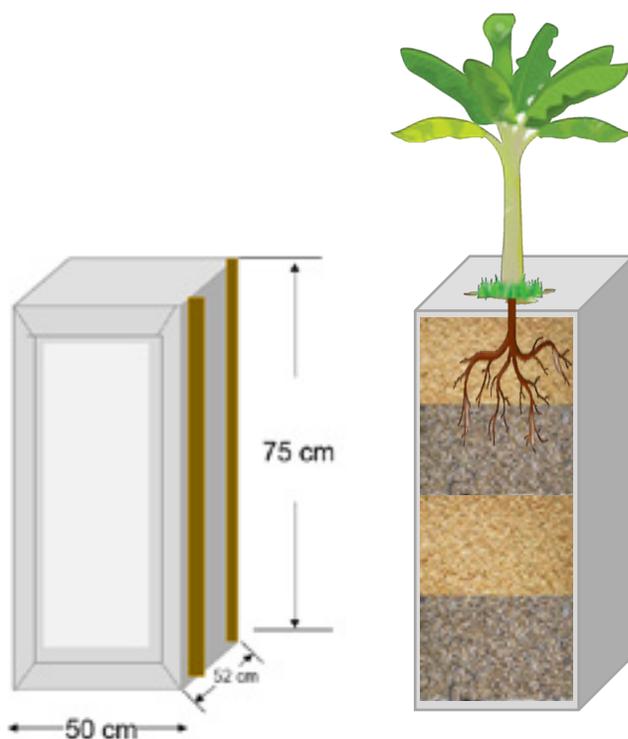


Figura 1. Dimensiones y diseño del rhizotrófono.

En cada rhizotrón se sembró un corno de banano, en donde se seleccionó el hijo de sucesión, se realizaron las mismas actividades de manejo cultural durante 44 días, entre estas está la aplicación de cuatro ciclos de fertilización de elementos mayores (N, P, K, Mg, Ca) con una dosis de 60 g/planta. Adicionalmente, se suministró riego hasta llevar el suelo a capacidad de campo. Durante el tiempo del ensayo se tomaron fotos como evidencia del crecimiento de la planta (radicular y foliar).

3.2.2.3. Procesamiento de datos. Las fotografías se procesaron mediante el software ImageJ (**Figura 2**), en el cual mediante una escala métrica se realizaron mediciones del crecimiento y la profundidad de las raíces, para este proceso se seleccionaron tres raíces y a las plantas se les midió altura en la intersección de los peciolos de las últimas dos hojas emitidas (forma de V) y diámetro del pseudotallo a partir de los 10 cm de altura. Finalmente, se realizó un análisis de sanidad radicular, en el cual se evaluaron raíces funcionales y no funcionales, peso total de raíces y cantidad de nematodos presentes en el sistema.

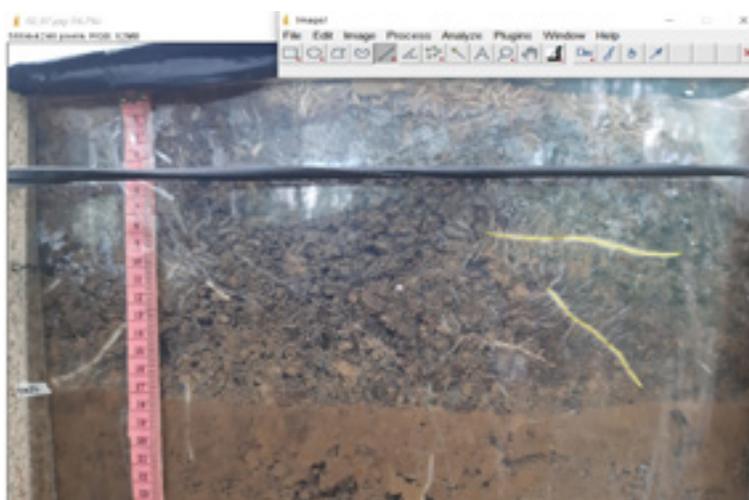


Figura 2. Uso de software ImageJ para la medición de longitud y profundidad de raíces

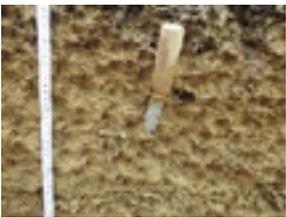
3.2.3. Resultados y discusión

Los análisis de los perfiles edáficos realizados se muestran en la **tabla 1**, en donde se observan tres horizontes para cada una de las fincas.

Tabla 1. Descripción perfiles edáficos de las fincas de estudio

Descripción perfil edáfico – Finca A		Descripción perfil edáfico – Finca B	
Ap 0 – 17 cm	Ap: Horizonte mineral superficial (A) que presenta actividades de disturbación antrópica (p).	Ap 0 – 17 cm	Ap: Horizonte mineral superficial (A) que presenta actividades de disturbación antrópica (p).

	<p>Color en húmedo pardo amarillento oscuro (10YR4/6); textura en campo franca; estructura en bloques sub angulares finos y medios, moderado; consistencia en húmedo firme, en seco muy friable, en mojado ligeramente plástico y plástico; abundantes poros, muy finos, finos y verticales y horizontales; abundantes raíces finas y medias, vivas y muertas; abundante actividad de macroorganismos; presencia de arcilla y materia orgánica y, de materia orgánica y arcilla; límite claro y topografía plana; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo 2.5 kg/cm² en húmedo.</p>		<p>Color en húmedo pardo (10YR4/3); textura en campo franca arcillosa; estructura en bloques angulares finos y medios, moderado; consistencia en húmedo friable, en seco blanda; en mojado ligeramente pegajoso y ligeramente plástico; poros frecuentes, muy finos y finos, con orientación vertical y horizontal, de forma tubular; presencia regular de raíces muy finas y finas, vivas y muertas; presencia regular de macroorganismos; límite difuso; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo de 1.5 kg/cm² en húmedo.</p>
<p>Bg₁ 17 – 39 cm</p>	<p>Bg₁: Horizonte mineral subsuperficial (B) con acumulación de</p>	<p>Bg₁ 17 – 43 cm</p>	<p>Bg₁: Horizonte mineral subsuperficial (B) con acumulación de arcillas</p>

	<p>acumulación de arcillas, formación de estructura blocosa y procesos de gleización (g).</p> <p>Color en húmedo pardo amarillento (10YR5/4), pardo (10YR5/3), moteos claros, pequeños, pardo fuerte (7.5YR4/6); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques subangulares medios y gruesos, débil; consistencia en húmedo muy friable, en seco blanda, en mojado plástico y plástico; abundantes poros, muy finos, finos, medios, gruesos, verticales y horizontales; regulares raíces muy finas, finas y medias, vivas y muertas (predominan); poca actividad de macroorganismos; presencia de arcilla y óxidos de hierro, óxidos e hidróxidos de manganeso; límite claro y topografía plana; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo 1.7 kg/cm² en húmedo.</p>		<p>acumulación de arcillas, formación de estructura blocosa y procesos de gleización (g).</p> <p>Color en húmedo pardo amarillento (10YR5/4), gris (10YR5/1); textura en campo Arcillo limosa; estructura en bloques subangulares muy finos, finos y medios, débil; consistencia en húmedo friable, en seco blanda; en mojado pegajoso y plástico; poros frecuentes, muy finos, orientación vertical y forma tubular; presencia de cutanes de arcilla; raíces regulares, muy finas, finas y medias, vivas y muertas; ausencia de actividad biológica; límite difuso; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo 2.4 kg/cm² en húmedo.</p>
<p>Bg₂ 39 – 65 cm</p>	<p>Bg₂: Horizonte mineral subsuperficial (B) con acumulación de arcillas, formación de estructura blocosa y procesos de gleización (g).</p>	<p>Bg₂ 43 – 68 cm</p>	<p>Bg₂: Horizonte mineral subsuperficial (B) con acumulación de arcillas, formación de estructura blocosa y procesos de gleización (g).</p>



Color en húmedo pardo amarillento (10YR6/4); moteos claros, pequeños, rojo amarillento (5YR4/6); textura en campo arcillo limosa; estructura en bloques subangulares finos, medios, gruesos y débil; consistencia en húmedo muy friable, en seco blanda, en mojado pegajoso y plástico; abundantes poros, muy finos y verticales y horizontales; regulares raíces finas vivas; poca actividad de macroorganismos; presencia de óxidos e hidróxidos de manganeso; límite claro y topografía plana; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo 1.5 kg/cm² en húmedo.

Color pardo (10YR5/3); textura en campo arcillosa; estructura bloques subangulares finos y gruesos, grado medio; consistencia en húmedo friable y blanda; en mojado se presenta pegajoso y plástico; presencia frecuente de poros muy finos y finos, orientados de forma vertical y forma tubular; presencia de cutanes de arcilla y óxidos de hierro; pocas raíces finas y medias, vivas y muertas, las raíces que se encuentran vivas se visualizan hasta los 53 cm de profundidad; ausencia de actividad biológica; límite difuso; resistencia a la penetración con penetrómetro de bolsillo 1.5 kg/cm² en húmedo.

De la descripción se observa que ambas fincas presentaron tres horizontes, de los cuales el horizonte Ap presenta susceptibilidad a la erosión y los horizontes clasificados como Bg presentan una fuerte gleización, lo cual da indicios de problemas de drenaje en el suelo. Condición que genera un fenómeno de hipoxia en este, afectando la orientación, forma, diámetro, longitud y cantidad de las raíces de la planta (Soil Survey Staff, 2014; Jaramillo, 2014; Moreno et al., 2020; Correa et al., 2019). Los resultados de resistencia a la penetración de cada horizonte, se presentan en la **figura 3**.

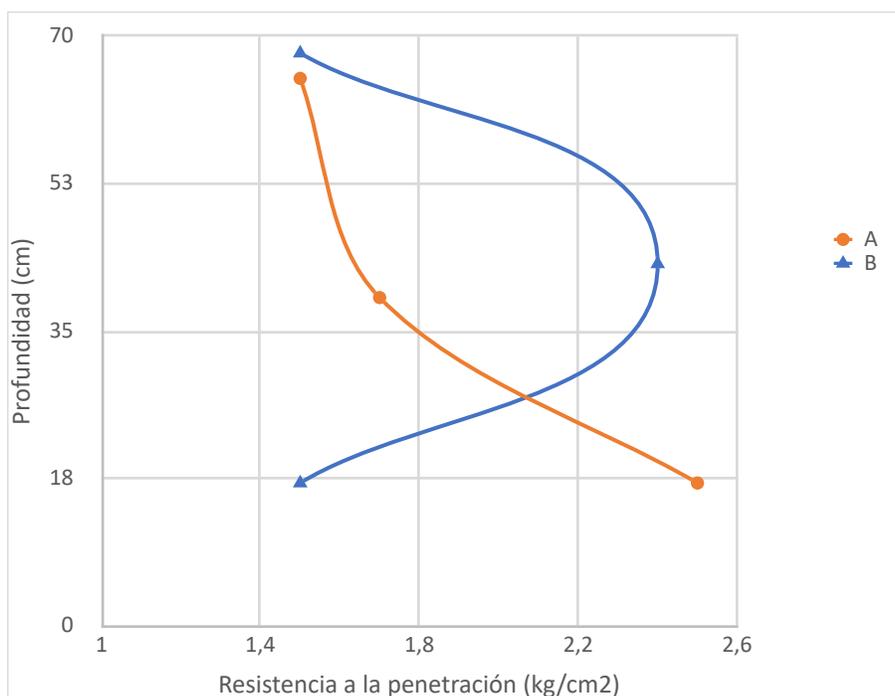


Figura 3. Resistencia a la penetración en los perfiles de suelo

De la **figura 3** se puede observar que la finca A presenta un valor mayor de resistencia a la penetración en el primer horizonte y que posteriormente disminuye a lo largo del perfil, lo cual se puede presentar debido al paso de personal y maquinaria al momento de realizar las actividades culturales propias del cultivo de banano, generando una disminución del espacio poroso superficial (Silva et al., 2018), caso diferente a la finca B que presenta el valor máximo en el horizonte subsuperficial, la cual se puede dar debido a las labores de manejo como hércules o subsolado realizadas hasta aproximadamente 40 cm de profundidad, generando un sellamiento o pie de arado en el suelo, situación en la que se puede presentar una disminución de la cantidad de raíces presentes y una afectación en el desarrollo de las mismas (Medvedev, 2011). Vaquero (2005) reporta que para valores de resistencia a la penetración menores a 2.0 kg/cm² medidos con penetrómetro de bolsillo se da un desarrollo óptimo del cultivo de banano, ya que este tipo de valores se asocian a suelos desde muy friables a friables. Por otro lado, suelos que presentan resistencia a la penetración mayores a 2.0 kg/cm² y cercanos a 3.0 kg/cm² hacen referencia a suelos firmes, los cuales presentan un grado de limitación en las raíces.

En la **figura 4** se presentan los resultados obtenidos de las mediciones de longitud de raíz, en donde se puede visualizar que las raíces de la finca A alcanzaron mayores longitudes en comparación con las raíces evaluadas en la finca B, siendo la raíz A1 la que mayor longitud obtuvo con un valor de 54.34 cm y la raíz B2 la de menor longitud (10.58 cm).

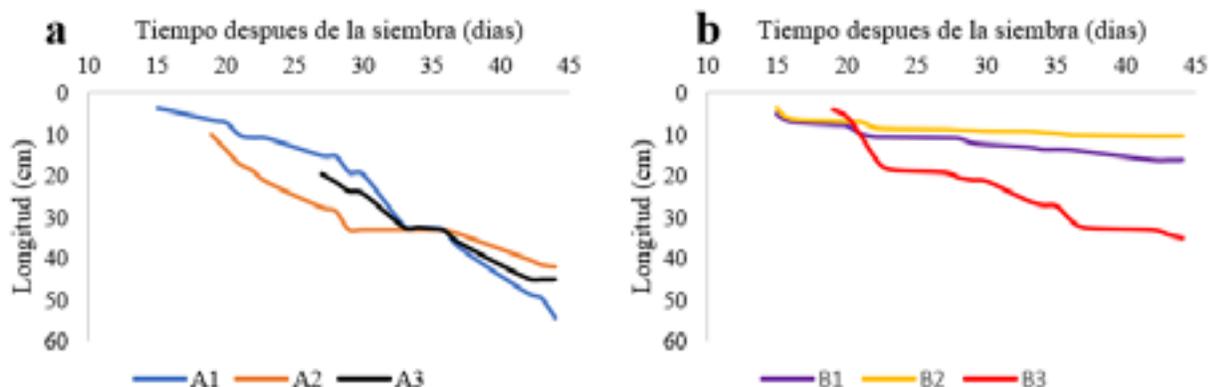


Figura 4. Mediciones de longitud de raíz a lo largo del tiempo.

Es importante resaltar que debido a que el horizonte B_{g1} de la finca B se encontraba más compactado, se evidenció que las raíces no penetraron y desviaron su forma por el horizonte superficial. Finalmente, se encontraron con las paredes del rhizotrón, afectando su crecimiento. Esto se visualiza en las tasas de crecimiento de cada una de las raíces, las cuales para la finca B fueron del orden 0.47 cm/día, mientras que en la finca A obtuvo una tasa de 1.07 cm/día aproximadamente. De igual forma, se considera un análisis de textura, en donde los horizontes de la finca A presentan suelos Franco arcillosos (FAr) y la finca B presenta suelos arcillo limosos (ArL), Blome et al. (2006) mencionan que las texturas más pesadas (mayor contenido de arcilla), generan limitaciones en el crecimiento de las raíces de las plantas de banano, lo cual puede justificar la reducción de las tasas de crecimiento en la finca B. Adicionalmente, se evaluó la profundidad alcanzada por las raíces, como se ilustra en la **figura 5**.

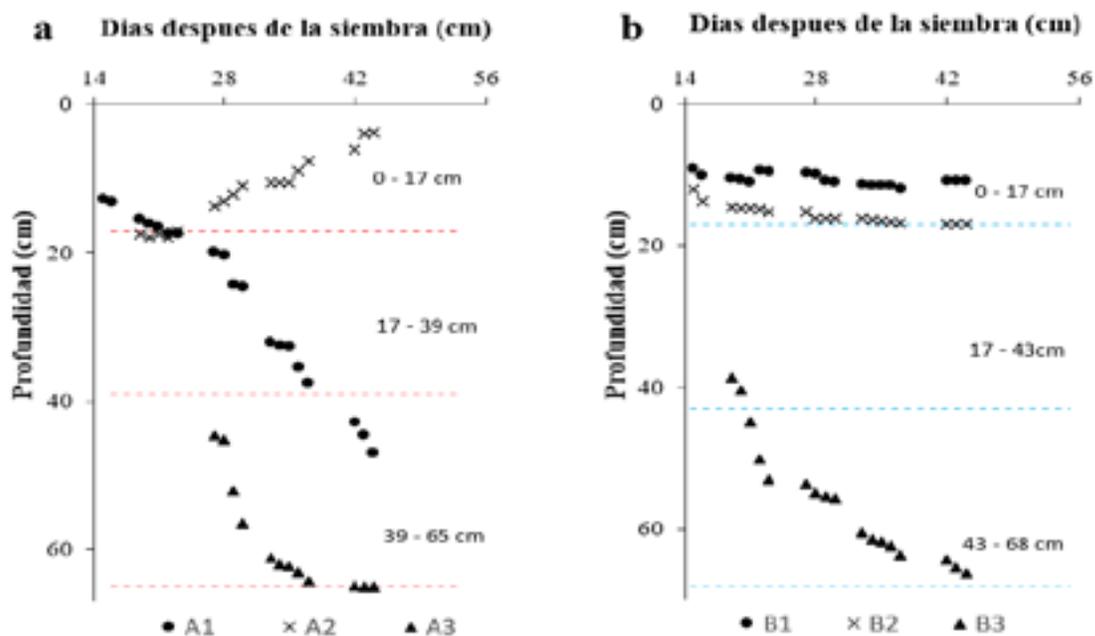


Figura 5. Profundidad alcanzada por las raíces: a: Finca A; b: Finca B

De la **figura 5** se puede observar que en la finca A dos raíces profundizaron en los horizontes, mientras que en la finca B solo una logró profundizar en el perfil del suelo. Donde se visualiza como se mencionó anteriormente, la tendencia de las raíces B1 y B2 a moverse de forma horizontal, lo cual se puede explicar desde el nivel de compactación presente en el horizonte subsuperficial.

Los resultados de las mediciones de altura de la planta se presentan en la **figura 6**.

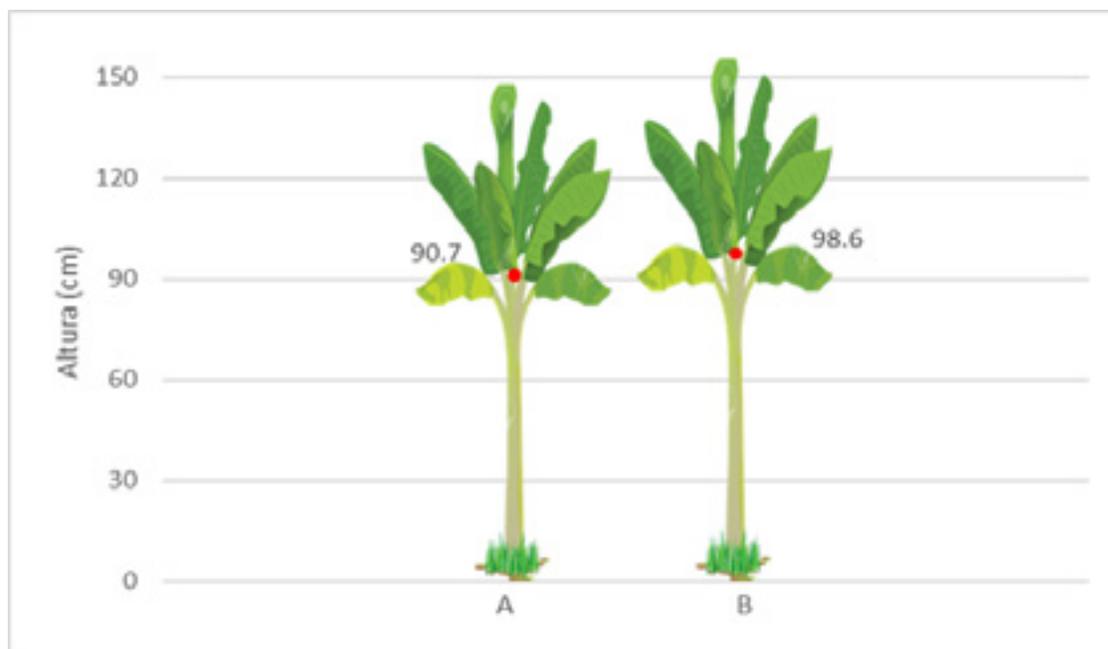


Figura 6. Resultados de medición de altura de las plantas evaluadas.

Se encontró que la planta de la finca A alcanzó una altura de 90.7 cm y un perímetro de 19.5 cm; la finca B por otro lado alcanzó 98.6 cm de altura y 20.4 cm de perímetro. Es decir que esta última obtuvo mejores resultados fisiológicos en el mismo tiempo del estudio, lo que da indicios de que existe un aumento de gasto energético para llevar las raíces a profundidad debido a la presencia del primer horizonte compactado, tal como se visualizó anteriormente, afectando el desarrollo de la planta (Herman et al.,2019; Lecompte et al.,2003). En temas de sanidad radicular, se observa que la planta de la finca A presenta un adecuado número de raíces funcionales (96.77 %), mientras que la planta de la finca B tiene un 60.37 % de raíces funcionales, lo cual se clasifica como deficiente. Desde la cantidad de raíces encontradas y las longitudes de las mismas, se puede determinar que la finca A obtuvo un mayor desarrollo radicular con un total de 588 g/planta de raíces en comparativa con la finca B que presentó un 381 g/planta de raíces.

3.2.4. Conclusión

- La posición de los horizontes con valores mayores de resistencia a la penetración determinó la cantidad y distribución de las raíces a lo largo del perfil de suelo. Sin embargo, es necesario realizar un análisis conjunto de diferentes propiedades del suelo con el fin de determinar las correlaciones entre los mismos y el efecto conjunto que tienen sobre las raíces del cultivo. De igual forma, la existencia de capas compactadas en el suelo causa un gasto energético extra en la planta con el fin de movilizar las raíces, lo cual causa una reducción en el crecimiento de la planta. Si bien se puede esperar que un menor desarrollo fisiológico se

traduzca en una disminución de la productividad, Blome et al. (2006) menciona que plantas con un sistema radical sano, aunque pequeño tienen la posibilidad de generar racimos pesados, para lo cual se necesita una buena fertilidad. Finalmente, es necesario recalcar la importancia de la realización de labores de manejo como hércules y subsolados con el fin de generar aireación del suelo y disminución de capas compactadas, realizando estas labores a diferentes profundidades para evitar la generación de un sellamiento del suelo o pie de arado.

- La planta de la finca A presentó una disminución en su crecimiento debido a un gasto energético realizado al momento de movilizar sus raíces a través del horizonte compactado, una vez superado dicho horizonte la raíces presentaron un desarrollo normal y un alto crecimiento al encontrarse con un segundo horizonte sin limitantes para crecimiento de las raíces, mientras que la planta de la finca B obtuvo una mayor altura y perímetro del pseudotallo a pesar de tener raíces más cortas y menos profundas, situación dada debido a que las raíces comienzan a desarrollarse en una capa sin limitaciones para posteriormente encontrarse con un horizonte con mayor resistencia a la penetración impidiendo la profundización de las mismas. Sin embargo, el tener una menor profundidad y longitud radicular hace a la planta de la finca B propensa a volcamientos, condición crítica para la productividad de banano. En términos de cantidad totales de raíces, la planta de la finca A presentó mayor peso de raíces, lo cual se explica desde las longitudes totales de las mismas.

3.2.5. Referencias bibliográficas

- Belalcázar, S., Rosales, F. E., & Pocasangre, L. E. (2005). Development and formation of plantain roots (Musa AAB Simmonds). In *Banana Root System: towards a better understanding for its productive management: Proceedings of an international symposium/Sistema Radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo: Memorias de un simposio internacional* (p. 77).
- Benevenuto, P. A., de Morais, E. G., Souza, A. A., Vasques, I. C., Cardoso, D. P., Sales, F. R., ... & Silva, B. M. (2020). Penetration resistance: An effective indicator for monitoring soil compaction in pastures. *Ecological Indicators*, *117*, 106647.
- Blomme, G., Swennen, R., Ortiz, R., & Tenkouano, A. (2006). Sistema radical y crecimiento de brotes de banano (Musa spp.) en dos zonas agroecológicas de Nigeria. *InfoMusa*, *15*(1-2), 18-23.
- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., de Goede, R., ... & Brussaard, L. (2018). Soil quality—A critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, *120*, 105-125.
- Correa, J., Postma, J. A., Watt, M., & Wojciechowski, T. (2019). Soil compaction and the architectural plasticity of root systems. *Journal of experimental botany*, *70*(21), 6019-6034.
- Herrmann, A. M., & Colombi, T. (2019). Energy use efficiency of root growth—a theoretical bioenergetics framework. *Plant signaling & behavior*, *14*(12), 1685147.
- Lecompte, F., Ozier-Lafontaine, H., & Pages, L. (2003). An analysis of growth rates and directions of growth of primary roots of field-grown banana trees in an andisol at three levels of soil compaction. *Agronomie*, *23*(3), 209-218.

- Li, K., Wang, C., Zhang, H., Zhang, J., Jiang, R., Feng, G., ... & Yu, B. (2022). Evaluating the effects of agricultural inputs on the soil quality of smallholdings using improved indices. *CATENA*, 209, 105838.
- Medvedev, V. V. (2011). Physical properties and spatial distribution of the plowpan in different arable soils. *Eurasian Soil Science*, 44(12), 1364-1372.
- Moreno Roblero, M. D. J., Pineda Pineda, J., Colinas León, M. T., & Sahagún Castellanos, J. (2020). Oxygen in the root zone and its effect on plants. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(4), 931-943.
- Olivares, B. O., Araya-Alman, M., Acevedo-Opazo, C., Rey, J. C., Cañete-Salinas, P., Kurina, F. G., ... & Gómez, J. A. (2020). Relationship between soil properties and banana productivity in the two main cultivation areas in Venezuela. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(4), 2512-2524.
- Silva, R. P., Rolim, M. M., Gomes, I. F., Pedrosa, E. M., Tavares, U. E., & Santos, A. N. (2018). Numerical modeling of soil compaction in a sugarcane crop using the finite element method. *Soil and Tillage Research*, 181, 1-10.
- Soil Survey Staff. (2014). *Keys to soil taxonomy*. Soil Conservation Service.
- Vallejo-Quintero, V. E. (2013). Importancia y utilidad de la evaluación de la calidad de suelos mediante el componente microbiano: experiencias en sistemas silvopastoriles. *Colombia forestal*, 16(1), 83-99.
- Vaquero, R. (2005). Soil physical properties and banana root growth. In *Banana root system: towards a better understanding for its productive management*. Proceedings of an International Symposium held in San José, Costa Rica on 3-5 November 2003 (pp. 125-131). International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP).
- Vargas, R., & Araya, M. (2018). Contenido de raíces en plantaciones comerciales de banano muestreadas en el intermedio madre-hijo y al frente del hijo de sucesión. *Corbana*, 44(64), 97-124



Agroclimatología

4. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN AGROCLIMATOLOGÍA

4.1. MÉTODO DE EVALUACIÓN DE LA HUMEDAD DEL SUELO

Autores: *Eliecer David Díaz Almanza, Franklin Palacios Zapata y Sebastian Zapata Henao*

Resumen

La evaluación de la humedad del suelo, es de alta importancia para definición de programación eficiente de aplicaciones de fertilizantes, aplicaciones de láminas de riego, adecuación de drenaje, además de otras decisiones de manejo y practicas agronómicas, entre otros. Evaluar métodos de estimación y seguimiento de la humedad del suelo, a nivel local, permite fortalecer el conocimiento de las condiciones agrometeorológicas y contar con un insumo para la toma de decisiones en el sector bananero. En una primera aproximación la medición de la humedad del suelo con el sensor Drill & Drop Sentek, permite la realización de un monitoreo en tiempo real. La serie de datos de monitoreo de humedad en el suelo es corta, seis meses, en la medida que la serie sea más larga, sus análisis permitirán realizar conclusiones más fuertes, aunque partiendo que la serie es corta, que se presentó un semestre muy lluvioso, con lluvias extremas (>80 mm) muy frecuentes, deslumbra que el nivel freático estuvo elevado, lo que se recomienda, fortalecer estas observaciones con el seguimiento de los pozos de nivel freático, y si es necesario realizar adecuaciones de los drenaje.

4.1.1. Introducción

El suelo tiene la capacidad de almacenar grandes cantidades de agua, de ésta solo una fracción pequeña está disponible para las plantas, las cuales requieren de un contenido de humedad adecuado para su crecimiento y desarrollo, que varía según especie y necesidades particulares. Los niveles de humedad de suelo influyen sobre procesos fundamentales de la planta, como la fotosíntesis, respiración y la absorción de nutrientes (Yetbarek & Ojha, 2020; Hernandez & Diaz, 2021).

La disponibilidad de humedad de suelo está estrechamente relacionada con la salud y desarrollo vegetal (Mo, y otros, 2011), la información de humedad de suelo es un insumo fundamental para la programación eficiente de aplicaciones de fertilizantes, aplicaciones de láminas de riego, adecuación de drenaje, además de otras decisiones de manejo y practicas agronómicas. Esta variable agrometeorológica, presenta una variabilidad temporal y espacio, (Zhu, y otros, 2019), influenciada por diversos factores atmosféricas como la precipitación (PPT), temperatura del aire (Ta), humedad atmosférica, velocidad del viento (Vv), radiación solar (Rs), evapotranspiración (ET), presión (P), entre otras. Así como parámetros físicos del suelo como textura, capacidad de almacenamiento, Capacidad de campo, Punto de marchitez permanente, conductividad hidráulica,

densidad, porosidad de suelo. También, el tipo de topografía altitud sobre el nivel del mar, pendiente y cobertura vegetal (Hernandez & Diaz, 2021).

La precipitación como la principal oferta hídrica es quien realiza el forzamiento meteorológico más importante para el contenido de humedad del suelo y su estacionalidad, aunque esta modulada por la topografía, capacidad de almacenamiento del suelo y cobertura vegetal, (Huang, Wu, & Zhao, 2013), dado que influye en el intercambio de energía y agua e interviene en otros procesos como la infiltración y la escorrentía (Fu, Wang, Chen, & Qiu, 2003; Liu, y otros, 2020; Chen, Zhang, & Shi, 2009)

4.1.2. Materiales y métodos

4.1.2.1. Medición de la humedad de suelo. El contenido de humedad del suelo debe definirse en términos cualitativos específicos, con el objetivo de indicar con exactitud la cantidad de agua almacenada en el suelo en un determinado instante de tiempo (WMO, 2008). Para medir la cantidad de agua en el suelo existen varios métodos e instrumentos, los cuales permiten realizar mediciones de la humedad del suelo de manera directa e indirecta, entre los cuales se pueden mencionar:

- *Método gravimétrico:* Es un método directo que consiste en tomar una muestra de suelo, pesarla antes y después de ser secada y calcular su contenido de agua, según la siguiente expresión $W(\%) = \frac{P_w}{P_s} * 100$
- *Método de dispersión de neutrones:* Es un método indirecto no destructivo que permite conocer la cantidad de agua por unidad de volumen de suelo. Este método está basado en el principio aplicado para medir la ralentización de los neutrones emitidos hacia el suelo por una fuente de neutrones rápidos.
- *Método dieléctrico (sensores capacitivos):* Están basados en la medición de la constante dieléctrica de un material no conductor que en este caso es el suelo, el cual consiste en la capacidad del mismo en transmitir ondas o pulsos electromagnéticos de alta frecuencia. Dentro de estos métodos se encuentran: reflectometría de dominio en el tiempo (TDR), reflectometría en el dominio de la frecuencia (FDR), entre otros.
- *Estimación de la humedad superficial del suelo a partir de teledetección:* La teledetección es la técnica que permite adquirir información de la superficie terrestre a partir de la medición de la radiación electromagnética emitida y/o reflejada. La medición se realiza mediante sensores instalados en satélites que se encuentran en órbita alrededor del planeta tierra, esta información es almacenada, procesada y presentada en forma de imágenes que representan la superficie terrestre, cuya resolución espacial y tamaño dependen de la sensibilidad y configuración del sensor. La teledetección proporciona información espacialmente distribuida de la superficie terrestre adquirida, además de

forma periódica. Estas características hacen de la teledetección una alternativa viable para la estimación de la humedad superficial (Engman, 1991; Hernandez & Diaz, 2021).

4.1.2.2. Medición de humedad del suelo en campo. Para el monitoreo de la humedad del suelo se instalaron cuatro (4) sensor Drill & Drop Sentek, con mediciones cada 10 centímetros (cm), hasta una profundidad de 90 cm, determina el contenido volumétrico de agua (VWC) por medición de la constante dieléctrica del suelo usando la tecnología de capacitancia (Pessl Instruments GmbH, 2021). Especificaciones técnicas.

- Rango de seco hasta saturación
- Resolución: 1: 10000
- Precisión: 0.03 m³*m⁻³
- Dimensiones: Longitud 90 cm, diámetro 30 - 26.5 mm



Figura 1. Sensor de humedad de suelo Drill & Drop Sentek en cuatro fincas de la zona bananera de Urabá.

Estas sondas fueron instaladas en las fincas Cantares (Turbo); Sayula (Apartadó); Los Cedros (Carepa); Sol-Luna (Chigorodó), las cuales hacen parte de una estación agrometeorológica de la red bananera. En estas estaciones se miden variables como precipitación, temperatura del aire y suelo, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento (magnitud y dirección). Adicionalmente se tienen variables estimadas como la evapotranspiración de referencia (ET_o), a través del el método Penman-Monteith- FAO (PM-FAO) es recomendado como el único método para determinar la ET_o (Allen, 1998)).

4.1.2.3. Evapotranspiración. La evapotranspiración es la combinación de los fenómenos de evaporación desde la superficie del suelo y la transpiración de la vegetación. La dificultad de la medición en forma separada de ambos fenómenos (el contenido de humedad del suelo y el desarrollo vegetal de la planta) obliga a introducir el concepto de evapotranspiración como pérdida conjunta de un sistema determinado.

La cantidad de agua presente en el suelo que está disponible para la producción del cultivo dependerá de cuánta agua lluvia permanece en el suelo después de las pérdidas por escorrentía, evaporación y percolación profunda. La cantidad de agua que llega a las capas subterráneas y que potencialmente esté disponible para la planta, dependerá de la medida de la tasa de infiltración del agua lluvia, de la oferta hídrica para reabastecer la capacidad de retención, y satisfacer las necesidades de transpiración de los cultivos (Allen, 1998)

El buen manejo del agua lluvia está dirigido a maximizar la cantidad de agua que penetra al suelo y el mejor uso que es posible hacer es por medio de los cultivos y la recarga de las aguas subterráneas. Los estudios del efecto de las deficiencias de agua de lluvia en la agricultura se basan en la técnica de los balances hídricos, a través de la cual se confrontan los requerimientos de agua (expresados como evapotranspiración del cultivo de referencia, ETO) con los aportes hídricos de la precipitación. Cuando la precipitación es inferior a la ETO se puede establecer que los cultivos sufren estrés por la deficiencia hídrica, afectado el rendimiento de estos (Allen, 1998). La tasa de evapotranspiración de un cultivo de referencia que no enfrenta déficit hídrico se llama Evapotranspiración de referencia (ETO). El concepto de ETO fue introducido para estudiar la demanda evaporativa de la atmósfera independientemente del tipo de cultivo, su desarrollo o su manejo. Como el agua es abundante en la superficie evapotranspirante, los factores de suelo no afectan la ETO (Allen, 1998).

Al relacionar el proceso de evapotranspiración de una superficie determinada proporciona una referencia con la evapotranspiración de otras superficies. Esto elimina la necesidad de definir un nivel de evapotranspiración diferente y separada para cada cultivo y etapa de desarrollo del cultivo. Los valores de ETO medidos o calculados en distintos lugares o en diferentes estaciones del año son comparables, ya que se refieren a la evapotranspiración de la misma superficie de referencia (Allen, 1998). Los únicos factores que afectan a ETO son variables meteorológicas o climáticas. En consecuencia, la ETO es una variable climática y puede calcularse a partir de datos meteorológicos o climáticos según el estudio. La ETO expresa el poder evaporativo de la atmósfera en un determinado lugar y momento del año y no tiene en cuenta las características del cultivo ni del suelo (Allen, 1998; Jensen & Allen, 2016).

4.1.2.4. Método Penman Monteith-FAO. Este método proporciona valores muy consistentes con datos reales de uso de agua de cultivos en todo el mundo. Además, supera las deficiencias de métodos recomendados anteriormente (**Figura 3**) y explícitamente incorpora parámetros tanto fisiológicos como aerodinámicos. Además, se han desarrollado procedimientos para la utilización de este método, incluso con pocos datos meteorológicos (diarios, decadas) o climáticos (mensual). La ecuación FAO Penman-Monteith fue derivada, a partir de la ecuación original de Penman-Monteith y de las ecuaciones de resistencia aerodinámica y del cultivo, como se expone a continuación (**Figura 2**)

$$ET_o = \frac{0,408 \Delta (R_n - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} u_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0,34 u_2)}$$

donde:

- ET_o evapotranspiración de referencia (mm día⁻¹)
- R_n radiación neta en la superficie del cultivo (MJ m⁻² día⁻¹)
- R_s radiación extraterrestre (mm día⁻¹)
- G flujo del calor de suelo (MJ m⁻² día⁻¹)
- T temperatura media del aire a 2 m de altura (°C)
- u₂ velocidad del viento a 2 m de altura (m s⁻¹)
- e_s presión de vapor de saturación (kPa)
- e_a presión real de vapor (kPa)
- e_s - e_a déficit de presión de vapor (kPa)
- Δ pendiente de la curva de presión de vapor (kPa °C⁻¹)
- γ constante psicrométrica (kPa °C⁻¹)

Figura 2. Ecuación para el cálculo de la evapotranspiración de referencia (ET_o), usando el método de FAO Penman-Monteith. Fuente: (Allen, 1998)

Tipo de clima	Húmedo			Árido		
Indicador	Puesto No.	Sobreestimación ¹	Error estándar ²	Puesto No.	Sobreestimación ¹	Sobreestimación ²
Métodos combinados						
Penman-Monteith	1	+ 4%	0,32	1	- 1%	0,49
FAO-24 Penman C=1	14	+ 29%	0,93	6	+ 12%	0,69
FAO-24 Penman (corregido)	19	+ 35%	1,14	10	+ 18%	1,10
FAO-PPP-17 Penman	4	+ 16%	0,67	5	+ 6%	0,68
Penman (1963)	3	+ 14%	0,60	7	- 2%	0,70
Penman 1963, VPD #3	6	+ 20%	0,69	4	+ 6%	0,67
1972 Kimberley Penman	8	+ 18%	0,71	8	+ 6%	0,73
1982 Kymberley Penman	7	+ 10%	0,69	2	+ 3%	0,54
Businger-van Badel	16	+ 32%	1,03	11	+ 11%	1,12
Métodos de radiación						
Priestley Taylor	5	- 3%	0,68	19	- 27%	1,89
FAO-Radiación	11	+ 22%	0,79	3	+ 6%	0,62
Métodos de temperatura						
Jensen-Haise	12	- 18%	0,84	12	- 12%	1,13
Hargreaves	10	+ 25%	0,79	13	- 9%	1,17
Turc	2	+ 5%	0,56	18	- 26%	1,88
SCS Blaney-Criddle	15	+ 17%	1,01	15	- 16%	1,29
FAO Blaney-Criddle	9	+ 16%	0,79	9	0%	0,76
Thornwaite	13	- 4%	0,86	20	- 37%	2,40
Métodos de tanque de evaporación						
Tanque Clase A	20	+ 14%	1,29	17	+ 21%	1,54
Christiansen	18	- 10%	1,12	16	- 6%	1,41
FAO Clase A	17	- 5%	1,09	14	+ 5%	1,25

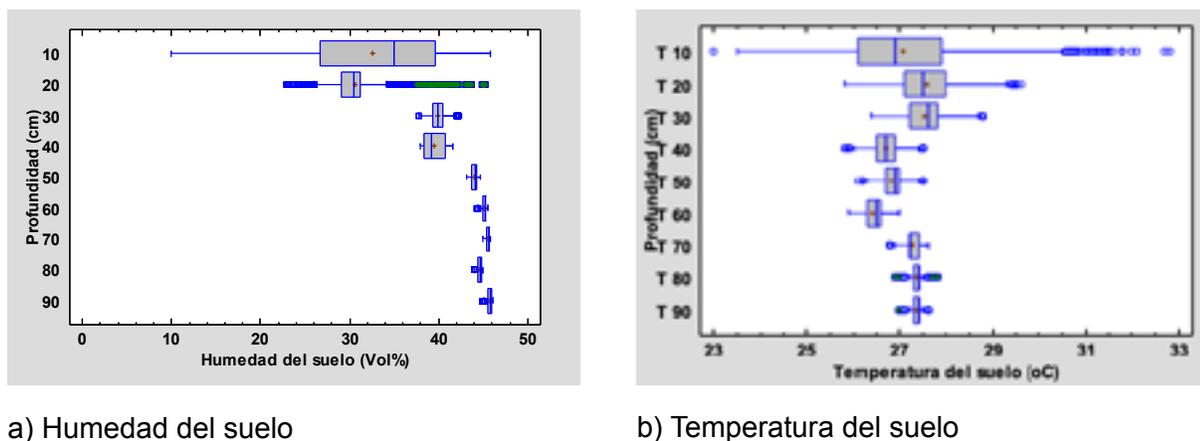
¹Sobre o subestimado como porcentaje de datos de 11 sitios con lisímetros, corregidos por el tipo de cultivo de referencia.

²Error estándar ponderado de las estimaciones mm día⁻¹.

Figura 3. Comparación de los métodos para el cálculo de la evapotranspiración de referencia ETO (Jensen & Allen, 2016)

4.1.3. Resultados y discusión

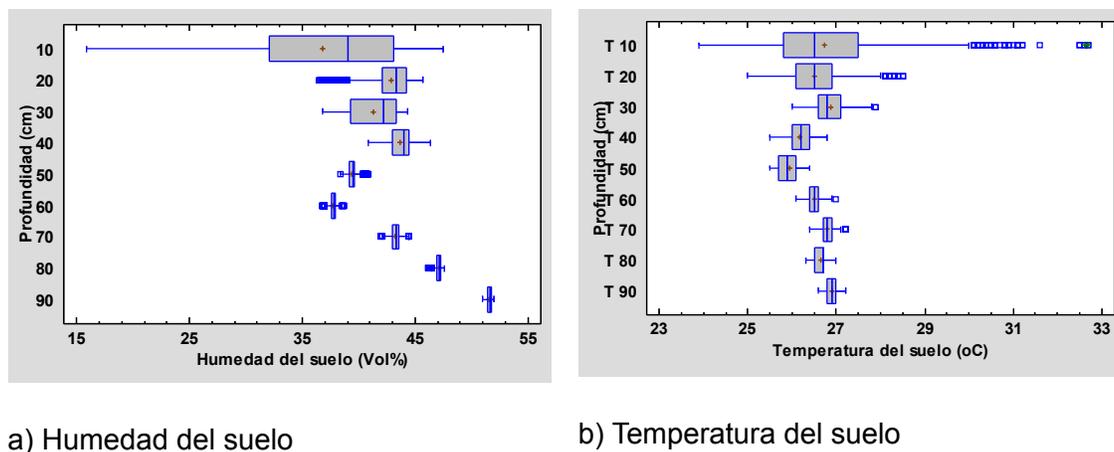
En la **figura 4**, **figura 5**, y **figura 6** se presenta la variabilidad de la humedad y temperatura del suelo, en suelos con texturas predominantes franco arcillosas, franco arcillosa y en la zona norte, centro y sur bananera de Urabá, respectivamente, con mediciones cada 10 cm, hasta los primero 90 cm de profundidad.



a) Humedad del suelo

b) Temperatura del suelo

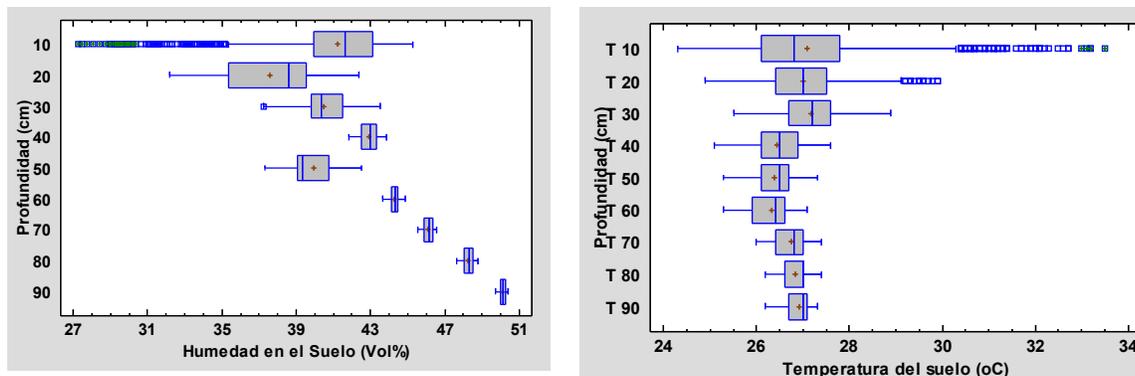
Figura 4. Variabilidad de la humedad del suelo en suelos con textura franco arcillosa, de la zona norte bananera de Urabá, en diferentes profundidad entre julio hasta mediados de diciembre de 2021.



a) Humedad del suelo

b) Temperatura del suelo

Figura 5. Variabilidad de la humedad del suelo en suelos con textura arcillo limosa, de la zona centro bananera de Urabá, en diferentes profundidades entre julio hasta mediados de diciembre de 2021



a) Humedad del suelo

b) Temperatura del suelo

Figura 6. Variabilidad de la humedad del suelo en suelos con textura arcillo limosa, de la zona sur bananera de Urabá, en diferentes profundidades entre julio hasta mediados de diciembre del 2021

En la anterior las figuras se aprecia que, la mayor variabilidad de la humedad en el suelo estuvo en los primeros 10 cm, así como la temperatura, esta capa de la superficie del suelo, es la más expuesta a la evaporación por radiación y vientos, principalmente. Esta variación de la humedad del suelo en toda la zona bananera es significativa ($p < 0.05$), en los primeros 30 cm, a partir de los 40 cm no se aprecian variaciones; los cambios en profundidad obedecen a diferentes texturas, independiente de la textura la humedad ha estado alrededor del punto de saturación del suelo. Los resultados encontrados en este semestre con corroborados por (Beljaars, A., Miller, & Betts, 1996) , que encontró que la humedad del suelo varía lentamente en relación con los elementos atmosféricos, con variaciones que persisten durante varios días o semanas o meses en capas profundas del suelo.

En la **figura 7**, **figura 8**, y **figura 9** se presenta la oferta de lluvia y demanda de ETo, en el segundo semestre de 2021 (entre semana 27 y 50), en las zonas norte, centro y sur; respectivamente.

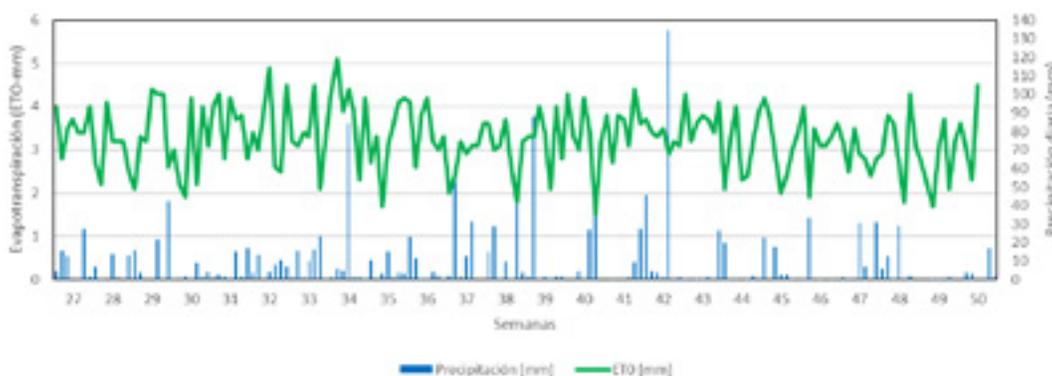


Figura 7. Oferta de lluvia y demanda evapotranspirativa (ETo) en el segundo semestre de 2021, en la zona norte.

En la anterior figura apreciar que en la zona norte que en casi todo el semestre se registró lluviosas, con acumulado de 1410 mm en el semestre. La tasa de ETo oscilo entre 2 y 5 mm*día⁻¹, con un promedio semestral de 3.2 mm por día, con un acumulado de 540 mm*semestre⁻¹.

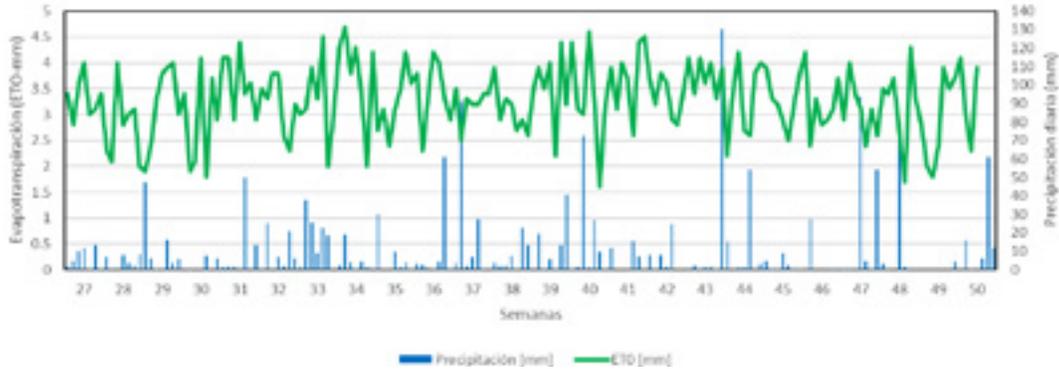


Figura 8. Oferta de lluvia y demanda evapotranspirativa (ETo) en el segundo semestre del 2021, en la zona centro.

En la anterior figura apreciar que en la zona centro, se registró condiciones lluviosas, con acumulado de 1610 mm en el semestre. La tasa de ETo osciló entre 2 y 5 mm*día⁻¹, con un promedio semestral de 3.2 mm por día, con un acumulado de 550 mm*semestre⁻¹.

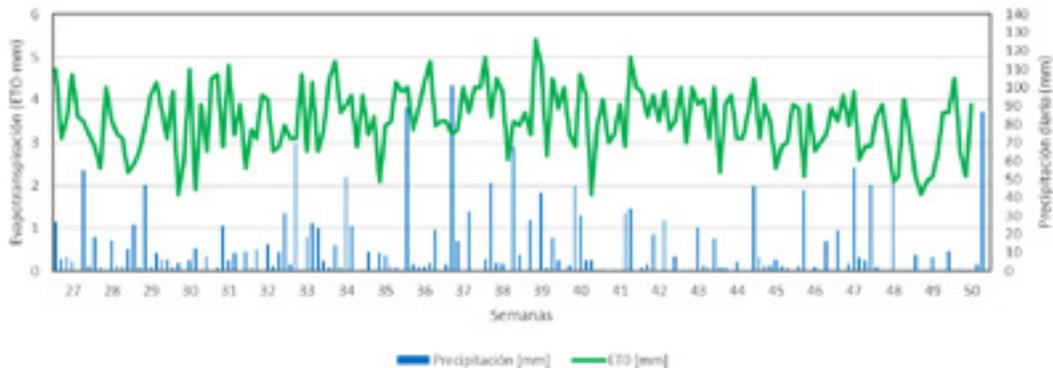
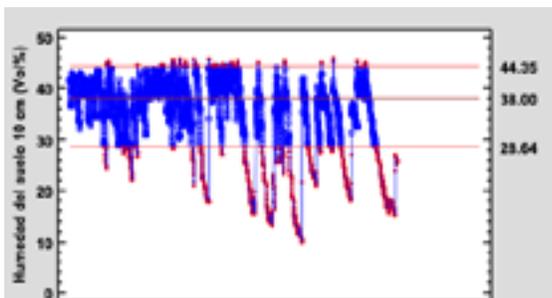


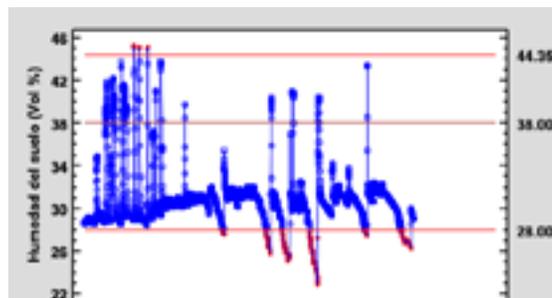
Figura 9. Oferta de lluvia y demanda evapotranspirativa (ETo) en el segundo semestre del 2021, en la zona sur.

En la anterior figura apreciar que en la zona centro, se registró condiciones lluviosas, con acumulado de 1940 mm en el semestre. La tasa de ETo osciló entre 2 y 5 mm*día⁻¹, con un promedio semestral de 3.2 mm por día, con un acumulado de 590 mm*semestre⁻¹.

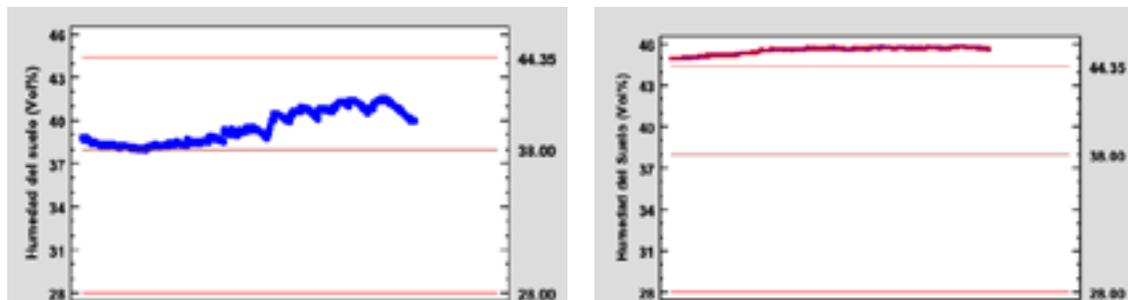
En la **figura 10**, se presenta la variabilidad temporal de la humedad del suelo en el segundo semestre de 2021, en la zona bananera de Urabá, en diferentes profundidades.



a) Superficial (10 cm)



b) entre 10 y 20 cm



c) Entre 20 y 40 cm.

d) entre 40 y 90 cm

Figura 10. Variabilidad temporal de la humedad del suelo en el segundo semestre de 2021, en la zona bananera de Urabá.

En la anterior figura se observa que en los primeros 10 cm, de profundidad la humedad oscilo entre umbrales de saturación y punto de marchitez; entre 10 y 20 cm, oscilo entre condiciones adecuadas para el cultivo y saturación, entre 20 y 40 cm, oscilo entre capacidad de campo y saturación, y después de los 40 cm la condiciones permaneció durante todo el semestre saturada, incluso en semanas que no se presentaron lluvias.

Los resultados que aumentos de la intensidad de la lluvia no necesariamente conducen a una mayor infiltración del agua en el suelo, además si el suelo ya ha satisfecho su capacidad de almacenamiento, gran parte de la lluvia se mueve en la superficie como escorrentía. En la **figura 11**, se presenta un ejemplo de monitoreo espacial de humedad del suelo en la superficie del suelo (>5cm), acumulado en la semanal y la comparación con la medición in situ en el norte de la zona bananera. En la semana se presentaron en la zona norte dos eventos de lluvia con un acumulado de 58 mm, lo que mantuvo las condiciones de humedad del suelo en los primeros 10 cm alrededor de capacidad de campo, esta misma condición es reflejada en promedio semanal en la estimación satelital.

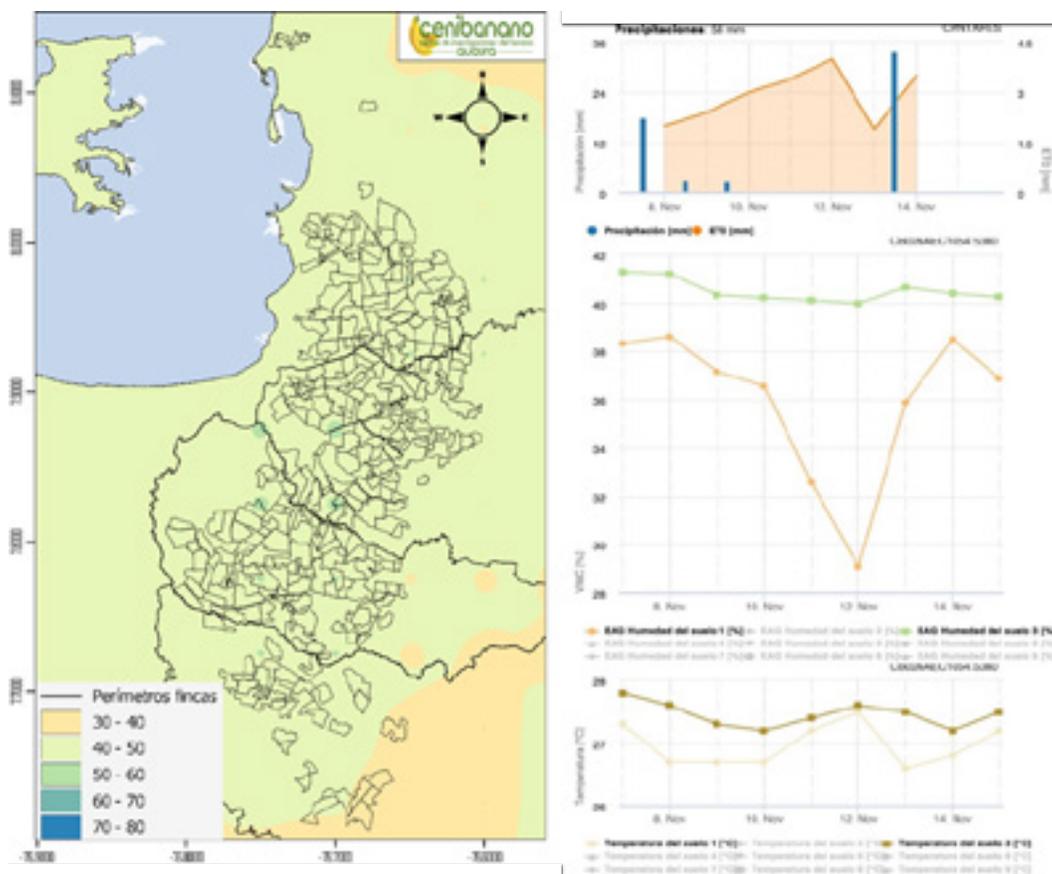


Figura 11. Seguimiento de la humedad del suelo con datos sintéticos (satelitalmente) y medidas *in situ* en la zona bananera de Urabá.

4.1.4. Conclusiones

- En una primera aproximación la medición de la humedad del suelo con el sensor Drill & Drop Sentek, permite la realización de un monitoreo en tiempo real. El cual muestra que los suelos en época de lluvia permanecen cercanos a condición de saturación, lo que podría ser responsable de incrementos de desbordes fisiológicos en la planta y fruta, como agobio, arremollamiento, mancha de madurez, así como baja absorción de nutrientes, principalmente de elementos secundarios y micro elementos tales como Calcio (Ca), Boro (B), Zinc (Zn), Magnesio (Mg), nutrientes que generalmente poseen baja o escasa movilidad; para evitar este tipo de stress.
- La serie de datos de monitoreo de humedad en el suelo es corta, seis meses, en la medida que la serie sea más larga, sus análisis permitirán realizar conclusiones más fuertes, aunque partiendo que la serie es corta, que se presentó un semestre muy lluvioso, con lluvias extremas (>80 mm) muy frecuentes, deslumbra que el nivel freático estuvo elevado, lo que se recomienda, fortalecer estas observaciones con el seguimiento de los pozos de nivel freático, y si es necesario realizar adecuaciones de los drenaje. Tener en cuenta que, en época de estiaje o periodos secos, el drenaje deba ayudar a mantener la humedad en el suelo.

4.1.5. Referencias bibliográficas

- Allen, R. G. (1998). *Crop Evapotranspiration—Guidelines for Computing Crop Water Requirements*. Rome, Italy: (FAO Irrigation and Drainage Paper No 56 ed.).
- Beljaars, A., V. P., Miller, M., & Betts, A. (1996). The anomalous rainfall over the united states during july 1993: Sensitivity to land surface parameterization and soil moisture anomalies. . *Monthly Weather Review*.
- Chen, X., Zhang, Z., & Shi, P. (2009). The impact of land use and land cover changes on soil moisture and hydraulic conductivity along the karst hillslopes of southwest china. . *Environmental Earth Sciences* .
- Engman, T. (1991). Application of microwave remote sensing of soil moisture for water re- sources and agriculture. . *Remote Sensing of Environment*.
- Fu, B.-J., Wang, J., Chen, L.-D., & Qiu, Y. (2003). The effects of land use on soil moisture variation in the danangou catchment of the loess plateau, China. *CATENA*.
- Hernandez, F., & Diaz, E. (2021). *Tesis postgrado: Evaluación de métodos agroclimáticos para la estimación oportuna de las condiciones de humedad superficial del suelo en zonas agrícolas de Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Jensen, M. E., & Allen, R. G. (2016). *Evaporation, Evapotranspiration, and Irrigation Water Requirements. ASCE Manuals and Reports on Engineering Practice No. 70*. American Society of Civil Engineers.
- Liu, M., Wang, Q., Guo, L. Y., Lin, H., Zhu, Q., Fan, B., & Zhang, H. (2020). Influence of canopy and topographic position on soil moisture response to rainfall in a hilly catchment of three gorges reservoir area, china. . *Journal of Geographical Sc.*
- Pessl Instruments GmbH. (2021, 12 23). *FieldClimate*. Retrieved from <https://metos.at/es/fieldclimate/>
- Yetbarek, E., & Ojha, R. (2020). Spatio-temporal variability of soil moisture in a cropped agricultural plot within the ganga basin, india. *Agricultural Water Management*.
- Zhu, H., Hu, S., Yang, J., Karamage, F., Li, H., & Fu, S. (2019). Spatio-temporal variation of soil moisture in a fixed dune at the southern edge of the gurbantunggut desert in xinjiang, China. . *Journal of Arid Land*.

4.2. MODELO DE RADIACIÓN FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVA

Autores: Eliecer David Díaz Almanza, Franklin Palacios Zapata y Sebastian Zapata Henao

4.2.1. Introducción

Se parte del supuesto fundamental que existe una estrecha relación entre las horas luz, la radiación solar (R_s) en el espectro visible y la Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR), de ésta con la actividad fotosintética de la planta y de esta última con la acumulación de biomasa (Riaño, y otros, 2005). La activación de enzimas foliares relacionadas con el metabolismo del carbono (Voskesenskaya, 1979, Gilmartin et al., 1985; Tobin y Silverthorne, 1985, citados por (Ramirez, 2014)), así como la tasa de producción de fotosintéticos, está estrechamente dependiente de la radiación solar incidente. Esta variable tiene un rol muy importante en la foto morfogénesis, es decir en el crecimiento, desarrollo y formación de la arquitectura de la planta, por ende, de la acumulación de biomasa y formación de su rendimiento o fruto, que es influenciada por la calidad y/o intensidad de la radiación de manera independiente de la fotosíntesis (Kasperbauer y Hunt, 1992, citada por (Ramirez, 2014)).

El fruto de una planta está en función de la eficiencia de conversión de radiación fotosintéticamente activa interceptada en foto asimilados y varía, dependiendo de las condiciones en que se cultiva (Behling, y otros, 2015). Por tal motivo, se propone desarrollar un modelo Radiación fotosintéticamente activa, en función de la radiación solar de onda corta en el espectro visible, el cual nos permite ampliar el conocimiento de esta variable zonas a partir de la R_s .

4.2.2. Materiales y métodos

Con base en 6505 observaciones horarios de Radiación solar ($W \cdot m^{-2}$) (R_s) de onda corta en el espectro visible (400–700 nm), y Radiación fotosintéticamente activa ($\mu Mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) (PAR) medidas en la estación Américas, perteneciente la red bananera de Urabá, de propiedad de Uniban. El modelo se construyó con datos entre el 1 de febrero de 2021 de la 00.00 hasta el día 31 de octubre de 2021 a las 23:00. Descargados de la plataforma Fieldclimate (**Figura 1**).

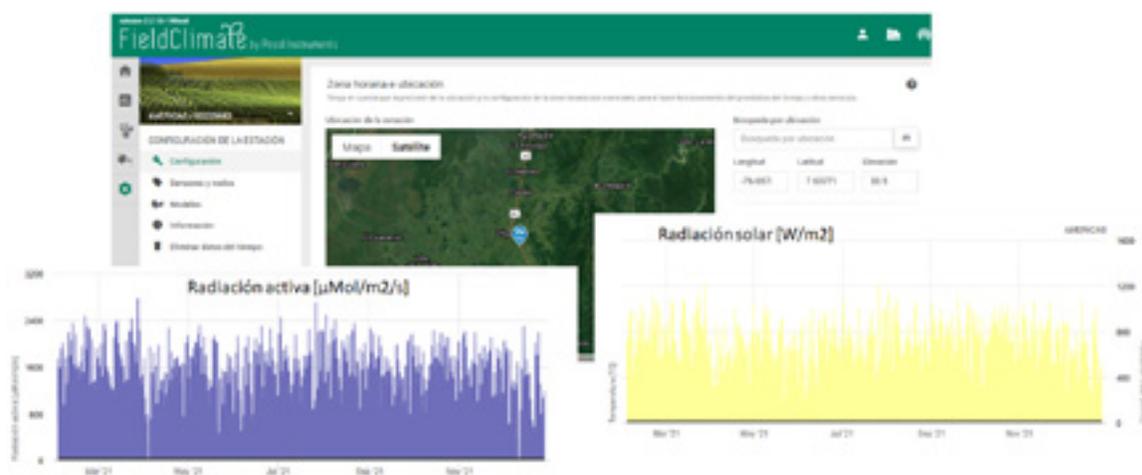


Figura 1. Ubicación de la estación América (Uniban), y serie de datos de radiación solar y activa. Fuente: Fieldclimate-Uniban. Cenibanano.

Se utilizó el software Statgraphics XVII - X64, el cual es una potente herramienta de análisis de datos que combina una amplia gama de procedimientos analíticos con extraordinarios gráficos interactivos para proporcionar un entorno integrado de análisis que puede ser aplicado en cada una de las fases de un proyecto.

La validación se realizó con 1098 datos los cuales no hicieron parte en la construcción del modelo entre el día 1 de noviembre de 2021, a las 00:00 hasta el 17 de diciembre de 2021 de las 14:00:00.

4.2.3. Resultados y discusión.

En la **tabla 1**, se presenta el listado de modelo evaluados para la estimación de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en función de la radiación solar (R_s) de onda en el espectro visible.

Tabla 1. Comparación de modelos alternativos

<i>Modelo</i>	<i>Correlación (r)</i>	<i>R²</i>
Double square root	0.9943	98.87%
Linear	0.9861	97.25%
Double squared	0.9717	94.42%
Square root-X	0.9568	91.55%
Square root-Y	0.9488	90.03%
Squared-Y	0.9321	86.88%
Squared-X	0.9205	84.74%
Squared-Y square root-X	0.8292	68.75%
Square root-Y squared-X	0.8129	66.07%
Exponential	<no fit>	
Reciprocal-Y	<no fit>	
Logarithmic-Y square root-X	<no fit>	
Reciprocal-Y square root-X	<no fit>	
Logarithmic-X	<no fit>	
Square root-Y logarithmic-X	<no fit>	
Multiplicative	<no fit>	
Reciprocal-Y logarithmic-X	<no fit>	
Squared-Y logarithmic-X	<no fit>	
Reciprocal-X	<no fit>	
Square root-Y reciprocal-X	<no fit>	

S-curve model	<no fit>	
Double reciprocal	<no fit>	
Squared-Y reciprocal-X	<no fit>	
Logarithmic-Y squared-X	<no fit>	
Reciprocal-Y squared-X	<no fit>	
Logistic	<no fit>	
Log probit	<no fit>	

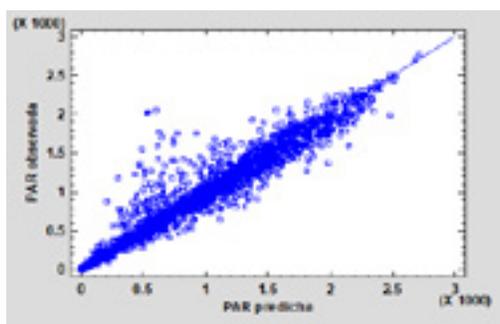
El mejor modelo fue el de raíz cuadrada doble (Double square root) (Ec 1), el cual explica en un 98.9% la PAR, en función de Rs, con una probabilidad de significancia del $p < 0.05$ (**Tabla 2**).

$$PAR = (b + m * \sqrt{Rs})^2 \quad \text{ec. 1}$$

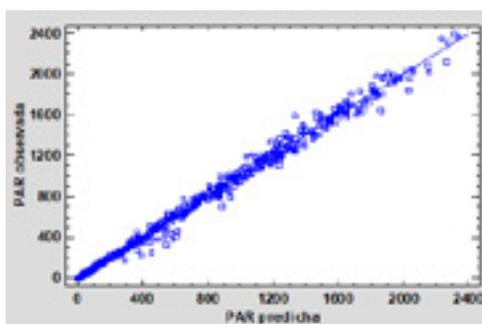
Donde b es igual 0.0261728 y m es igual a 0.00196743

Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P Value
Model	1.50657E6	1	1.50657E6	568585.90	0.0000
Residual	17230.8	6503	2.64967		
Total (Corr.)	1.5238E6	6504			



a) Diagnostico



b) Validación

Figura 13. Relación de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en función de la radiación solar (Rs) de onda en el espectro visible.

En la **figura 13a**, se aprecia la relación de los datos PAR estimados o pronosticados con el modelo, y las observaciones medidas in situ. En el diagnóstico se aprecia una dispersión en valores entre 250 y 350 $\mu\text{Mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, valores que corresponden normalmente a un rango de radiación solar entre 100 y 200 $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$; sin embargo, en este caso los valores de Rs eran menores de 100 $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$. En cambio, que la validación se realizó con 1098 datos de observaciones de PAR, los cuales los datos modelizados explican las observaciones en 99.5% (**Figura 13b**).

4.2.4. Conclusión

El modelo raíz cuadrada doble (Double square root), el cual explica y pronostica en un 98.9% datos horarios de radiación fotosintéticamente activa (PAR) en función de la radiación solar (Rs) de onda en el espectro visible.

4.2.5. Referencias bibliográficas

- Behling, A., Sanquetta, C., Dalla, A., Caron, B., Arlindo, A., . . . Schmidt, D. (2015). Conversion efficiency of photosynthetically active radiation intercepted in biomass in stands of black wattle in Brazil. . *BOSQUE* 36(1): , 61-69, DOI: 10.4067/S0717-92.
- Ramirez, C. (2014). *Determinación de los patrones de interceptación de radiación solar y estados fenológicos a partir de la acumulación térmica en híbridos de Pimentón*. Bogotá.: Universidad de ciencias aplicadas y ambientales (UDAA).
- Riaño, N. M., Tangarife, G., Osorio, I. O., Giraldo, J. F., Ospina, C. M., . . . Jaramillo, L. F. (2005). *Modelo de crecimiento y captura de carbono para especies forestales en el trópico*. Manizales, Caldas, Colombia: Centro Nacional de Investigaciones de Café (CENICAFÉ - FNC).

4.3. MODELO DE SIGATOKA NEGRA Y CLIMA

Autores: Eliecer David Díaz Almanza, Franklin Palacios Zapata, Vicente Rey Valenzuela y Sebastian Zapata Henao

Resumen

La sigatoka negra, es causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, la cual es una de las principales limitaciones importantes para la producción mundial de banano, las condiciones meteorológicas modulan la presión de ella. Por tal fin, se planea establecer indicadores meteorológicos que permitan la toma de decisiones en la realización de prácticas y controles preventivos ante el seguimiento de la severidad de la enfermedad de la sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) en banano (*Musa AAA*) en la subregión de Urabá-Colombia. A partir de índices meteorológicos que representen las condiciones de oferta y demanda hídrica, condiciones térmicas y radiación solar, de la semana, se analizaron la influencia de las condiciones meteorológicas hasta ocho semanas atrás, la presión de la enfermedad, a través del índice promedio ponderado de infección. Los resultados indican una relación que explica un 45% la variabilidad del PPI, en función las condiciones meteorológicas. Condiciones lluviosas, nubladas siete y ocho semanas atrás favorecen la presión de la enfermedad de la sigatoka negra, así como días fríos o baja acumulación de unidades de calor una, dos y tres semanas atrás; y niveles de radiación altos e intensos en las mismas semanas también favorecen la presencia de la enfermedad, así mismo lloviznas que sean interceptadas por la hoja y formen una película de agua en ella.

4.3.1. Introducción

La sigatoka negra, es causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, la cual una limitación importante para la producción mundial de banano, su control representar costos de producción superiores al 27%, y pérdidas en el rendimiento de hasta el 30% (Stover, 1986; Marín, Romero, Guzmán, & Sutton, 2003). Los métodos de control típicamente usados, son controles químicos, que son preventivos o sistémicos, que son usados para prevenir o manejar la enfermedad, respectivamente. Los cuales son usados según el nivel de presión de la enfermedad. En la finca se realiza un manejo con labores culturales.

No existen unos criterios o indicadores que ayuden al pronóstico de presión de la enfermedad, especialmente en función de las condiciones meteorológicas dado que la enfermedad es modulada por el ambiente. Por tal motivo surge la pregunta ¿Cómo a partir de información meteorológicos se puede tomar decisiones para la realización de prácticas y controles preventivos ante la severidad de la enfermedad de la sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) en banano (*Musa AAA*)?. Esto permite plantear el siguiente interrogante, ¿Cómo se pueden parametrizar los modelos a partir de datos que con demasiada frecuencia son limitados?

En la medida que los diferentes aspectos de la compleja biología subyacente a la propagación deben ser capturados en los modelos, puede no estar claro, y esta ambigüedad en lo que debe representarse naturalmente conduce a un enfoque en la parsimonia del modelo. También se requieren métodos para propagar las incertidumbres en la estructura del modelo y/o los valores de los parámetros a la incertidumbre del pronóstico, independientemente de si el patógeno tiene un huésped vegetal, humano o agrícola o animal silvestre. La estructura subyacente de los modelos epidemiológicos, y las preguntas que los modelos pueden utilizar para abordar, no dependen

necesariamente del organismo huésped en cuestión. Por tal razón, se plantea establecer indicadores meteorológicos que permitan la toma de decisiones en la realización de prácticas y controles preventivos ante el seguimiento de la severidad de la enfermedad de la sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) en banano (*Musa AAA*) en la subregión de Urabá-Colombia.

4.3.2. Materiales y métodos

En el presente estudio se utilizó información meteorológica recopilada entre la semana 44 de 2015 y la semana 30 de 2021, de las variables de precipitación (PPT) en milímetros (mm), número de días con lluvias (>1mm) en la semana (nd), temperatura máxima (T máx.) y mínima (T mín.) en grados Celsius (°C), brillo solar (Br.S) en horas luz por días (hr*día⁻¹), o radiación solar en (MJ*m⁻²*día⁻¹), humedad relativa (HR) en porcentaje (%) y la magnitud de la velocidad del viento (Vv), en metros por segundo (m*s⁻¹), en escala temporal diario, registrados en estaciones meteorológicas de la red nacional de Colombia, administrada por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) y ubicadas en el la zona bananera centro de Urabá, y una estación automática con registros desde el 1 de enero de 2019 (Tabla 1).

Con base en los indicadores meteorológicos propuesto por (Cleves, Ramirez, & Díaz, 2021) se ajustó la ecuación 2. Donde incluye el número de eventos de la lluvia (>1 mm) (nd) en la semana.

$$IHa = \left[\sum_{i=1}^7 \left(\frac{PPT}{ETo} \right)_i * \frac{nd}{7} \right]_j \quad \text{ec. 2}$$

Evapotranspiración de referencia del cultivo (**ETo**), en mm*mes⁻¹ se estimó a través del método de Penman Monteith -FAO, en mm (Allen, 1998)), el cual a partir de las variables climáticas de Tmáx, Tmín, HR, Br.S y Vv..

Con base en la ecuación propuesta por Owens y Moore, (1974, citado por (Cleves, Ramirez, & Díaz, 2021)), para estimar unidades de calor, y el índice propuesto por (Cleves, Ramirez, & Díaz, 2021)), se construyó el índice de la ecuación 3, que relacione las unidades de calor acumuladas en la semana.

$$IUC = \left[\sum_{i=1}^7 \frac{(Tmáx - Tmín)_i}{189} \right]_j \quad \text{ec 3}$$

El valor de 189 es constante y representa los grados días acumulado (°C) en una semana respecto a la temperatura óptima para el cultivo de banano de 27 °C, según (Soto, 2014).

En el presente trabajo se propone un índice de brillo solar (ecuación 3), donde es se relaciona la suma de las horas luz acumuladas en la semana. El valor de 35, hace referencia al acumulado de

horas luz fotosintéticamente activas, que es el límite mínimo del rango óptimo para el cultivo del banano acumulados en siete días, es decir en promedio es $5 \text{ hr} \cdot \text{día}^{-1}$ (Soto, 2014)

$$IBr . S = \left[\sum_{i=1}^7 \frac{Br . s_i}{35} \right]_j \quad \text{ec. 4}$$

Los índices propuestos se construyen con datos diarios, pero representan una escala temporal de siete días, entre lunes a domingo, según se establece para la semana bananera. Así mismo, estos índices permiten normalizar las variables meteorológicas y la realización de análisis aplicado estadística paramétrica y no paramétrica. Los análisis y modelos se realizaron con ayuda del software Statgraphics XVII - X64.

La información de seguimiento de la enfermedad de sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*), se realizó a través del índice promedio ponderado de infección (**PPI**), propuesto Stover (1989), modificado por (Gauhl, 1989)

$$PPI = \frac{\Sigma(\% \text{ hojas en cada grado} * \text{ grado respectivo})}{100}$$

ec. 5

Dónde: PPI es promedio ponderado de infección y % Hojas en cada grado es el porcentaje de hojas infectada por grado

El cálculo del PPI (ec.5) se realizó para 10 plantas seleccionadas aleatoriamente, en el estado de prefloración, en intervalos de evaluación regular semanal, hechas a partir de la semana 4 de 2016 hasta la semana 30 de 2021, en 10 parcelas distribuidas en 28 hectáreas netas cultivas con banano. El procesamiento y análisis de la información se hizo de la siguiente manera:

- Se construye un historial semanal de la finca a partir de la mediana de los PPI de cada parcela.
- Se constituyen series de los índices meteorológicos semanales usando las ecuaciones 2, 3 y 4.
- Se realizan correlación de Pearson y rango de Spearman, con un rezago de ocho (8) semanas entre los índices meteorológicos y PPI, es decir los registros meteorológicos de seis semanas atrás como influyen en la enfermedad en la semana actual.
- Se realizar un análisis de interacción con las variables meteorológicas con correlaciones significativas ($p < 0.1$), con el objeto de establecer que variable y rezago explican y pronostica la severidad de la enfermedad.
- Se construye un modelo con las mejores variables y rezagos significativos ($p < 0.1$).
- La estimar la confiabilidad (consistencia) de los datos se calcula el estadístico alfa de Cronbach, el cual indica que alfa igual a 0,7 o mayor representa un conjunto confiable de variables.

4.3.3. Resultados y discusión

En la **tabla 1**, se presenta los resultados de las correlaciones de Pearson y Spearman, entre los índices meteorológicos hasta con ocho semanas rezagos, con el PPI, de los cuales se tomaron seleccionaron las variables con probabilidad significativas ($p < 0.1$), es decir con un nivel de significación del 90%.

Tabla 1. Correlación de Pearson y Spearman entre los índices meteorológicos y el índice del promedio ponderado de infección (PPI)

Índice meteorológico		Pearson	Spearman
		PPI	PPI
IHa-1	Correlación	-0.1410	-0.1291
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0709	0.0983
IUC-1	Correlación	-0.3398	-0.3449
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0000	0.0000
IBr.s-1	Correlación	0.2886	0.3047
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0002	0.0001
IHa-2	Correlación	-0.0511	-0.0315
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.5145	0.6871
IUC-2	Correlación	-0.3575	-0.3859
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0000	0.0000
IBr.s-2	Correlación	0.2487	0.2678
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0013	0.0006
IHa-3	Correlación	-0.0231	0.0272
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.7683	0.7276
IUC-3	Correlación	-0.3302	-0.3871
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0000	0.0000

IBr.s-3	Correlación	0.1863	0.1915
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0166	0.0142
IHa-4	Correlación	0.0179	0.0794
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.8190	0.3093
IUC-4	Correlación	-0.2742	-0.3385
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0004	0.0000
IBr.s-4	Correlación	0.0946	0.1224
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.2266	0.1170
IHa-5	Correlación	0.0591	0.1229
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.4509	0.1155
IUC-5	Correlación	-0.3236	-0.3581
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0000	0.0000
IBr.s-5	Correlación	0.0431	0.0581
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.5823	0.4572
IHa-6	Correlación	0.1038	0.1998
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.1846	0.0105
IUC-6	Correlación	-0.3090	-0.3848
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0001	0.0000
IBr.s-6	Correlación	-0.0415	-0.0094
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.5966	0.9039
IHa-7	Correlación	0.2160	0.3165
	# datos	(165)	(165)

	Probabilidad	0.0053	0.0001
IUC-7	Correlación	-0.2719	-0.3486
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0004	0.0000
IBr.s-7	Correlación	-0.0489	-0.0080
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.5330	0.9182
IHa-8	Correlación	0.2459	0.3380
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0015	0.0000
IUC-8	Correlación	-0.2240	-0.3150
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0038	0.0001
IBr.s-8	Correlación	-0.1398	-0.1008
	# datos	(165)	(165)
	Probabilidad	0.0733	0.1969

Se encontraron 16 variables con el nivel de significancia ($p < 0.1$) establecido, el índice hídrico es inversamente proporcional con una significancia débil ($p < 0.1$) a una semana, y directamente proporcional con una significancia fuerte ($p < 0.05$) a siete y ocho semanas de rezago.

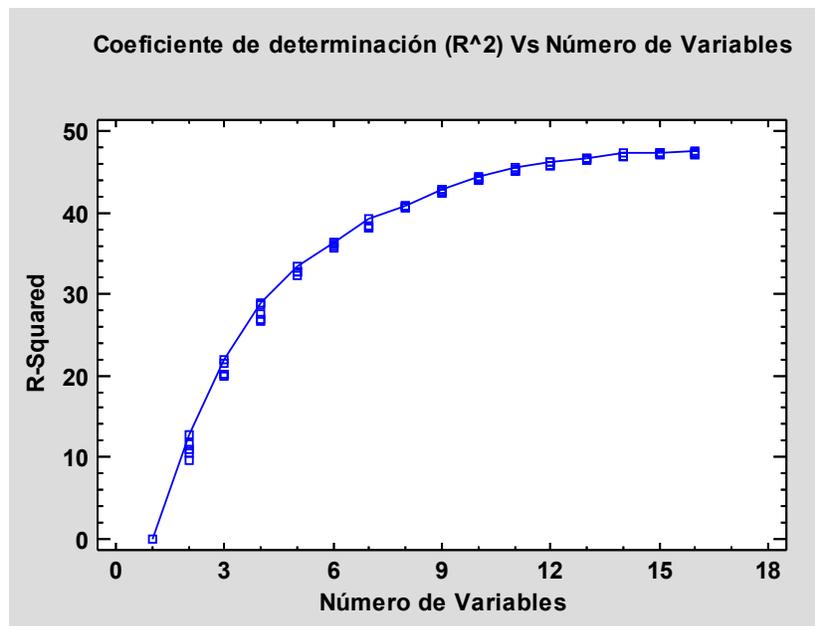


Figura 1. Coeficiente de determinación más altos de modelos con el mayor número de variables.

En la **figura 1** se muestra los resultados de ajustar varios modelos de regresión múltiple para describir la relación entre PPI y 16 variables de índices meteorológicos predictores. Se han ajustado modelos que contienen todas las combinaciones de 0 a 15 variables, por ello se realizaron 65535 interacciones (modelo). En la **figura 1** se presentan los R², más altos en función del modelo de regresión construidos. El mayor coeficiente se obtiene con la combinación de 13 variables de índices meteorológicos independientes evaluados, con los cuales se construirá el modelo de pronóstico (Ec 6).

Modelo	Constante	
$PPI [PPT, ETO, nd, Tmax, Tmin, Br.S] = x_1 + x_2 * F(PPT, ETO) + x_3 * G(Tmáx, Tmín) + x_4 * H(Br.S)$	$x_1 = -1.24467$ $x_2 = 0.623381$ $x_3 = 0.970901$ $x_4 = 0.824398$	Ec. 6
$F(PPT, ETO, nd) = y_1 + y_2 * IHaj_{-1} + y_3 * IHaj_{-7} + y_4 * IHaj_{-8}$	$y_1 = 0.839162$ $y_2 = -0.0185853$ $y_3 = 0.0225424$ $y_4 = 0.016426$	Ec. 7
$G(Tmáx, Tmín) = z_1 + z_2 * IUC_{-1} + z_3 * IUC_{-2} + z_4 * IUC_{-3} + z_5 * IUC_{-5}$	$z_1 = 6.58986$ $z_2 = -1.7088$ $z_3 = -1.33552$ $z_4 = -1.37332$ $z_5 = -1.1337$	Ec. 8
$H(Br.S) = w_1 + w_2 * IBr.s_{-1} + w_3 * IBr.s_{-2} + w_4 * IBr.s_{-3} + w_5 * IBr.s_{-8}$	$w_1 = 0.743007$ $w_2 = 0.141615$ $w_3 = 0.0753746$ $w_4 = 0.089274$ $w_5 = -0.126083$	Ec. 9

En modelo de la ecuación 6, explica un 45% la variabilidad del PPI, en función de las ecuaciones 7, 8 y 9. Este modelo tiene un Error medio absoluto de 0.130894 y un análisis de varianza con una probabilidad significativa ($p < 0.05$) (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza del modelo de la ecuación 6

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Model	4.0259	3	1.34197	45.80	0.0000
Residual	4.89316	167	0.0293004		
Total (Corr.)	8.91906	170			

El restante %, es explicado por los controles químicos, y labores culturales realizadas en la finca, y otros manejos agronómicos (nutrición de la planta, tipo de clon, riego y drenaje, manejo de arvenses, entre otros) así como la influencia que puede tener el viento en la reproducción sexual. Es de anotar, que los factores meteorológicos, manejo agronómico, y controles por fumigaciones aéreas y labores culturales son independientes; sus interacciones son dinámicas y no lineales, lo que hace que la presión de la enfermedad tenga comportamientos variables en lotes y finca.

El modelo indica que condiciones húmedas, siete (7) y ocho (8) semanas atrás, favorecen la presión o severidad de la enfermedad, siendo la semana más influyente la semana siete. Sin embargo, condiciones con bajos volúmenes de lluvias una semana atrás (Ec 7), pero con presencia de lloviznas, que permitan que las hojas intercepten lluvia, favorecen la intensidad de la presión de la enfermedad. Esta lámina de agua interceptada, genera una película que favorece la reproducción asexual de la enfermedad.

Baja acumulación de unidades de calor una, dos, tres y cinco semanas atrás, favorece la presencia de la enfermedad, esta condición es característica de semanas nubladas o parcialmente nublado, días fríos o no tan cálidos (Ec 8). Aunque si estas semanas se presentan altos niveles de radiación solar, favorece la presión de la enfermedad, especialmente una semana atrás. Sin embargo, niveles bajos de radiación ocho semanas atrás favorece la enfermedad.

En la **figura 2** y **figura 3**, se presenta los resultados del diagnóstico y validación del modelo de la ecuación 6, respectivamente. En ellas se puede apreciar que valores de PPI entre 0.3 y 0.8, el modelo sobreestima, el modelo indica que las condiciones presentadas en las semanas previas favorecerían la presión de la enfermedad; sin embargo, las observaciones en campo mostraron presión más baja, lo anterior es posible que se debió a que las labores culturales y fumigaciones fueran eficientes. En cambio, el modelo pronóstico muy bien valores de PPI mayores de 0.8.

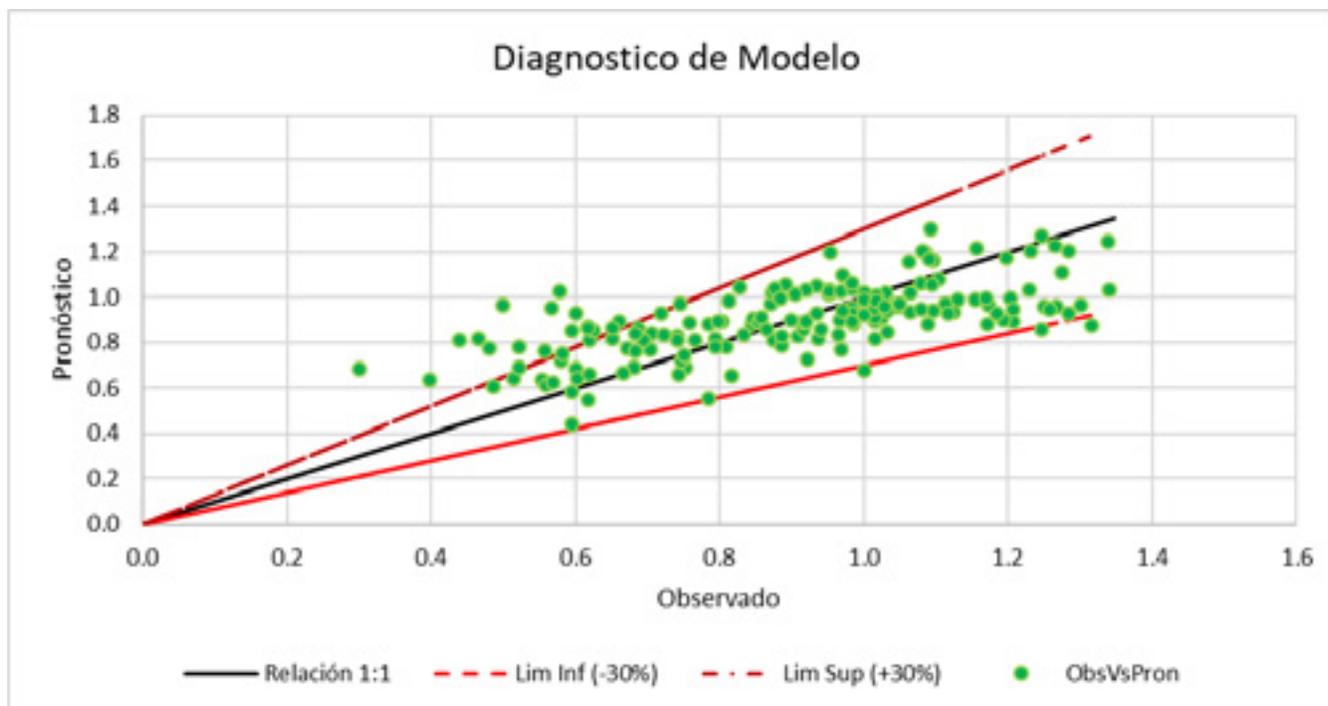
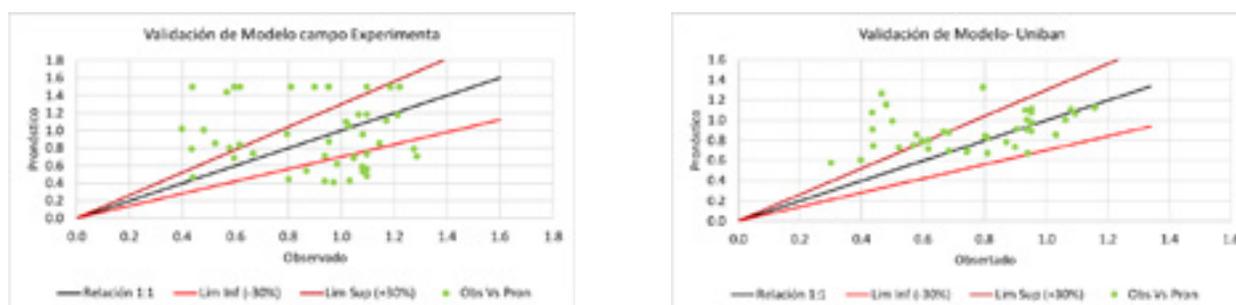


Figura 2. Diagnóstico del modelo ecuación 6, con base en datos de la estación Apto Los Cedros versus observaciones del campo experimental



- a) Estación Automática-Finca Campo experimental b) Estación Uniban-IDEAM

Figura 3. Validación del modelo ecuación 6, versus observaciones del campo experimental

El análisis de confiabilidad (consistencia) de los datos PPI, observados y estimados tienen valores de alfa de Cronbach, igual a 0,724093, el cual es mayor que 0,7, el cual indican que ambas series representan un conjunto de datos confiables.

4.3.4. Conclusión

- Condiciones meteorológicas lluviosas, nubladas siete y ocho semanas atrás favorecen la presión de la enfermedad de la sigatoka negra, así como días fríos o baja acumulación de unidades de calor una, dos y tres semanas atrás; y niveles de radiación altos e intensos en las mismas semanas también favorecen la presencia de la enfermedad, así mismo lloviznas que sean interceptadas por la hoja y formen una película de agua en ella.
- El modelo en función de precipitación, evapotranspiración, número de días con lluvia, temperatura del aire, y radiación solar, explica en un 45%, la presión de la enfermedad de sigatoka negra; dicha relación es no lineal, dinámica y acoplada entre sí, y con otros factores como laborales culturales, controles químicos, y manejo agronómico del cultivo.
- Se recomienda, ampliar el estudio usando más fincas y estaciones meteorológicas, es importante que los datos tengan un alto grado de confianza.

4.3.5. Referencias bibliográficas

- Allen, R. G. (1998). *Crop Evapotranspiration—Guidelines for Computing Crop Water Requirements*. Rome, Italy: (FAO Irrigation and Drainage Paper No 56 ed.).
- Cleves, J., Ramirez, L., & Díaz, E. (2021). Proposed empirical model for estimating 'Valencia' orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) productivity in the Colombian low tropics. *REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS HORTÍCOLAS - Vol. 15 - No. 3, e10860, September-December 2021e-ISSN: 2422-3719 • ISSN-L: 2011-2173*.
- Gauhl, F. (1989). Epidemiology and ecology of black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on Plantain and Banana (*Musa* spp) in Costa Rica, . *Central America. INIBAP, Goettingen, Germany*.
- Marín, D., Romero, R., Guzmán, M., & Sutton, T. (2003). Sigatoka negra: una amenaza creciente para el cultivo del banano . . *Plant Dis . , 87 (3): 208-22. 10.1094 / PDIS.2003.87.3.208* .
- Stover, R. (1986). Estrategias de manejo de enfermedades y supervivencia de la industria bananera . *Annu Rev Phytopath . , 24 (1): 83-91*.

4.4. RED AGROMETEREOLÓGICA BANANERA

Autores: *Eliecer David Díaz Almanza, Franklin Palacios Zapata y Sebastian Zapata Henao*

Resumen

La limitación en el acceso y oportunidad en la información meteorológica y climática en el sector bananero ha ocasionado que se tomen decisiones con una baja comprensión de la influencia del clima en el sistema productivo, desde desarrollo, manejo agronómico y producción del mismo. En la última década se ha vislumbrado la necesidad de entender los cambios en las tendencias de las variables meteorológicas, debido al incremento en la recurrencia de eventos extremos y adversos tanto meteorológicos como climáticos, algunos asociados a fenómenos de variabilidad climática como el ENSO (Ciclos El Niño-La Niña), a los cuales se le asocia afectaciones negativas en la producción bananera. Por tal motivo se diseña e implementa una red agrometeorológica para fines del cultivo de banano en la zona de Urabá para monitoreo de variables meteorológicas y su posterior análisis del clima, como insumos para la toma de decisiones, en la planificación a corto, mediano y largo plazo, así como ayude al establecimiento de medidas de adaptación al cambio climático. Esta red es la base de información in situ para la implementación de los servicios climáticos en el sector bananero, en cual integra información medida, estimada o sintética, así como modelizada, la cual sea transformada en agroclimática, relacionando el clima con el sistema productivos, y sus afectaciones positivas y negativas. Con base en análisis se realizan recomendaciones de manejo las cuales sean realizados y discutidas por expertos del sector. Por ello se plantea el establecimiento de mesas técnicas agroclimáticas (MTA) e, la zona bananera de Urabá; la cual es una iniciativa apoyada por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). La información meteorológica y climática y debe ser transformada en productos que sean de fácil entendimiento para sus potenciales usuarios y beneficie la toma de decisiones en la producción bananera. La comunicación y divulgación de ella en un lenguaje claro y de fácil comprensión es vital para un eficiente servicio climático, por ello los boletines agroclimáticos y ceninotas son una herramienta encaminada a este fin, los cuales impactaron en el año 2021 a un total de 1125 personas en las regiones productoras del Urabá y Magdalena. Se espera continuar con sus emisiones, mejorando continuamente su visualización para garantizar el óptimo entendimiento de sus consumidores.

4.4.1. Introducción

Incertidumbre y riesgo se encuentran presentes en todo momento en la agricultura, para la generación de técnicas que se adapten a estos cambios del clima, es vital entender el comportamiento y la distribución espacio temporal de las variables climáticos (Ramírez, Trujillo, Soria, & Fernández, 2004), como precipitación, temperatura, evapotranspiración, radiación solar, velocidad del viento, y su relación con el sistema productivo. Como antecedentes, se tiene eventos de variabilidad climáticas como el fenómeno El Niño oscilación sur (ENSO, por sus siglas en ingles), en su fase “La Niña” del periodo 2010-2011, que influenció sobre el norte, y centro del país que se presentaran condiciones muy lluviosas, las cuales ocasionaron inundaciones y excesos hídricos, generando pérdidas parciales o totales en el sector agropecuario, según CEPAL (CEPAL, 2012) se estimada pérdidas del 387.5 millones de pesos en cultivos transitorios y 306 millones de pesos en cultivos perennes, impactos de los cuales no ha sido ajeno el cultivo de banano. Pero también, se han presentado escenarios de déficits de precipitación y el aumento en las temperaturas que han

afectado de manera negativa en la producción bananera en la región de Urabá y Magdalena (Toro, Arteaga, Vázquez, & Ibáñez, 2016).

Adicionalmente, la distribución de la precipitación espacialmente en la zona bananera de Urabá es significativamente variable, con valores anual-multianual entre norte y sur de 2400 mm a 4000 mm, distribuidos en 9 meses del año. Así mismo en la zona bananera de Magdalena oscila entre 800 a 1600 mm, respectivamente.

Esta variabilidad espacio-temporal del clima, genera una necesidad de tener bases de datos que permitan cuantificar adecuadamente esta variación. La disponibilidad de información climática en la región es limitada, y las tendencias de información climática internacional hacen referencia a registrar variables climáticas básicas como precipitación y temperatura máxima y mínima (Ruiz, Medina, & García, 2018). La planificación y operación de muchas actividades humanas, entre estas la agricultura, depende de información generada por datos climáticos, registrados en diferentes tipos de estaciones meteorológicas (Andrade, Silva, Trindade, & Nabias, 2018). Por esta razón, se genera la necesidad de implementar una red agroclimática para el subsector bananero de Urabá, que abarque los cuatro (4) municipios y las tres (3) zonas productoras.

Adicionalmente con la finalidad de reducir estos impactos y generar insumos que ayuden los productores anticiparse y generar estrategias de adaptativas o mitigación para los cambios esperados en el clima a nivel local, se crean las Mesas Técnicas Agroclimáticas (MTA). Las cuales integran actores del sector agropecuario a nivel nacional, departamento y local, apoyados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), IDEAM, autoridades gubernamentales departamentales y locales, gremios, universidades, entre otros actores, las cuales tiene la finalidad de apoyar el mejoramiento y optimización de la producción y los rendimientos agrícolas en las regiones del país, mediante un trabajo interdisciplinario y de modo participativo entre técnicos y comunidades (Mayorga & Boshell, 2015).

La producción de banano es muy sensible a la variabilidad climática, por lo esto, la importancia de fomentar el fortalecimiento, de la red agrometeorológica la transformación de esta información y su respectivo uso para la toma de decisiones, con la creación de la MTA para la región de Urabá, se dispondrá de una herramienta más, para que los tomadores de decisión agroclimáticas planificadas con informados presente y futura en el manejo del cultivo.

4.4.2. Red agrometeorológica bananera

La red agrometeorológica del sector bananero abarca los cuatro (4) municipios de la región de Urabá, ubicada en el departamento de Antioquia, Colombia (**Figura 1**). Las estaciones están distribuidas de forma equitativa en toda la zona bananera de la región, y cumplen los criterios de instaladas para fines agrícolas, siendo esta una red representativa para el servicio sector bananero.

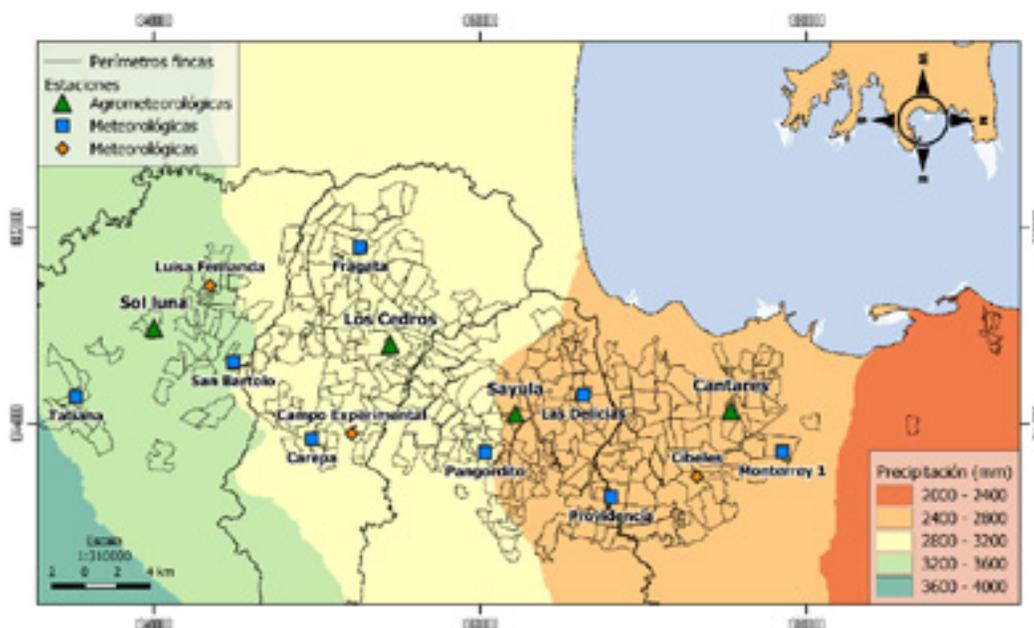


Figura 1. Ubicación de estaciones red agrometeorológica del sector bananero, administrada por Cenibanano

La red está compuesta por cuatro (4) estaciones agrometeorológicas que miden las siguientes variables: precipitación, temperatura del aire, humedad atmosférica (relativa, y temperatura de rocío, presión de vapor), radiación solar, velocidad del viento (magnitud y dirección); temperatura y humedad del suelo, en los primeros 90 cm de profundidad. La ETo la estiman usando el método de Penman-Monteith- FAO. También se instalaron ocho estaciones meteorológicas complementarias a las agrometeorológicas, en cada una de estas últimas, en un radio de ciento (5) kilómetros (km), se instalaron dos de estas estaciones complementarias, las cuales miden precipitación, temperatura del aire, humedad atmosférica (relativa, y temperatura de rocío, presión de vapor).

Las directrices de la Organización Meteorológica Mundial (OMM) (OMM, 2010; WMO, 2012; WMO, 2008; WMO, 1992) y El Instituto De Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), indican que cada estación con fines agrometeorológicos debe contar con espacio sin obstáculos naturales (árboles, cuerpos de agua, entre otros), o artificiales como construcciones u otros. Para respetar esta directriz se realizó la construcción de un jardín meteorológico con malla metálica, para protección y seguridad de ellas. Este jardín cuenta un área a de 3x3 metros en las agrometeorológicas y de 2x2 metros para las meteorológicas.

Estas estaciones transmiten los datos medidos in situ, a través de tecnología GRPS directamente a la plataforma FieldClimate (<https://ng.fieldclimate.com/auth/login?returnUrl=%2Fdashboard>), la cual es de acceso gratuito para todos los asociados de Augura. Por tal motivo se requiere simcard, con un paquete de datos básicos, el cual se realiza el pago mensual, costos que asume Cenibanano-Augura. Estas simcards se adquirieron con el operador de servicios móviles Claro, el cual presenta la mejor señal en las 12 ubicaciones.

Se resalta que inicialmente se contemplaron estaciones meteorológicas LoRAIN con tecnología LoRaWAN, la cual envía los datos a través de señales a una antena receptora, que luego transmite a la plataforma FieldClimate. Esta tecnología no fue compatible en la zona por diferentes condiciones, principalmente meteorológicas (alta nubosidad). Los equipos no lograron conectarse

más de 24 horas en la plataforma, por lo tanto, se decidió cambiarlos por los iMetos ECO D3, los cuales usan la misma tecnología GPRS que las agrometeorológicas.

Adicionalmente a las anteriores estaciones, el gremio contaba con tres (3) estaciones meteorológicas, no transmiten los datos a la plataforma FieldClimate, dado que son de otra marca y maneja su propio software y sistema operativo, el cual no es compatible con otro, y para su integración se requiere el pago de una mensualidad, lo que implica costos permanentes. Esta información es integrada en los productos y análisis desarrollados por Cenibanano para el sector bananero.





Figura 2. Estructura de la red agrometeorológica bananera de Urabá

La instalación de los equipos se realizó en la semana 4 del año 2021. Las estaciones agrometeorológicas iMetos 3.3 se ensamblaron a un tubo de soporte metálico de seis (6) metros de largo, el cual se instaló en el suelo a una profundidad de un (1) metro, y se añadió firmeza al rellenar el hueco con una mezcla de concreto, para disminuir el movimiento del tubo y ruidos en los sensores; los señores de precipitación, temperatura del aire, humedad atmosférica, y radiación

quedaron a tres (3) metros sobre la superficie del suelo, y el sensor de Velocidad del viento a cinco (5) metros de alto.

La altura a la cual quedaron las estaciones agrometeorológicas es vital para tener una medición confiable de la magnitud de la velocidad, ráfaga y dirección del viento, permitiendo establecer las magnitudes que ocasionan afectación en la planta, especialmente rasgaduras de horas, así como influencia la evaporación del suelo. Dado que la altura de los sensores implica una dificultad para la realización de los mantenimientos preventivos o correctivos, razón por la cual se decidió modificar la estructura del tubo de soporte, por una que permita bajar la estación sin incurrir en riesgos de daño de equipos o lesión del personal.

Las sondas de humedad se instalaron en las estaciones agrometeorológicas, en los lotes del cultivo más cercanos al jardín meteorológico, alejados de canales primarios, ya que el objetivo principal de estas mediciones arroja valores de humedad en las condiciones de la plantación. Las sondas de humedad están conectadas a un receptor, el cual lleva el dato medido a la estación a través de un cable enterrado a una profundidad de 40 cm cubierto por tubería. La profundidad es ideal para evitar romper el cable con la labor de trincheo o hercules (profundidad de 30 cm). Las sondas de humedad se cercaron con una malla de 1 metro de altura para su fácil identificación de los operarios de la finca. Estos equipos se instalaron en la semana 26 del año 2021.

Las estaciones meteorológicas en la semana 26 de 2021, se ensamblaron a un tubo de soporte metálico de tres (3) metros, el cual se enterró en el suelo a una profundidad de 1 metro y se rellenó el hueco con concreto para mejorar la estabilidad, los sensores están a dos metros sobre la superficie del suelo. Para garantizar el óptimo funcionamiento y operación de la red agrometeorológica, se realiza monitoreo diario de las estaciones a través de la plataforma, y se realizan mantenimientos preventivos (**Figura 3 y Figura 4**) como se presentan en la **tabla 1**, in situ, para potenciar la vida útil de los equipos. Estos consistieron en chequeo visual y limpieza de los sensores.

Tabla 1. Mantenimientos de equipos año 2021

Fecha	Estación	Mantenimiento
9/03/2021	Cantares	Limpieza y chequeo.
10/03/2021	Sayula	Limpieza y chequeo.
11/03/2021	Cedros	Limpieza y chequeo.
12/03/2021	Sol Luna	Limpieza y chequeo.
17/03/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
28/04/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
25/05/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
17/06/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
16/06/2021	Cantares	Limpieza y chequeo.
1/07/2021	Cedros	Limpieza y chequeo.

1/07/2021	Sol Luna	Limpieza y chequeo.
2/07/2021	Cantares	Limpieza y chequeo.
2/07/2021	Sayula	Limpieza y chequeo.
9/07/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
13/07/2021	Cibeles	Limpieza y chequeo.
22/07/2021	Monterrey 1	Limpieza y chequeo.
22/07/2021	Las Delicias	Limpieza y chequeo.
22/07/2021	Providencia	Limpieza y chequeo.
22/07/2021	Fragata	Limpieza y chequeo.
22/07/2021	Pangordito	Limpieza y chequeo.
23/07/2021	San Bartolo	Limpieza y chequeo.
23/07/2021	Tatiana	Limpieza y chequeo.
23/07/2021	Carepa	Limpieza y chequeo.
2/08/2021	Luisa Fernanda	Cambio de baterías
4/08/2021	Tatiana	Limpieza y monitoreo.
12/08/2021	Fragata	Limpieza y chequeo.
20/08/2021	Cedros	Limpieza, chequeo y monitoreo.
26/08/2021	Carepa	Limpieza y chequeo.
8/09/2021	Campo experimental	Limpieza y chequeo.
5/10/2021	Sol Luna	Limpieza, chequeo y monitoreo sensor de humedad del suelo.
13/10/2021	Sol Luna	Limpieza sensor de humedad del suelo.
11/10/2021	Campo experimental	Fallos en la medición del sensor de temperatura.
14/10/2021	Luisa Fernanda	Limpieza y traslado del equipo a las oficinas de Augura.
5/11/2021	Cantares	Limpieza, chequeo y monitoreo.

10/11/2021	Sol Luna	Limpieza, chequeo y reconexión sensor de humedad del suelo.
17/12/2021	Pangordito	Limpieza, chequeo y monitoreo.



Figura 3. Mantenimiento de equipos red agrometeorológica del sector bananero

En el primer año de funcionamiento de la red, se han presentado fallos en tres (3) sensores, sensor de radiación y dos sensores ultrasónicos de viento. El primero hizo cambio de fábrica y los dos segundos se está esperando la llegada su cambio. Se resalta que el no funcionamiento del equipo se debe actualizaciones de fábrica, lo sectores funcionan, solo que no quedan programados. Se realizó limpieza de equipos por taponamiento de los pluviómetros, los cuales si no se corrigen a tiempo generan datos erróneos, especialmente de precipitación.



Figura 4. Mantenimiento preventivo-Limpieza

4.4.3. Convenio Augura - Uniban. La comercializadora Uniban, instaló en la semana 4 de 2021, cuatro estaciones meteorológicas de la misma marca y transmiten en la misma plataforma que Cenibanano. Con el fin de unir esfuerzos en pro de fortalecer la información agrometeorológica para el sector bananero, se firmó el convenio entre Cenibanano- Augura y Uniban para compartir la información de la red administrada por ambos, para que todo el sector bananero pueda tener acceso a la visualización de datos climáticos de 16 estaciones.

4.4.4. Generación de productos agroclimáticos. La generación de conocimiento climático e información con mejores niveles de precisión y confianza se vuelve un requisito fundamental, al igual que la necesidad de mejorar la transmisión, procesamiento e interpretación de la información disponible para mejorar la adaptación y mitigación al cambio climático, así como reducir riesgo y aprovechar las condiciones meteorológicas y climáticas esperadas (Carabajal M. , 2020).

Para hacer frente a este reto, la OMM lanza en el año 2009 el “Marco Mundial para los Servicios Climáticos” (MMSC), el cual se marca como objetivo de construir una ciencia climática útil, que aporte en la toma de decisiones de los sectores sensibles al clima (Carabajal M. , 2019). Cenibanano-AUGURA no es ajena a las tendencias mundiales, por esta razón decide implementar la red agrometeorológica en el año 2021 con equipos de marca Pessl instruments, los cuales permite el monitoreo de variables meteorológicas en un rango mínimo de 10 minutos.

Con el fin de aportar conocimiento agroclimático para mejorar la toma de decisiones en el cultivo de banano, se emitieron boletines agrometeorológicos con periodicidad diaria, semanal y mensual a lo largo del año 2021. Los cuales se enviaban vía email a los actores relacionados directa e indirectamente en la producción bananera de Urabá, y por medio de whatsapp en la región del

Magdalena. A estos se les daba la posibilidad de elegir una o las tres periodicidades de emisión de los boletines, buscando el mayor aprovechamiento de la información, sin saturarlos.

El boletín agroclimático diario se compone de un resumen de las condiciones meteorológicas del día anterior a su emisión, y un pronóstico con horizonte de tres días. El boletín semanal cuenta con un reporte de las condiciones meteorológicas de la semana anterior a su emisión, donde se detalla el comportamiento de la precipitación, temperatura y radiación, además de otras variables meteorológicas de interés para el productor. También un pronóstico de las condiciones meteorológicas para la semana y recomendaciones basada en este pronóstico.

El boletín mensual (**Figura 5**) está estructurado con el resumen de las condiciones del fenómeno de variabilidad climática más importante presente en dicho mes, p.ej., Fenómeno ENSO y su proyección para los siguientes trimestres. Se analiza el comportamiento de la precipitación en el mes anterior a la emisión del boletín y su incremento con respecto a los valores históricos de la región. La predicción climática para Urabá generado por el IDEAM para los siguientes tres meses, y se generan recomendaciones basadas en estas predicciones. Todas las recomendaciones se construyen con apoyo de las áreas de fisiología y nutrición, suelos y agricultura de precisión, entomología y Fitosanidad.

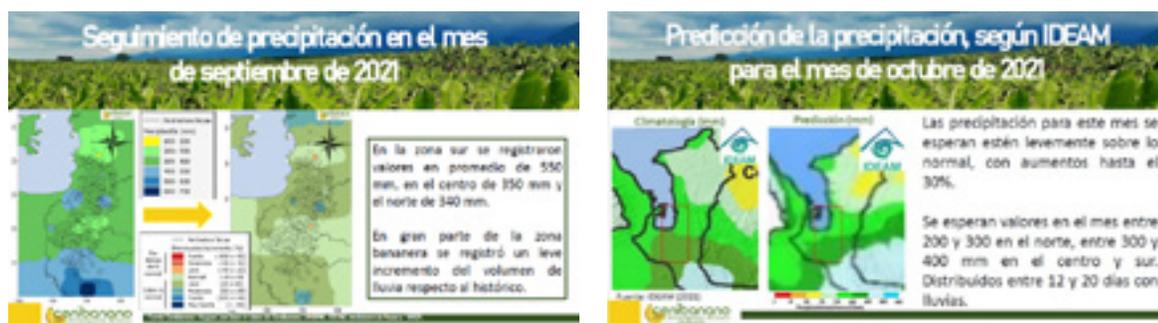


Figura 5. Estructura de boletines para la zona bananera de Urabá.

Para la zona bananera de Magdalena (**Figura 6**) solo se emite un boletín mensual, el cual cuenta con una lámina en la que se resumen las condiciones climáticas del mes anterior y se genera una predicción de los siguientes meses basado en la emitida por IDEAM, además de que se agregan recomendaciones específicas para dicha zona.



Figura 6. Estructura de boletín agroclimático emitido para la zona bananera de Magdalena

Los boletines agrometeorológicos y agroclimáticos se construyeron a partir de las siguientes bases de datos de acceso gratuito:

- Red agrometeorológica bananera.
- Sistema de Información para la gestión de datos Hidrológicos y Meteorológicos (DHIME).
- El servicio meteorológico de la universidad de Basilea, Suiza: Meteoblue.
- Centro Europeo de Previsiones Meteorológicas a Plazo Medio (ECMWF).
- NASA Global Precipitation Measurement Mission (Giovanni).
- Climate Hazards Group InfraRed Precipitation with Station data (CHIRPS), de la universidad de Santa Barbara, Estados Unidos de America.

Los mapas de variabilidad espacial de las diferentes variables meteorológicas se realizaron utilizando diferentes metodologías de interpolación, buscando elegir la más representativa de las condiciones climáticas que afectan al cultivo.

A lo largo del año se generaron una serie de reportes en forma de Ceninotas, gráficos y mapas de las diferentes variables meteorológicas medidas por la red agroclimática, para ayudar al productor a entender de mejor manera el clima de la región y sus impactos en la productividad del cultivo.

4.4.5. Resultados

Se elaboró una base de datos de actores relacionados con la producción de banano en ambas zonas productoras (**Tabla 2**).

Tabla 2. Actores producción de banano en Urabá y en Magdalena.

Área actores	N° actores Urabá	N° actores Magdalena
Producción	385	540
Investigación	53	147

El crecimiento de la base de datos a lo largo del año fue notorio. En Urabá se registró un crecimiento del 973.3% en los usuarios de los reportes agroclimáticos. En Magdalena se formó una base de datos que no existía con anterioridad (**Tabla 3**).

Tabla 3. Crecimiento base de datos actores Urabá y Magdalena.

Mes	N° actores Urabá	N° actores Magdalena
Enero	45	0
Diciembre	438	687

Los boletines se publicaron bajo los siguientes parámetros: diarios de lunes a viernes entre las 7 y 8 am hora Colombia. Semanales el primer día laboral de la semana, y los mensuales entre la primera y segunda semana del mes. En total, se emitieron 314 boletines entre ambas regiones productoras (**Tabla 4**).

Tabla 4. Publicación de boletines año 2021.

Tipo de boletín	N° emisiones
Diario	240
Semanal	52
Mensual	12
Mensual Magdalena	10

Para mejorar el entendimiento en el comportamiento de la variabilidad espacio temporal de las variables meteorológicas, se eligió el método de interpolación de inverso de la potencia a la distancia (IDW) para rellenar las áreas donde no se encuentran datos medidos en campo. Esta es recomendada por la OMM e IDEAM, ya que trabaja bajo el principio físico de que a medida que un dato se aleja de su punto de medición, este se vuelve menos representativo, principio por el que también se rigen variables precipitación. Este método se ajustó por medio de una metodología que mejora la forma en la que se visualizan los mapas, disminuyendo los “ojos de bueyes” propios de este tipo de interpolación (**Figura 7 y Figura 8**).

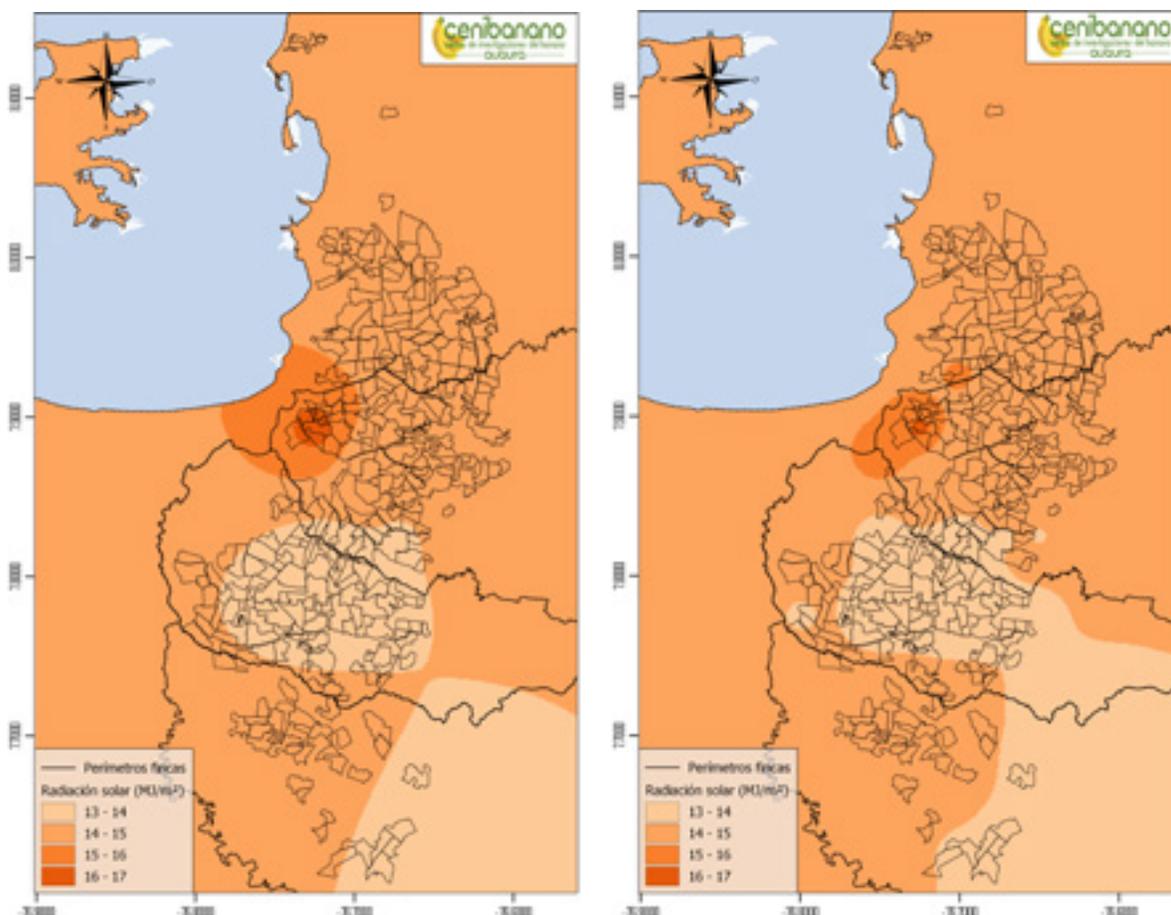


Figura 7. Interpolación IDW convencional (izquierda) y metodología ajustada en Cenibanano (Derecha).

Figura 8. Evaluación de modelos de interpolación. IDW Qgis, IDW SAGA y Kriging SAGA, respectivamente.

Se realizaron un total de siete (7) Ceninotas en el año, en las cuales se analizaron diferentes temas climáticos y su impacto en la producción bananera. Algunas fueron realizadas de forma interdisciplinarias con áreas de Fitosanidad, Fisiología y nutrición y entomología (**Tabla 5**).

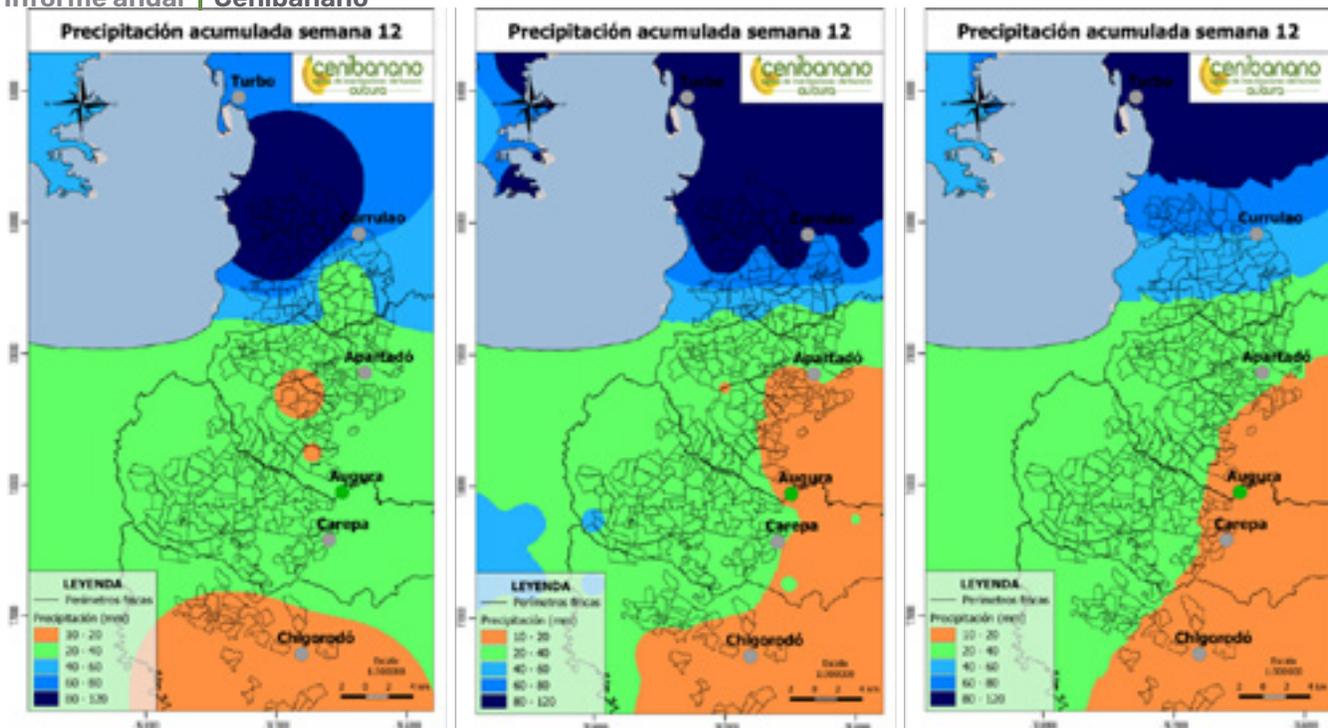


Tabla 5. Participación en la generación de Ceninota en 2021

NUMERO	NOMBRE	FECHA DE PUBLICACIÓN
2	¿Cómo es el comportamiento climático en la ZONA BANANERA DE URABÁ en el cuatrimestre noviembre – febrero?	18/02/2021
3	¿Cómo es el comportamiento climático en la ZONA BANANERA DE URABÁ en el mes de febrero de 2021?	12/03/2021
5	Distribución de la lluvia en la ZONA BANANERA de Urabá en el primer trimestre del año 2021.	23/04/2021
8	Alerta ante incremento de sigatoka negra.	9/06/2021
11	Estatus del sistema de alerta del ENOS: vigilancia de la ñina.	14/09/2021
12	Recomendaciones de manejo para plantaciones de banano ante afectaciones por lluvias fuertes e inundaciones.	20/09/2021
18	“Cirugía y deshoje, labores claves en el manejo integrado de SIGATOKA NEGRA Y ÁCAROS FITÓFAGOS”	27/12/2021

4.4.6. Conclusiones

- La red agrometeorológica del sector bananero genera oportunidades para fortalecer e incrementar los servicios prestados por la asociación a sus agremiados.
- La nubosidad presente en la zona afecta la transmisión de datos de las estaciones, pero no de manera significativa y permanente.
- Los fallos en la medición de datos por los sensores de las estaciones se debieron principalmente a fallos de hardware.
- El convenio entre AUGURA y Unibán garantiza una cobertura de la red agrometeorológica en toda la zona bananera.
- Los análisis agroclimáticos y pronósticos en los Ceninotas y boletines, respetivamente, son una herramienta para la planificación en la producción bananera y adaptación ante eventos asociados a la variabilidad y cambio climático.
- Se debe continuar con la emisión de los boletines, mejorando la forma en que se visualiza la información para aumentar el conocimiento y entendimiento de los tomadores de decisiones en la producción de banano.

4.4.7. Referencias bibliográficas

- Andrade, J., Silva, T., Trindade, H., & Nabias, C. (2018). Implementing a network of weather and agrometeorological stations: a case study in Timor-Leste. *Finisterra: revista portuguesa de geografia.* , 53-70.
- Carabajal, M. (2019). El servicio meteorológico nacional y el nuevo paradigma de los servicios climáticos: hacia una reconfiguración de las prácticas institucionales. *Centro de estudios interdisciplinarios en etnolingüística y antropología socio-cultural.*
- Ramírez, R., Trujillo, T., Soria, J., & Fernández, Y. (2004). Aptitud agroclimática en la Mesa Central de Guanajuato, México. *Investigaciones geográficas*, 24-35.
- CEPAL. (2012). *Comisión Económica para América Latina y el Caribe (Cepal). Valoración de daños y pérdidas. Ola invernal en Colombia, 2010-2011.* Bogotá: Misión BID - Cepal. https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/37958/1/OlainvernalColombiaBIDCEPAL_es.pdf.
- Mayorga, R., & Boshell, J. (2015). *MANUAL PARA ORIENTAR EL ESTABLECIMIENTO DE LAS MESAS TÉCNICAS AGROCLIMÁTICAS EN.* <https://ccaafs.cgiar.org/sites/default/files/projects/atatacshment/s/Manual%20para%20orientar%20establecimiento%20MTA%20en%20Colombia.pdf>.
- OMM. (2010). *Guía del Sistema Mundial de Observación (OMM-N° 488).* . Ginebra.

- Ruiz, J., Medina, G., & García, G. (2018). Sistema de información agroclimático para México-Centroamérica. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1-10.
- Toro, A., Arteaga, R., Vázquez, M., & Ibáñez, L. (2016). Requerimientos de riego y predicción del rendimiento en el cultivo de banano mediante un modelo de simulación en el Urabá antioqueño, Colombia. *Tecnología y ciencias del agua*, 105-122.
- WMO. (1992). *The WMO Automatic Digital Barometer Intercomparison (J.P. van der Meulen). Instruments and Observing Methods Report No. 46*. Ginebra: (WMO/TD-No. 474).
- WMO. (2008). *Guide to hydrological practices No 168*. Obtenido <http://www.whycos.org/hwrp/guide/index.php>. Ginebra, Suiza: Organización Meteorológica Mundial.
- WMO. (2012). *Guide to Meteorological Instruments and Methods of Observation. WMO-No. 8*. Geneva, Switzerland: World Meteorological Organization.

4.5. ANÁLISIS DE VARIABILIDAD CLIMÁTICA: EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE FENÓMENOS DE VARIABILIDAD CLIMÁTICA DE IMPORTANCIA EN LA ZONA BANANERA DE URABÁ Y MAGDALENA

Autores: *Eliecer David Díaz Almanza, Franklin Palacios Zapata y María del Mar Vásquez Gutiérrez*

Resumen

Se analizó la variabilidad espacio-temporal de la precipitación de las zonas bananeras de Urabá y Magdalena mediante series de tiempo mensuales entre 1981-2021 con datos de observaciones *in situ* de IDEAM. A partir de este análisis se evalúan los fenómenos de variabilidad climática que afectan la climatología de las regiones de estudio. Los fenómenos de variabilidad climática más influyentes considerados en este estudio son El Niño-Southern Oscillation (ENSO) Canónico, ENSO Modoki y la Oscilación del Atlántico Norte (NAO por sus siglas en inglés), observados a partir de los índices macroclimáticos correspondientes. Se realizan correlaciones entre las Componentes Principales, que describen la variabilidad de precipitación de las regiones, y los índices macroclimáticos. Los resultados de las correlaciones demuestran que los índices con mayores correlaciones fueron el ONI y el MEI, demostrando que el fenómeno de variabilidad climática más influyente para ambas regiones es el ENSO Canónico. Por otro lado, la NAO resulta ser el fenómeno con menores correlaciones, indicando una influencia muy baja en las condiciones locales de las zonas bananeras de Urabá y Magdalena. Adicionalmente, a partir del análisis espectral se detectan fuertes señales de otros fenómenos macroclimáticos que no se había considerado, como la Oscilación Cuasi Bienal, la Oscilación Madden-Julian e incluso ciclo solar.

4.5.1. Introducción

La variabilidad climática y la ocurrencia de eventos extremos (sequías, periodos lluviosos extremos, lluvias torrenciales, inundaciones) resultan en perjuicios importantes para la producción agrícola (Tiscornia, Cal, & Giménez, 2016). Al analizar datos de variables meteorológicas y climáticas, se debe tener en cuenta que representan la interacción de un gran número de procesos muy diversos como cambios estacionales, procesos de calentamiento o enfriamiento globales, dinámica de ciclones y anticiclones, ciclos de actividad solar, entre otros, y la lista podría ampliarse indefinidamente. La comprensión de cómo las variaciones en diferentes escalas de tiempo se han combinado para producir el historial climático observado puede informar las estrategias de adaptación o mitigación del riesgo asociado a esta variabilidad a múltiples escalas (Green, Goddard, & Cousin, 2011)

En el Caribe colombiano el sistema climático se considera dependiente de los vientos alisios del noreste (NE) y las oscilaciones de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) ((Vernette, 1985); Nystuen & Andrade, 1993, como se citó en (Bernal, Poveda, Roldán, & Andrade, 2006)). Más específicamente, en esta región se conjuga la acción de dos chorros superficiales, contrarios en su dirección, el chorro superficial de San Andrés (o Chorro de bajo nivel del Caribe) y el chorro superficial del Chocó (Bernal, Poveda, Roldán, & Andrade, 2006).

La principal estación seca en el Caribe colombiano se presenta de diciembre a abril y la estación húmeda durante el resto del año, interrumpida en julio y agosto por un mínimo conocido popularmente como el “veranillo de San Juan” (Mesa, Poveda, & Carvajal, 1997). La estación seca,

así como el “veranillo”, están asociados con el chorro de San Andrés y los alisios del NE (Bernal, Poveda, Roldán, & Andrade, 2006). El predominio de los alisios y por tanto de los chorros se relaciona con los desplazamientos de la ZCIT. De diciembre a marzo la ZCIT está localizada hacia el sur, sobre Suramérica, en el Caribe los centros de alta presión son fuertes y los vientos alisios del NE son máximos; y de julio a septiembre se desplaza un poco más hacia el norte, centro del Caribe, los vientos alisios se debilitan y dominan vientos del suroeste (SW) que son más débiles, pero pueden traer fuertes borrascas hacia la región del Caribe (Vernette, 1985). Estos períodos anuales coinciden con los máximos del chorro de San Andrés y del Chocó, respectivamente.

En la región del Urabá Antioqueño, en el extremo sur de la costa Caribe colombiana, el régimen de precipitación presenta un ciclo bimodal: un período más largo de lluvia entre mayo y julio y otro de más corto período de octubre a noviembre. Sin embargo, la disminución de la precipitación en los meses de junio – agosto es poco apreciable, por lo que IGAC (IGAC, 2007) indica que la zona posee un régimen unimodal de precipitación. Adicionalmente, dentro de la región las precipitaciones son muy variables de norte a sur, esto es debido a que en el límite suroriental del eje bananero se encuentra la serranía del Abibe, donde, en compañía de los vientos que vienen del Océano Pacífico (Chorro del Chocó), se favorece la producción de precipitación por ascenso orográfico (Guarín, 2011).

Ahora, en el municipio Zona Bananera del Magdalena, en el norte de Colombia, se presentan dos temporadas de lluvias, donde normalmente se alcanza a satisfacer la demanda hídrica de los cultivos, la primera entre abril y mayo, la segunda entre los meses de septiembre y noviembre; una temporada de menor intensidad de lluvias, donde no se alcanza a satisfacer los requerimientos hídricos de los cultivos, entre los meses de junio y agosto; y por último una temporada seca, se presenta déficit hídrico severo, entre los meses de diciembre a marzo (Londoño, 2017). Esta región también presenta una barrera orográfica al costado oriente, la Sierra Nevada de Santa Marta. Los vientos que interactúan con esta gran barrera son los vientos alisios del noreste, por lo que el clima se ve modificado y se presentan características seca y húmeda (CIOH, 2008). Esta observación permite vislumbrar la importancia de la topografía con relación a la climatología, y cómo esta última varía según las interacciones.

Por otro lado, el fenómeno de ENSO, en sus fases de “El Niño” y “La Niña”, tiene un papel trascendental en la variabilidad climática del Caribe colombiano, especialmente sobre las corrientes de los chorros del Chocó y de San Andrés. El calentamiento del océano Pacífico durante los eventos de “El Niño” genera una disminución de los gradientes de temperaturas y presiones, lo que conlleva a una modificación en la intensidad de dichas corrientes (Giannini, Kushnir, & Cane, 2000; Serna, Arias, & Vieira, 2018).

Adicionalmente, Rogers (Rogers, 1988) sugiere que la precipitación promedio sobre el Caribe y las Américas tropicales podría variar significativamente en los extremos de la NAO. Esta oscilación se caracteriza por variaciones en los gradientes de presión a nivel de superficie en los vientos del oeste de las latitudes medias. Generalmente se encuentra muy ligada con el clima de Europa, el Este de Estados Unidos y los países de la cuenca del mar Mediterráneo; sin embargo, se ha visto que estas variaciones en los gradientes de presión afectan la intensidad de los vientos alisios del noreste (Poveda, Gil, & Quiceno, 1998), lo que concuerda con Bernal *et al.* (Bernal, Poveda, Roldán, & Andrade, 2006), donde argumentan que esta oscilación en su fase positiva fortalece el chorro de San Andrés, asociado al “veranillo” que se presenta en julio y agosto.

Teniendo esto en cuenta, la variabilidad climática es un factor muy relevante y la evaluación y caracterización de esta resulta de fundamental importancia para la gestión de riesgos asociados al clima en la producción agrícola y otros sectores de la economía. En el presente trabajo se hace un

análisis de las características de los fenómenos de variabilidad climática que afectan las zonas bananeras de Urabá y Magdalena con el fin de mostrar su variabilidad espacio temporal, aportar en el conocimiento de estos sistemas meteorológicos y que sirvan de herramienta para los tomadores de decisiones. Para esto se presentan análisis de series mensuales en las dos regiones de estudio para los años comprendidos entre 1971 y 2021.

4.5.2. Materiales y métodos

Para llevar a cabo el análisis y la caracterización de los fenómenos climáticos se emplean los datos de precipitación registrados en las estaciones meteorológicas *in situ* del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia (IDEAM), localizadas en las áreas productoras del cultivo de banano en la región de Urabá (Latitud de -76.84 y -76.54 y longitud de 8.17 y 7.57) y departamento de Magdalena (Latitud de -74.20 y -74.10 y longitud de 11.08 y 10.54).

Tabla 1. Estaciones in situ de la zona bananera de Magdalena. Fuente IDEAM

Estación	Categoría	Periodo Operación	Altitud	Latitud	Longitud
CARMEN EL [29060140]	Pluviométrica	67/03/15 ACTIVA	25	10,68	-74,21
DESTINO EL [29060150]	Pluviométrica	67/01/15 ACTIVA	20	10,57	-74,22
ENANO EL [29060160]	Pluviométrica	74/11/15 ACTIVA	25	10,90	-74,19
PADELMA [29065020]	Climática Ordinaria	67/08/15 ACTIVA	20	10,72	-74,20
PALMA LA [29060210]	Pluviométrica	67/03/15 ACTIVA	23	10,97	-74,20
PROYECTOS LOS [29060250]	Pluviométrica	67/01/15 ACTIVA	20	10,74	-74,24
SAN ISIDRO [29060280]	Pluviométrica	67/01/15 ACTIVA	25	10,90	-74,22
SEVILLANO [29060310]	Pluviométrica	79/09/15 ACTIVA	5	10,93	-74,25
UNION LA [29060240]	Pluviométrica	67/01/14 19/07/02	20	10,71	-74,22
YE LA [15015020]	Climática Ordinaria	67/07/14 19/07/02	20	10,99	-74,21

En la **Tabla 1 y 2** se indica la información general de cada una de las estaciones que fueron seleccionadas, posteriormente se decide descartar la estación “YE LA [15015020]”, debido a que no cumple el criterio de datos faltantes menores del 20%. El llenado de datos se realiza a partir de un modelo ajustado de raíz cuadrada doble con la mejor estación vecina.

Tabla 2. Estaciones in situ de la zona bananera de Urabá. Fuente IDEAM

Estación	Categoría	Periodo Operación	Altitud	Latitud	Longitud
BARRANQUILLITA [12010030]	Pluviométrica	74/12/15 ACTIVA	18	7,6	-76,7
CASCO EL [12010070]	Pluviométrica	77/07/15 ACTIVA	18	7,9	-76,6
EUPOL [12010100]	Pluviométrica	77/07/15 ACTIVA	10	7,9	-76,6
LORENA LA [12010060]	Pluviométrica	76/07/15 ACTIVA	10	7,9	-76,7
AEROPUERTO LOS CEDROS [12015070]	Sinóptica Principal	83/05/15 ACTIVA	41	7,8	-76,7
PRADO MAR [12010110]	Pluviométrica	77/07/15 ACTIVA	5	8,0	-76,6
SANTA MARTHA [12010120]	Pluviométrica	77/07/15 ACTIVA	130	7,9	-76,6
TORMENTO EL [12010010]	Pluviométrica	72/01/15 ACTIVA	20	7,8	-76,9
TOSCANA LA [12010050]	Pluviométrica	77/07/15 ACTIVA	15	7,8	-76,7
TRIGANA [12010090]	Pluviométrica	77/06/15 ACTIVA	4	7,7	-76,7
UNIBAN [12015020]	Agrometeorológica	77/08/15 ACTIVA	43	7,8	-76,7

El conjunto de datos de las estaciones del IDEAM consiste en registros de precipitación diaria acumulada para el periodo 1971–2021 en la zona del Magdalena y para el periodo 1980–2021 para la zona de Urabá, estos registros se estiman derivados mensuales (acumulado mensual), se calcularon las anomalías estandarizadas con el fin de hacer comparables cada una de las estaciones con los índices macroclimáticos. El cálculo de las anomalías estandarizadas se realiza a partir de la serie de datos originales, se resta la normal climatológica de 1981–2010 y seguidamente se divide por la desviación estándar. Las transformaciones de los datos, los cálculos necesarios y las gráficas fueron llevados a cabo con lenguaje de programación Python.

Los índices macroclimáticos considerados son cuatro, los cuales representan la ocurrencia de los fenómenos de variabilidad climática ENSO Canónico, ENSO Modoki y NAO. Para la identificación de fenómenos ENSO Canónicos se utilizan dos índices. El primero es el Índice Niño Oceánico (ONI por sus siglas en inglés), este índice consiste en anomalías de Temperatura Superficial del Mar (TSM) de la región Niño 3.4 (5°N–5°S, 120°–170°W).

Según el procedimiento llevado a cabo por la NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration), el umbral debe ser superior a 0.5°C para la clasificación de un evento El Niño (EN) o inferior a -0.5°C para la clasificación de un evento La Niña (LN), el cálculo se realiza mediante la media móvil de tres meses y este valor debe permanecer durante cinco (5) meses consecutivos. Los valores de este índice están disponibles en el enlace http://origin.cpc.ncep.noaa.gov/products/analysis_monitoring/ensostuff/ONI_v5.php. El segundo índice es el índice bimestral multivariado de ENOS (MEI.v2), este índice consiste en una serie de tiempo de la Función Ortogonal Empírica (EOF) que combina cinco variables diferentes, tanto atmosféricas como oceánicas, sobre la cuenca del Pacífico tropical. Las EOF se calculan para 12 "temporadas" bimestrales superpuestas (diciembre–enero, enero–febrero, febrero–marzo, noviembre–diciembre) (Instituto del Mar del Perú, s. f.). Los valores de este índice de macroescala están disponibles en el enlace <https://psl.noaa.gov/enso/mei/data/meiv2.data>.

Para identificar los periodos de ENSO Modoki se utiliza El Niño Modoki Index (EMI). Este índice se define como la diferencia entre las anomalías de TSM de una región central del Pacífico (C: 165°E–140°W, 10°S–10°N), y las anomalías de TSM de las regiones este (E: 110°–70°W, 15°S–5°N) y oeste (W: 125°–145°E, 10°S–20°N) del Pacífico, tal como se indica en la ecuación 1 (Córdoba-Machado *et al.*, 2015). De este modo se capturan los gradientes zonales de TSM característicos del ENSO Modoki.

$$EMI = [SSTA]_C - [SSTA]_E - [SSTA]_W \quad (1)$$

Los datos de TSM se obtienen a partir de ECMWF Re-Analysis 5 (ERA5), la base de datos de reanálisis más reciente producida por el European Centre for Medium-Range Weather Forecasts (ECMWF). Esta base provee estimaciones horarias para un gran número de variables atmosféricas, oceánicas y de tierra-superficie (ECMWF, 2021). Abarca el periodo desde 1979 hasta el presente, con una resolución de grilla de 0.25°x 0.25°. Para este trabajo se elige el subproducto de datos promedios mensuales del ERA5 sobre niveles individuales desde 1979 hasta la actualidad, <https://cds.climate.copernicus.eu/cdsapp#!/dataset/reanalysis-era5-single-levels-monthly-means?tab=form>.

Para identificar las fases de la Oscilación del Atlántico Norte se utiliza el índice NAO propuesto por Walker y Bliss (1932) y simplificado por Rogers (Rogers, 1988). Este índice se define como la diferencia entre las anomalías estandarizadas de la presión al nivel del mar en localidades representativas de los núcleos de las Azores (alta presión) y de Islandia (baja presión). Los valores de este índice están disponibles en el enlace <https://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/precip/CWlink/pna/norm.nao.monthly.b5001.current.ascii.table>.

Las metodologías utilizadas para identificar las relaciones de estos fenómenos climáticos y la variabilidad de precipitación en las zonas bananeras de Urabá y Magdalena son el Análisis de Componentes Principales (PCA) y el Análisis Espectral a partir de la transformada rápida de Fourier (FFT). El PCA consiste en reducir conjuntos de datos que contienen gran número de variables a sets de datos con menor número de nuevas variables. Estas nuevas variables son combinaciones lineales de las originales y estas combinaciones lineales se eligen para representar la fracción máxima posible de la variabilidad contenida en los datos originales. Para identificar las Componentes Principales (PC) que logran representar la variabilidad de la precipitación de toda la región, cada región se divide en tres zonas, Norte, Centro y Sur. De cada una de las zonas se calculan las PC y se eligen teniendo en cuenta que expliquen por lo menos el 80% de la variabilidad de la precipitación de la zona.

Seguidamente, a partir de las PC resultantes, se realizan correlaciones directas y correlaciones rezagadas entre estas nuevas variables, que representan la variabilidad de la precipitación de las zonas de cada región de estudio, y los índices macroclimáticos. Los métodos de correlación utilizados son Pearson, Spearman y Kendall. El coeficiente de correlación de Pearson es un índice que mide el grado de covariación entre distintas variables relacionadas linealmente. No es robusta ni resistente, ya que puede no identificar la fuerte relación entre dos variables si es no-lineal y es extremadamente sensible a datos extremos (Wilks, 1995). Por otro lado, el coeficiente de correlación de rango de Spearman es una alternativa más robusta y resistente al coeficiente de correlación de Pearson, el cálculo es similar al coeficiente de correlación de Pearson, pero se utilizan los órdenes de los datos en lugar de los propios valores de datos (Wilks, 1995). Es una prueba no paramétrica, para cuando se desea medir la relación entre dos variables y no se cumple el supuesto de normalidad en la distribución de tales valores (Barreto, 2011).

Ahora, el coeficiente de correlación de rango de Kendall es la segunda alternativa robusta y resistente al coeficiente de correlación de Pearson. Se calcula considerando las relaciones entre

todos los apareamientos posibles de los pares de datos, de los cuales hay $n(n-1)/2$ en una muestra de n datos (Wilks, 1995). Se utiliza si se requiere determinar el grado de asociación lineal entre dos variables cuantitativas, pero no siguen una distribución normal. Este indicador está basado en rangos, no en los datos originales y se ve poco afectado ante la presencia de un número pequeño de valores atípicos (extremos).

El Análisis espectral a partir de la FFT consiste en transformar las series de tiempo en series en función de frecuencia. Esta herramienta es útil para identificar fenómenos de variabilidad climática influyentes en una serie de tiempo a partir del conocimiento de la frecuencia en ocurrencia de estos.

4.5.3. Resultados y discusión

En la **tabla 3** y **tabla 4** se muestran los resultados del análisis espectral a partir de la FFT.

Tabla 3. Periodos de señales predominantes en las series de precipitación de las estaciones correspondientes a las PC1 de la zona bananera de Magdalena.

MAGDALENA			
Intensidad	NORTE	CENTRO	SUR
1	2-4 meses	2-4 meses	3-4 años
2	15-17 meses	25-29 meses	2-4 meses
3	10-12 años	15 meses	15-16 meses
4	3-4 años	10-13 meses	6-8 meses
5	13-15 meses	4-7 años	30 meses
6	28,6 meses	5-7 meses	10 años

Tabla 4. Periodos de señales predominantes en las series de precipitación de las estaciones correspondientes a las PC1 de la zona bananera de Urabá.

URABÁ			
Intensidad	NORTE	CENTRO	SUR
1	5-7 meses	27-30 meses	3-7 años
2	17 meses	5-7 meses	17-18 meses
3	2-4 meses	4 meses	11 meses
4	11-13 meses	3 años	3-4 meses

5	10-13 años	17-18 meses	5-7 meses
6	3,7 años	13,5 años	28-30 meses

En las tablas de observan las señales más predominantes identificadas en las series de precipitación de las PC1 de las diferentes zonas bananera, organizadas en orden de mayor a menor intensidad de la señal. A partir de estas señales se pueden localizar, en tiempo y en frecuencia, fenómenos físicos presentes en una serie de tiempo.

Señales predominantes con periodos de 2-4 meses, las cuales coinciden con el periodo de la oscilación de Madden-Julian (MJO). Esta oscilación intra-estacional es la principal fuente de variabilidad climática a tal escala de tiempo en los trópicos. Señales con ciclo anual (periodos de 10-13 meses) y semianual (periodos de 5-8 meses), correspondientes a los regímenes de precipitación bimodal y monomodal asociados al paso de la ZCIT.

También se identifican señales con periodos entre 3 y 7 años, los cuales corresponden a los periodos esperados por fenómenos ENSO. Las señales identificadas con periodos de 25-30 meses concuerdan con lo esperado por la Oscilación Cuasi Bienal (OCB), esta domina la variabilidad interanual del viento zonal en la estratosfera tropical. Este fenómeno consiste en regímenes de viento zonal alternativos hacia el este y hacia el oeste. Señales con periodos de 10-12 años pueden ser atribuidas a los ciclos solares. Estos ciclos consisten en el cambio del campo magnético del sol, afectando las manchas solares y la radiación solar incidente.

Adicionalmente, mediante el cálculo de las PC se identificaron las estaciones que explican en mayor porcentaje la variación de la precipitación en cada región y en cada zona. En la **tabla 5** y **tabla 6** se observan las estaciones resultantes en orden de mayor a menor porcentaje de explicación de variación.

Para la región del Magdalena en la zona norte, la explicación de la variación de la precipitación corresponde solo a una estación, "PALMA LA [29060210]", la cual representa el 80% de la variación en la zona. Para las zonas centro y sur es necesario considerar dos estaciones para poder abarcar el mismo porcentaje de explicación.

Tabla 5. Estaciones que corresponden a las PC de cada una de las zonas en la región de Magdalena.

MAGDALENA		
Zona	PC	Estación
NORTE	1	PALMA LA [29060210]
CENTRO	1	SAN ISIDRO [29060280]
	2	PROYECTOS LOS [29060250]
SUR	1	PADELMA [29065020]
	2	DESTINO EL [29060150]

Para la región de Urabá, es necesario considerar dos estaciones en todas las zonas para poder representar como mínimo el 80% de la variación de la precipitación.

Tabla 6. Estaciones que corresponden a las PC de cada una de las zonas en la región de Urabá.

URABÁ		
Zona	PC	Estación
NORTE	1	EUPOL [12010100]
	2	PRADO MAR [12010110]
CENTRO	1	AEROPUERTO LOS CEDROS [12015070]
	2	TOSCANA LA [12010050]
SUR	1	TRIGANA [12010090]
	2	TORMENTO EL [12010010]

Seguidamente se realizan las correlaciones de estas PC con los índices macroclimáticos. En la **tabla 7** y **tabla 8** se observan los resultados de las correlaciones con las PC1 a partir de tres diferentes métodos.

Las zonas bananeras de Magdalena y Urabá presentan las mejores correlaciones con el índice ONI y MEI, los cuales representan la ocurrencia de ENSO Canónico. Esto sugiere que el fenómeno de variabilidad climática más influyente para ambas regiones es el ENSO Canónico. Por el contrario, las menores correlaciones, son obtenidas con el índice NAO, lo que puede indicar que esta oscilación no es un factor determinante en la precipitación de estas regiones. Los resultados obtenidos con el índice EMI, indican una correlación débil para ambas regiones, un poco más fuertes en la región de Urabá, en la zona sur tiene una mayor influencia este fenómeno.

Todas las correlaciones asociadas a los índices ENSO tienen valores negativos, esto indica que la relación entre el índice y la precipitación es inversamente proporcional. Cuando el índice aumenta, es decir, se vuelve más positivo, indica presencia de fase "El Niño", y esto se traduce en una mayor probabilidad que se presente una disminución de las precipitaciones en la región. Caso contrario ocurre cuando el índice disminuye, es decir, se vuelve más negativo, esto indica fase "La Niña", lo que indica que es más probable que se presente un aumento de la lluvia en las dos zonas bananeras.

Tabla 7. Correlaciones entre las PC1 de las diferentes zonas de la región Magdalena y los índices macroclimáticos empleando tres diferentes métodos de correlación

MAGDALENA												
Zona	Pearson				Spearman				Kendall			
	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO
NORTE	-0,15	-0,14	-0,03	-0,05	-0,18	-0,18	-0,04	-0,03	-0,12	-0,12	-0,02	-0,02
CENTRO	-0,15	-0,12	-0,02	0,05	-0,12	-0,11	-0,02	0,07	-0,08	-0,08	-0,01	0,04
SUR	-0,26	-0,25	-0,08	-0,02	-0,22	-0,21	-0,06	0,00	-0,15	-0,15	-0,04	0,00

Tabla 8. Correlaciones entre las PC1 de las diferentes zonas de la región Urabá y los índices macroclimáticos empleando tres diferentes métodos de correlación.

URABÁ												
Zona	Pearson				Spearman				Kendall			
	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO
NORTE	-0,19	-0,19	-0,08	-0,05	-0,22	-0,22	-0,07	-0,06	-0,15	-0,15	-0,04	-0,04
CENTRO	-0,21	-0,19	-0,09	0,00	-0,19	-0,18	-0,06	0,01	-0,13	-0,13	-0,04	0,01
SUR	-0,31	-0,27	-0,12	-0,02	-0,29	-0,25	-0,08	-0,01	-0,20	-0,17	-0,05	-0,01

Luego, en la **tabla 9** y **tabla 10** se presentan los resultados de las correlaciones rezagadas utilizando el método Pearson. Para la zona bananera de Magdalena se obtuvieron mayores correlaciones con rezago 0 y a medida que avanza el rezago los valores de las correlaciones van disminuyendo, lo que indica que la respuesta del comportamiento del fenómeno se refleja en el patrón de lluvia en esta zona, en el mismo mes

Tabla 9. Correlaciones de Pearson con rezago de hasta 5 meses, entre las PC1 de las diferentes zonas de zona bananera de Magdalena y los índices macroclimáticos.

MAGDALENA												
Rezago (mes)	NORTE				CENTRO				SUR			
	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO
1	-0,11	-0,10	-0,02	-0,03	-0,13	-0,12	-0,01	0,05	-0,22	-0,22	-0,05	-0,03
2	-0,07	-0,07	-0,02	-0,07	-0,10	-0,11	0,01	-0,02	-0,18	-0,18	-0,02	-0,08
3	-0,02	-0,04	-0,03	-0,07	-0,07	-0,09	0,03	-0,09	-0,13	-0,14	-0,01	-0,14
4	0,01	-0,01	-0,03	-0,07	-0,06	-0,08	0,03	-0,07	-0,08	-0,11	-0,01	-0,13
5	0,03	0,01	-0,03	-0,02	-0,05	-0,07	0,03	-0,01	-0,04	-0,08	-0,01	-0,09

Por otro lado, para la zona bananera de Urabá se observa un aumento en los valores de correlación para el rezago de 1 y 2 meses en las zonas norte y centro. Para la zona sur las mejores correlaciones se obtienen en el rezago 0. Este resultado es de esperarse, debido a que la zona sur se encuentra mucho más cercana a la región del océano Pacífico que sufre efectos directos durante los fenómenos ENSO. En esta zona la respuesta del fenómeno tiene una influencia en el patrón de lluvia hasta dos (2) meses después, es de notar que este fenómeno explica el comportamiento de la lluvia mensual menos de un 20%, el restante 80% es responsable de otros fenómenos como el tránsito de la ZCIT, chorro de Choco, brisa mar-tierra, proceso de convección.

Tabla 10. Correlaciones de Pearson con rezago de hasta 5 meses, entre las PC1 de las diferentes zonas de la zona bananera de Urabá y los índices macroclimáticos.

URABÁ												
Rezago (mes)	NORTE				CENTRO				SUR			
	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO	ONI	MEI	EMI	NAO
1	-0,20	-0,19	-0,09	-0,10	-0,23	-0,17	-0,10	-0,09	-0,29	-0,23	-0,12	-0,06
2	-0,20	-0,18	-0,10	-0,08	-0,23	-0,17	-0,12	-0,05	-0,27	-0,21	-0,14	-0,06
3	-0,19	-0,16	-0,09	-0,10	-0,23	-0,18	-0,10	-0,05	-0,23	-0,19	-0,13	-0,06
4	-0,17	-0,14	-0,08	-0,05	-0,21	-0,18	-0,08	-0,02	-0,18	-0,14	-0,12	0,03
5	-0,15	-0,13	-0,06	-0,07	-0,19	-0,19	-0,06	-0,04	-0,12	-0,10	-0,09	0,00

4.5.4. Conclusiones

- Las estaciones que resaltan como PC1 identificadas en este estudio, pueden ser de gran utilidad cuando se desea observar la climatología general de la precipitación de una zona, debido a que estas son las que representan el mayor porcentaje de variabilidad climática.
- En el análisis espectral se identifican los ciclos anuales, semianuales y fenómenos ENSO, corroborando que definitivamente son determinantes para los patrones de precipitación de las zonas bananeras de Urabá y Magdalena. Adicionalmente, se detectan señales de fuertes ciclos correspondientes a otros fenómenos macroclimáticos que no se habían considerado, OCB, MJO y Ciclos solares. Se recomienda explorar estos fenómenos macroclimáticos y sus relaciones con la variabilidad de la precipitación de las regiones bananeras de Magdalena y Urabá para futuras investigaciones.
- De los fenómenos macroclimáticos considerados en este estudio el ENSO Canónico presentó los mejores resultados de correlación, con valores de correlación negativa, específicamente, la mejor correlación corresponde a la zona bananera sur de Urabá, con una correlación de -0,31 ($p < 0.05$). En la ciencia de la Meteorología estos valores de correlación son relevantes debido a que la variabilidad de la precipitación de una región depende de múltiples factores. Por otro lado, los resultados de las correlaciones con el índice NAO, fueron muy débilmente significativos ($p < 0.05$).

4.5.5. Referencias bibliográficas

- Aguirre-Cárdenas, A. D., Almanza-Velasco, S., & Ivanova, Y. (2018). Influencia del fenómeno de oscilación cuasi-bienal en las afluencias del sistema sur de abastecimiento de Bogotá. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*, 18(1), 16–24. <https://doi.org/10.19053/1900771X.v18.n1.2018.7822>
- Barreto, C. (2011). Introducción a la estadística no paramétrica (Parte II) [Archivo PDF]. Recuperado de: <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/wp-content/uploads/2019/01/Coeficiente-de-correlaci%C3%B3n-de-Spearman-.pdf> [26 de diciembre 2021]
- Bernal G., Poveda G., Roldán P. & Andrade C. (2006). Patrones de variabilidad de las temperaturas superficiales del mar en la Costa Caribe Colombiana. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 30 (115): 195-208. 2006. ISSN 0370-3908.
- CIOH (2008). Climatología del Caribe Santa Marta. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Recuperado de: <https://www.cioh.org.co/meteorologia/Climatologia/ResumenSantaMarta2.php> [26 de diciembre 2021].
- Colominas, M., Schlotthauer, G., Flandrin, P. & Torres, M. (2011). Descomposición empírica en modos por conjuntos completa con ruido adaptativo y aplicaciones biomédicas.
- Córdoba-Machado S., Palomino-Lemus R., Gámiz-Fortis S., Castro-Díez Y., Esteban-Parra M. (2015). Assessing the impact of El Niño Modoki on seasonal precipitation in Colombia, *Global and Planetary Change*, Volume 124, 2015, p. 41-61, ISSN 0921-8181, <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2014.11.003>.
- Giannini, A., Kushnir, Y., & Cane, M. A. (2000). Interannual Variability of Caribbean Rainfall, ENSO, and the Atlantic Ocean, *Journal of Climate*, 13(2), 297-311. [Fecha de Consulta 26 de octubre de 2021]. Disponible en: https://journals.ametsoc.org/view/journals/clim/13/2/1520-0442_2000_013_0297_ivocre_2.0.co_2.xml
- Green, A., Goddard, L., & Cousin, R. (2011). Web Tool Deconstructs Variability in Twentieth-Century Climate. *Eos*, Vol. 92, N.o 45, pp. 397–398. [Fecha de Consulta 24 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1029/2011EO450001>
- Guarín, G. (2011). Impacto de la Variabilidad Climática en la Producción de Banano en el Urabá Antioqueño. Trabajo de grado – Maestría. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8111>
- IGAC. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. (2007). Estudio semidetallado de suelos de las áreas potencialmente agrícolas. Urabá. Departamento de Antioquia. 489 p
- Índice Multivariado ENOS (MEI). Instituto del Mar del Perú. (s. f.). Instituto del mar del Perú - IMARPE. Recuperado 24 de noviembre de 2021, de http://www.imarpe.gob.pe/imarpe/index2.php?id_seccion=1017809060000000000000

- Londoño, J. (2017). Suelos afectados por sales en la zona bananera de Santa Marta. Trabajo de grado – Maestría. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/58793>
- Mesa, O., Poveda G. & Carvajal L.F. (1997). Introducción al Clima de Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Posgrado en Aprovechamiento de Recursos Hidráulicos, Medellín. 390 p.
- Nystuen, J.A. & C.A. Andrade. (1993). Tracking mesoscale ocean features in the Caribbean Sea using geosat altimetry. *Journal of Geophysical Research*, 98(C5): 8389-8394.
- Poveda, G. (1998). Retroalimentación dinámica entre el fenómeno El Niño-Oscilación del Sur y la hidrología de Colombia. Tesis como requisito para el título de Doctor en Ingeniería en Aprovechamiento de Recursos Hidráulicos. Universidad Nacional de Colombia.
- Poveda, G., Gil, M., & Quiceno, N. (1998). El ciclo anual de la hidrología de Colombia en relación con el ENSO y la NAO. *Bulletin de l'Institut français d'études andines*, 27(3).
- Poveda, G., & Mesa, O. (1999). La corriente de chorro superficial del oeste ("del Chocó") y otras dos corrientes de chorro en Colombia: climatología y variabilidad durante las fases del ENSO. *Revista Académica Colombiana de Ciencia*, 23(89), 517-528.
- Poveda, G., & Mesa, O. (2000). On the existence of Lloró (the rainiest locality on earth): enhanced ocean land atmosphere interaction by a low level jet. *Geophysical Research Letters*, 27(11): 1675- 1678.
- Rogers, J. C. (1988) Precipitation variability over the Caribbean and tropical Americas associated with the Southern Oscillation, *J. Climate*, 1, 172-182.
- Serna, L., Arias, P., & Vieira, S. (2018). Las corrientes superficiales de chorro del Chocó y el Caribe durante los eventos de El Niño y El Niño Modoki. *RACCEFYN*, 42(165), 410-421. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.705>.
- Tiscornia, G., Cal, A., & Giménez, A. (2016). Análisis y caracterización de la variabilidad climática en algunas regiones de Uruguay. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42(1), 66-71. [Fecha de Consulta 24 de octubre de 2021]. ISSN: 0325-8718. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86445998013>
- Torres, M., Colominas, M., Schlotthauer, G., & Flandrin, P. (2011). A complete ensemble empirical mode decomposition with adaptive noise. 2011 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP), 4144-4147.
- Vernette, G. (1985). La plata-forme continentale Caraïbe du Colombie (du débouché du Magdalena au golfe de Morrosquillo). Importance du diapirisme argileux sur la morphologie et la sedimentation. Thèse de doctorat d'état ès Sciences presentee a l'Université de Bordeaux I. 381 p.
- Wilks, D. (1995). *Statistical methods in the atmospheric sciences* (2da Edición). San Diego: Academic Press.
- Yepes, L y Poveda Jaramillo, G. (2011). Identificación de tendencias de largo plazo en el potencial de velocidad a los 200 HPA como proxy de la oscilación de Madden-Julian. Documento de Conferencia. Universidad.



Biotecnología

5. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

5.1. EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD Y LA RESISTENCIA A FUNGICIDAS DE DIFERENTES AISLAMIENTOS DE *Pseudocercospora fijiensis* EN VARIEDADES SUSCEPTIBLES DE *Musa acuminata* COMO HERRAMIENTA PARA LA BÚSQUEDA DE NUEVOS BLANCOS PARA EL CONTROL DE LA SIGATOKA NEGRA

Autores: Isabel Cristina Calle Balbin, Javier Mauricio Torres Bonilla, Vicente Rey, Sebastián Zapata, Juan Gonzalo Morales Osorio, Rafael Eduardo Arango Isaza.

Resumen

La Sigatoka Negra causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, se ha convertido en una de las enfermedades más limitantes para el cultivo del banano de tipo exportación, debido, en gran parte, a la aparición de cepas resistentes, a los fungicidas que se usan para su control. Por ello es prioritaria la búsqueda de alternativas de control para este patógeno. Enmarcado en esta problemática en años anteriores en el grupo Biotecnología Vegetal UNALMED – CIB caracterizó su cepario en cuanto a patogenicidad y resistencia a fungicidas. Encontrándose que las cepas con una pigmentación oscura fueron las más patogénicas y resistentes a fungicidas. Estos resultados centraron la atención en la melanina un pigmento oscuro, presente en muchos organismos incluidos los hongos, brindándoles características adaptativas, de supervivencia al ambiente y de capacidad patogénica. Se ha reportado que en *P. fijiensis* la melanina se encuentra presente en la mayoría de sus estructuras; sin embargo, el efecto que tiene sobre este hongo el Tricyclazole, un compuesto inhibidor de la síntesis de melanina es desconocido. En el presente trabajo se evaluó a nivel *in vitro*, el efecto del Tricyclazole sobre el micelio de ocho aislamientos que presentan diferente tonalidad, y sobre ascosporas de *P. fijiensis* obtenidas a partir de hojas provenientes de la zona bananera de Urabá, con sintomatología característica de la Sigatoka Negra. Se determinó que en el caso del micelio no se da una disminución significativa del crecimiento incluso al adicionar el fungicida en una alta concentración, sin embargo se observó que, con el aumento de la concentración del fungicida en el medio, se aumenta la producción de un compuesto rojizo lo cual es más notorio en las cepas con tonalidad oscura. También se observó una disminución en la elongación del tubo germinativo con relación al aumento de la concentración del Tricyclazole. Los resultados obtenidos indican que el Tricyclazole tiene un efecto directo en algunos procesos metabólicos de *P. fijiensis*, alterando la producción de melanina en el micelio y la elongación del tubo germinativo, sin embargo, se requieren más estudios que confirmen su efecto durante su ciclo de infección. Adicionalmente se encuentra en proceso la búsqueda de un gen de control interno *Housekeeping* que permita determinar de forma relativa los niveles de expresión de genes en este patógeno.

5.1.1. Introducción

El banano y el plátano son atacados por múltiples plagas y enfermedades entre las que se encuentra la Sigatoka negra, que es causada por el hongo Ascomicete *Pseudocercospora fijiensis* (Anamorfo *Mycosphaerella fijiensis*) (Deighton P. W. Crous, & X. Mourichon 2002), este hongo ataca las hojas de las plantas, causando manchas foliares, lo que ocasiona una disminución considerable en la calidad del fruto (Meredith & Lawrence, 1969). El control de este patógeno se realiza químicamente con la aplicación extensiva de fungicidas (Ploetz, 2001). Sin embargo, se ha reportado resistencia por parte del hongo a algunos de los componentes activos empleados para su control (Asoles, Estrobirulinas), haciéndose necesaria una mayor frecuencia en la aplicación de fungicidas, lo que ha obligado a la búsqueda de nuevas moléculas o incluso al diseño de nuevas formas de control cultural, lo cual no es muy eficiente (Churchill, 2011).

Como parte del diseño y búsqueda de nuevos agentes químicos para controlar la Sigatoka Negra, es necesario estudiar a fondo las rutas metabólicas importantes en este hongo, una de estas podría ser la ruta de producción de la melanina, un pigmento negro que en los hongos se encuentra en las conidias; aunque en el género *Pseudocercospora* se ha detectado que también se encuentra en el micelio (Bárcena et al., 2015). Además, recientemente se ha comprobado que en *P. fijiensis* se produce melanina y que la producción de este compuesto no solo le permite invadir tejidos y evadir el sistema de defensa de la planta, sino que también actúa como fitotoxina causando muerte celular (Beltrán-García et al., 2014). Este pigmento no es esencial para el crecimiento y desarrollo del patógeno, pero se asocia con la virulencia de este, pues se cree que les puede servir como camuflaje, ofrecer protección contra diferentes tipos de radiación y temperaturas, además de ayudarlo a evadir las defensas de su hospedero (Urán y Cano, 2008). La producción de este compuestos en hongos se da a través de dos rutas, la DOPA y DHN (Langfelder et al., 2003; Cano, 2008), en las cuales no sólo es importante el compuesto final sino también las enzimas y los intermediarios de la ruta, como por ejemplo la *Scytalone Dehydratase*, enzima que al parecer puede bloquear la producción de melanina, hecho que se ha comprobado en otros hongos como el patógeno del arroz *Pyricularia oryzae*, en el cual al bloquear la producción de esta enzima se logra disminuir la capacidad patogénica (Thompson et al., 2000), incluso puede llegar a ser un efectivo control, como en el caso del Tricyclazole, un fungicida desarrollado para el control del Tizón del arroz y que inhibe la producción de melanina (Woloshuk et al., 1983).

Por otro lado, la búsqueda de nuevos genes blancos para el control de enfermedades, en muchos casos requieren determinar su comportamiento en cuanto a expresión en diferentes condiciones de crecimiento de los patógenos, e incluso en la interacción con su planta hospedera (Zhao et al., 2018). En algunos casos esta medición de la expresión se realiza o se confirma con la PCR en tiempo real con la cual se logra la cuantificación de la expresión génica mediante métodos como la cuantificación absoluta (Pfaffl, 2007; Dhanasekaran et al., 2010) o alternativamente y más usada, con la cuantificación relativa, la cual como su nombre lo indica, es relativa a uno o varios genes que por lo general son genes constitutivos, es decir su expresión no se ve afectada por las condiciones físicas y ambientales, o su afectación es mínima. Se trata de a menudo de genes asociados con procesos esenciales en la célula tales como la duplicación del material genético o la traducción de proteínas (Livak & Schmittgen, 2001; Dheda et al., 2014). A pesar de que se han descrito en diversos organismos múltiples genes constitutivos o también denominados

Housekeeping en cada organismo la expresión de este tipo de genes puede variar y por lo tanto para la selección de estos genes en cada especie se debe realizar una búsqueda exhaustiva (Lord et al., 2010).

5.1.2. Materiales y métodos

5.1.2.1. Estandarización de gen o genes de referencia interno *Housekeeping*. Se diseñaron previamente 7 juegos de primers para qPCR que amplifican genes que se han usado en otros hongos como genes calibradores o genes *Housekeeping* (**Tabla 1**). Se realizaron gradientes en PCR Convencional, y se encuentra en estandarización la amplificación por qPCR.

Tabla 1. Secuencias de primers para amplificación por qPCR. Se muestran las secuencias de 7 juegos de primers que amplifican 7 genes candidatos calibradores en *P. fijiensis*.

Código en Primer	Secuencia	Gen que amplifica
Q-71129For	TTTCTCGGCCGCTGAAATTG	Gen nuclear, reductoisomerasa
Q-71129Rev	AGAAGTTTGGAGATCGCTGGAG	
Q-209593For	TGGCGTTATCAAGAGCGTTC	Factor de elongación 1
Q-209593Rev	AGAAAAGCCAGAGTGCTGTG	
Q-86484For	CGAAATCGCACACGTCTACAAG	Ubiquitin
Q-86484Rev	TGAAAGCCCAGAACAATCGC	
Q-87079For	GAAACCTTTTGTGCTGCAC	Subunidad ribosomal 1
Q-87079Rev	TGTAATCCGTGACGCATGAC	
Q-210431For	TTGTCTTCCGCAATGCCATC	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH),
Q-210431Rev	TGAAAACACCGTGTGTGGAG	
Q-ACTF	TTACGAAGGTTTCGCTCTCC	Actina
Q-ACTR	GATGTGCGGGACAATTCAC	
Q-TubF	AGCAGATCTTCGACCCAAAG	β Tubulina
Q-TubR	TCTTGTTCTGCACGTTCTG	

5.1.2.2. Crecimiento del hongo y extracción de RNA. Se usaron las cepas de referencia C86 y C139 y se crecieron en diferentes medios de cultivo que constituyen diferentes fuentes de nutrientes (**Tabla 2**) y se permitió el crecimiento por 15 días, al término de los cuales se realizó la recolección del tejido y se almacenó debidamente marcado a -70°C hasta el día de la extracción de RNA total. Se realizaron dos réplicas del experimento, con tres repeticiones cada una. La extracción se realizó con maceración con mazo y pistilo en presencia de Nitrógeno líquido y para el caso de los tratamientos que producían poca biomasa, se realizó con micropistilo. La extracción se realizó con el Buffer PureLink™ Plant RNA Reagent (Invitrogen™, Waltham, Massachusetts, Estados

Unidos) y la precipitación se realizó con LiCl, método adaptado de Rajakani et al., 2013. El RNA total fue tratado con Dnasa I (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos), para eliminar el DNA contaminante y se comprobó su correcta digestión mediante PCR. Posteriormente se realizó la síntesis de cDNA con el kit Maxima First Strand cDNA Synthesis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos).

Tabla 2. Diferentes medios de cultivo empleados para el crecimiento de los hongos. Se muestran los diferentes medios de cultivo y las cepas utilizadas para la estandarización del mejor *Housekeeping*.

Cepas	Tratamientos
C86 y C139	Sabouraud Sólido
	Sabouraud Líquido
	PDA
	PDB
	V8 Sólido
	V8 Líquido
	Medio Pobre

5.1.2.3. Establecimiento del medio mínimo para crecimiento. Se crecieron dos aislamientos de *P. fijiensis* 080930 y C86, en medio líquido V8, Sabouraud en diferentes concentraciones, 100, 50, 30 y 10% y agua con CaCO₃ al 0,1%. Se permitió el crecimiento por 15 días y posteriormente se determinó la condición y el medio en el que el hongo podía crecer.

5.1.2.4. Estandarización del método de extracción de RNA a partir de ascosporas. Se realizó el montaje para la descarga de Ascosporas de *P. fijiensis* según protocolo establecido por CENIBANANO con algunas modificaciones. De manera breve se tomaron cuatro cuadrados de aproximadamente un centímetro cada uno, se cosieron a una hoja circular de papel Kraft de cerca de 35 mm de diámetro, se realizó cámara húmeda con servilletas por alrededor de 4 días, al término de los cuales se realizó la descarga sobre agua destilada suplementada con Tween 80 al 0,1%. Se descargaron en la misma solución 24 discos con hojas, permitiendo la descarga por una hora. Después de estas descargas se observó al microscopio para confirmar la presencia de Ascosporas y se pasó la solución a un tubo de 1,5 ml. Se secaron las ascosporas al vacío y se realizó la extracción de RNA con ayuda de Nitrógeno líquido y micropistilo. El resto del proceso de extracción y purificación se realizó como se había descrito previamente.

5.1.2.5. Determinación del efecto del tricyclazole sobre micelio. Se crecieron diferentes cepas de *P. fijiensis* en medio PDA, incentivando el crecimiento radial del patógeno en la caja, se dejó crecer por 15 días, al término de los cuales se raspó el micelio superficial con ayuda un pincel y agua estéril, se depositó en un tubo Falcon, y posteriormente se filtró con filtro de etamina y finalmente se sirvió una cantidad conocida de cada hongo en cajas de PDA y PDA suplementado con Tricyclazole a 100 y 200 mg/L. Se llevó registro del crecimiento a los 5 y 15 días.

5.1.2.6. Determinación del efecto del tricyclazole sobre ascosporas. Se realizó el montaje para la descarga de Ascosporas de *P. fijiensis* según protocolo establecido por CENIBANANO. De manera breve se tomaron nueve cuadrados de aproximadamente un centímetro cada uno, se cosieron a una hoja circular de papel Kraft de cerca de 100 mm de diámetro, se realizó cámara húmeda con

servilletas por alrededor de 4 días, al término de los cuales se realizó la descarga sobre agar granulado al 2% sólo como control positivo y suplementado con Tricyclazole 100 y 200 mg/L. Se usaron 3 cajas por tratamiento. Se incubó por 48 horas al término de las cuales se tomaron fotografías en microscopio óptico, objetivo de 20X. La medición de los tubos germinativos se realizó en el software ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>). A partir de los datos de longitud del tubo germinativo, se determinó mediante una ANOVA que existe una diferencia significativa entre la longitud del tubo de los diferentes tratamientos, y se verificó la normalidad y la homocedasticidad de los datos y se aplicó una prueba de Tukey para determinar la diferencia entre cada uno de los grupos. Estos análisis se realizaron en el programa RStudio (<https://www.rstudio.com/products/rstudio/>).

5.1.2.7. Prueba de patogenicidad. Continuando con las pruebas de patogenicidad, el año anterior se realizó la primera réplica de este experimento, y este año se realizó la segunda réplica, realizándose como se reporta en el informe anterior. De manera breve: el análisis se realizó con 10 aislamientos de *P. fijiensis*, los cuáles se encuentran almacenados en el cepario del grupo y que provienen de diferentes regiones: C86, C139, X845, X846, 111029, 111033, 120903, 080930, N85220-23_9 y N85220-24. Cada aislamiento de *P. fijiensis* fue crecido en forma extendida partiendo de una suspensión micelial, se tomó el micelio aéreo de los cultivos 15 días después con la ayuda de un pincel, llevando la suspensión micelial a una concentración de 3×10^5 fragmentos de micelio /ml en un total de 20ml. El micelio fue centrifugado a 4000 rpm por 20 minutos, posteriormente se eliminó la mitad del sobrenadante y se reemplazó por gelatina microbiológica al 3% m/v y Tween 20 al 0,1%. Se trasladó la suspensión a frascos con atomizador y se infectó con cada aislamiento tres hojas por el envés de 2 plantas de banano variedad Williams. Se inocularon también 3 hojas de 2 plantas con agua más gelatina microbiológica 3% m/v y Tween 20 al 0,1%, las cuales fueron usadas como control negativo de la infección. Se llevó registro fotográfico a los 0, 6, 9, 12, 15, 20, 30 y 40 días post-inoculación (dpi).

5.1.3. Resultados

5.1.3.1. Estandarización del gen o genes Housekeeping. Se estandarizaron las condiciones de amplificación por PCR convencional, determinándose que la mejor temperatura de annealing para todos los primers fue de 60°C. Sin embargo, las condiciones de amplificación por qPCR para los 7 juegos de primers continúan en estandarización.

5.1.3.2. Crecimiento del hongo y extracción de RNA. Se recolectó el micelio de los hongos luego de 15 días de crecimiento y se les realizó la respectiva extracción de RNA, extrayéndose en total las 72 muestras de RNA correspondientes a todos los tratamientos que se presentan en la Tabla 2, excepto el tratamiento de medio mínimo sobre el cual se hablará más adelante. Debido a problemas en la extracción, tales como baja concentración en el resultado final e incluso ausencia de RNA integro, fue necesario repetir algunas extracciones. Las imágenes de calidad de los RNAs extraídos, se observan en la **figura 1**.

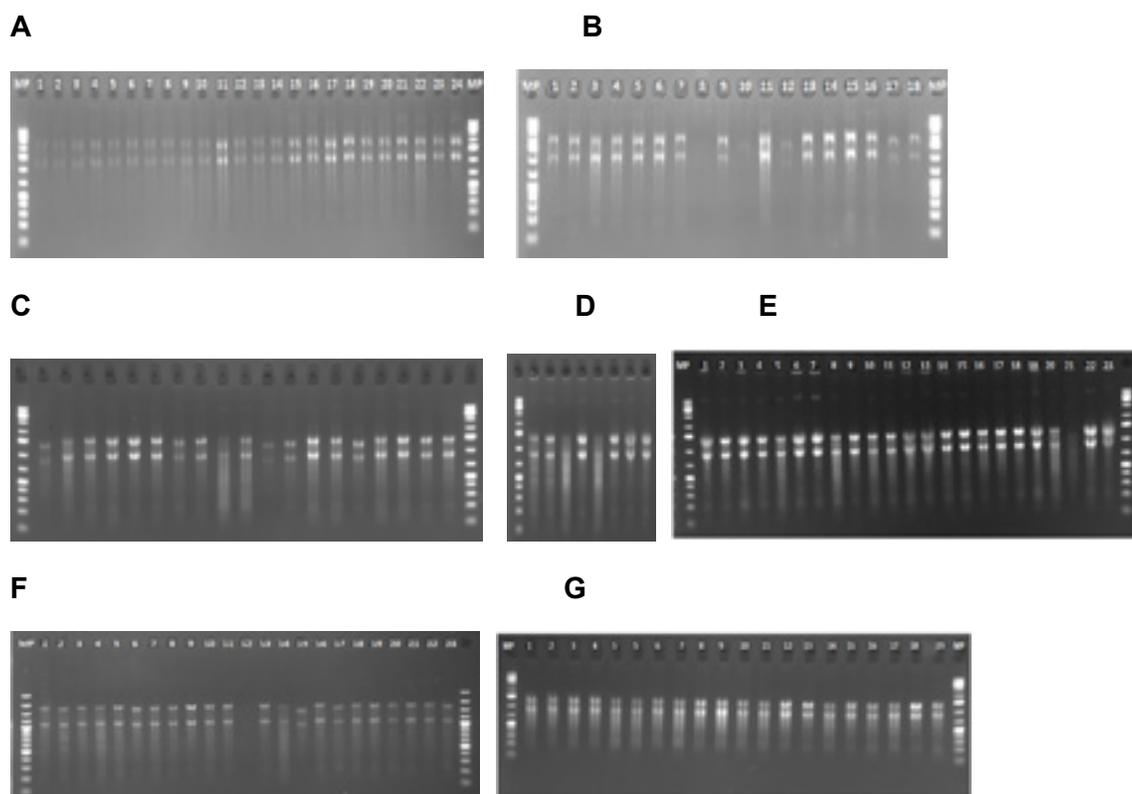


Figura 1. Fotografías geles de agarosa de los RNAs Extraídos. Imágenes **A a E**. RNAs totales extraídos, **F y G**. RNAs libres de DNA contaminante.

5.1.3.3. Establecimiento del medio mínimo para crecimiento. Luego de 15 días de crecimiento se verificó la cantidad de biomasa producida por el hongo en cada uno de los medios, encontrándose crecimiento en todos los medios excepto en agua suplementada con CaCO_3 al 0,1% (**Figura 2A y 2B**).

A



B

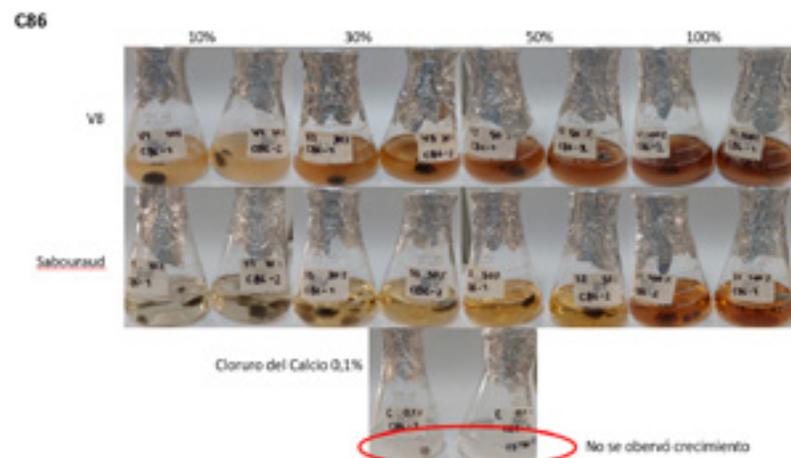


Figura 2. Imágenes de *P. fijiensis* creciendo en las diferentes concentraciones de medio. **A.** Crecimiento de la cepa 080930, **B.** Crecimiento de la cepa C86

5.1.3.4. Estandarización método de extracción de rna a partir de ascosporas. Se realizaron diferentes intentos de extracción de RNA a partir de Ascosporas por diferentes metodologías (ver **Figura 3A a 3D**). Sin embargo, debido a la poca cantidad biomasa de partida no fue posible la visualización del RNA en gel de agarosa (**Figura 3F**), pero si se logró su cuantificación en Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) encontrándose una concentración de 8 ng/μl.

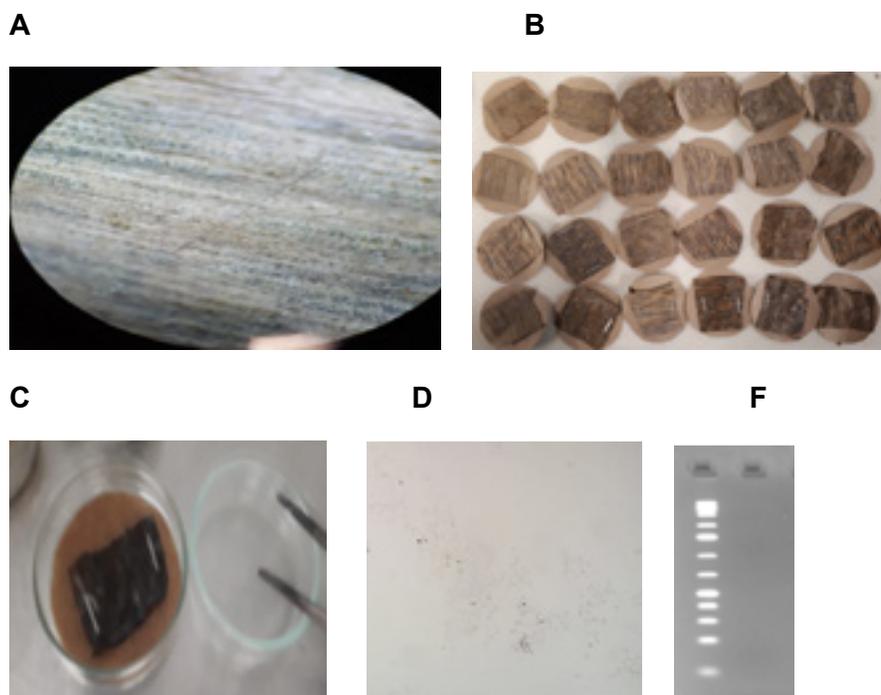
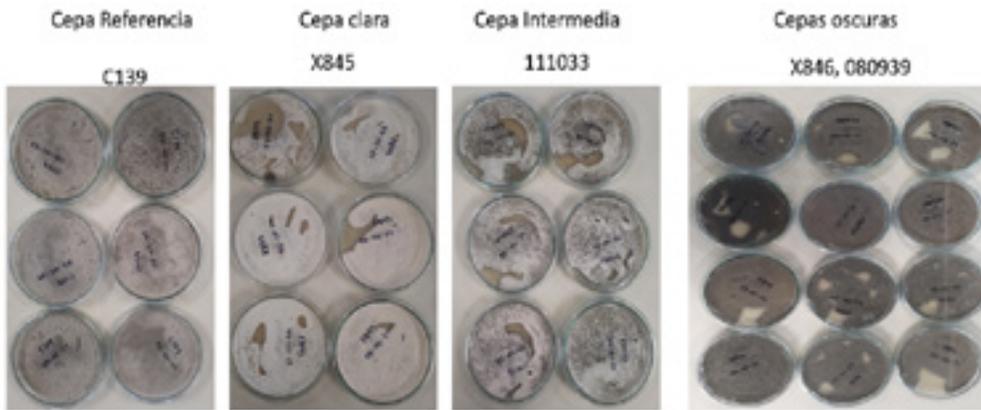


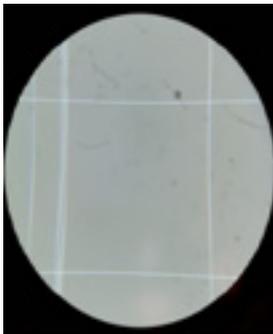
Figura 3. Imágenes del proceso de descarga de Ascosporas y extracción de RNA a partir de las mismas. **A.** Tomada al estereoscopio de los peritecios del hongo, **B.** Círculos de papel Kraft con los fragmentos foliares cosidos, **C.** Proceso de descarga, **D.** Suspensión de Ascosporas y **F.** Gel de agarosa donde se corrió el RNA extraído.

5.1.3.5. Determinación del efecto del tricyclazole sobre micelio. Se preparó el inóculo para las pruebas de Tricyclazole, como se observa en las **imágenes 4A a 4C**. Posteriormente se observó el crecimiento de cada cepa en cada concentración, evidenciándose un retardo inicial en el crecimiento de los hongos en presencia del Tricyclazole, en comparación con el control sin Tricyclazole, además de que los hongos crecían blancos. Luego de 5 días de crecimiento empezaron a tornarse color café oscuro y en las cepas de tonalidad oscura se evidenció la producción de un compuesto rojizo intenso que se secretaba al medio, imágenes de la **figura 5**.

A



B



C

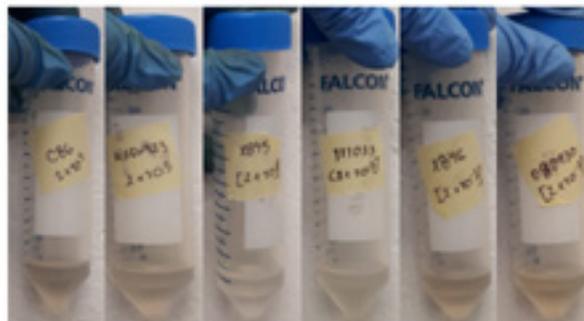
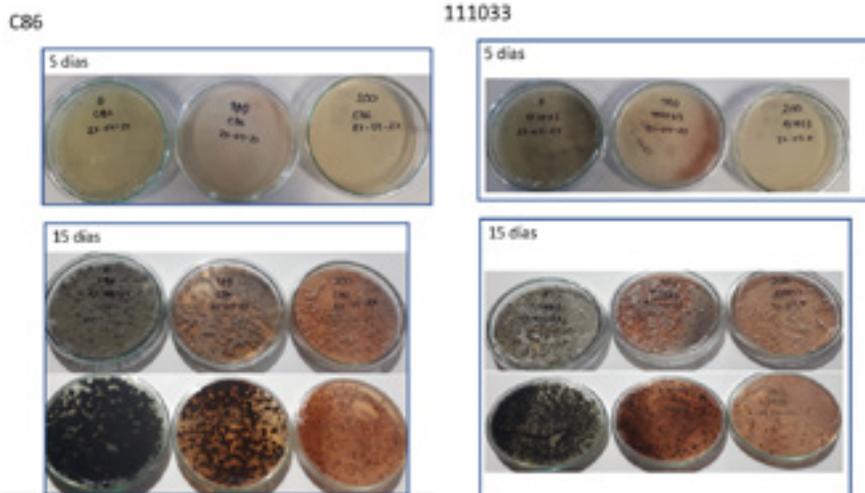


Figura 4. Imágenes del proceso de preparación del inóculo para el montaje del experimento del efecto del Tricyclazole sobre micelio. **A.** Cepas utilizadas en crecimiento, **B.** Cámara de Neubauer con los fragmentos de micelio y **C.** Suspensiones miceliales finales.



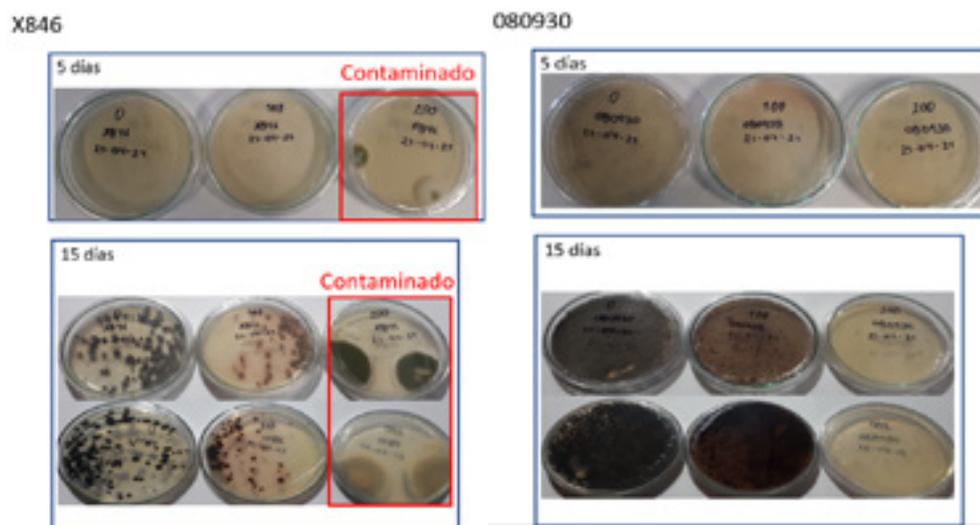


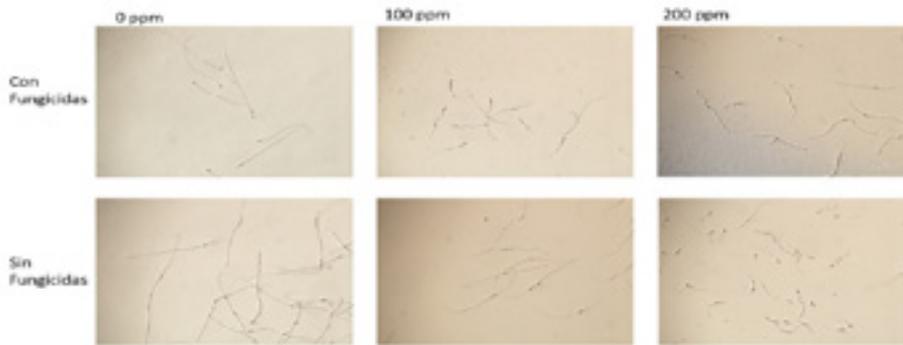
Figura 5. Fotografías de las diferentes cepas evaluadas tomadas a los 5 y 15 días de crecimiento. Se muestra el crecimiento de 4 aislamientos: C86, 111033, X846 y X845 en presencia de diferentes concentraciones de Tricyclazole (0, 100 y 200 mg/L).

5.1.3.6. Determinación del efecto del tricyclazole sobre ascosporas. Se verificó que, a una concentración de 1 ppm o inferior, no se observa ningún tipo de efecto del Tricyclazole sobre la geminación de las Ascosporas (**Ver Figura 6A**). Sin embargo, al aumentar la concentración a 100 y 200 ppm (**Ver Figuras 6B a 6D**), se evidencia una disminución en el crecimiento del tubo germinativo, efecto que es más notorio en la concentración de 200 ppm. Los análisis estadísticos preliminares sustentan estos resultados, ya que el análisis de varianza (ANOVA) muestra una diferencia significativa en la elongación del tubo germinativo en los diferentes tratamientos (**Ver figuras de 7A a 7C**). Se comprobó criterio de normalidad, y a pesar de que no cumplió criterio de homocedasticidad y debido a que el N se considera lo suficientemente grande, se aplicó un modelo paramétrico.

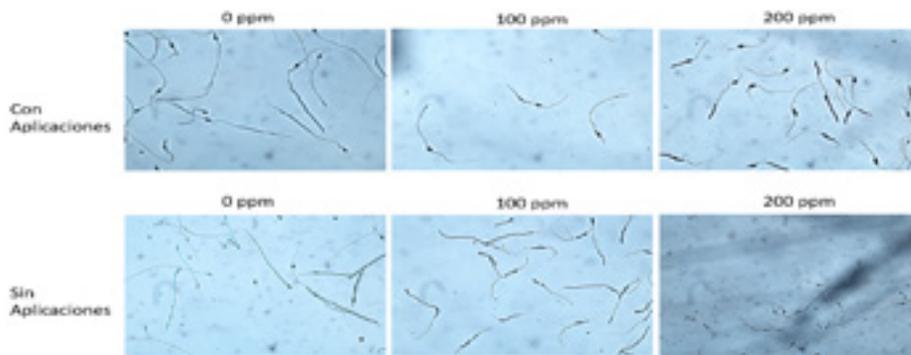
A



B



C



D

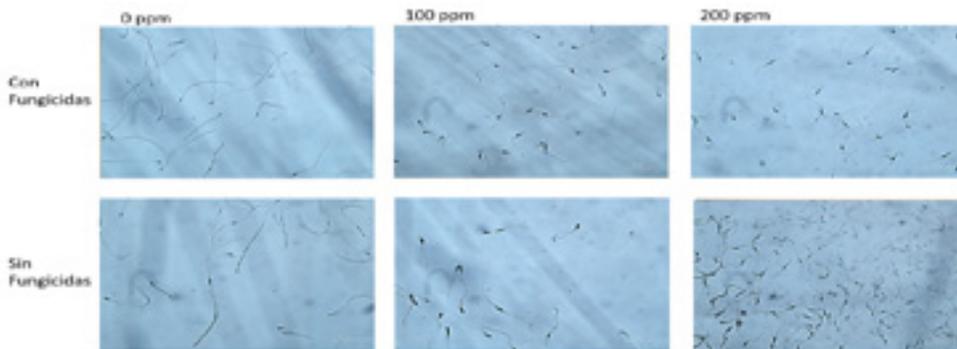


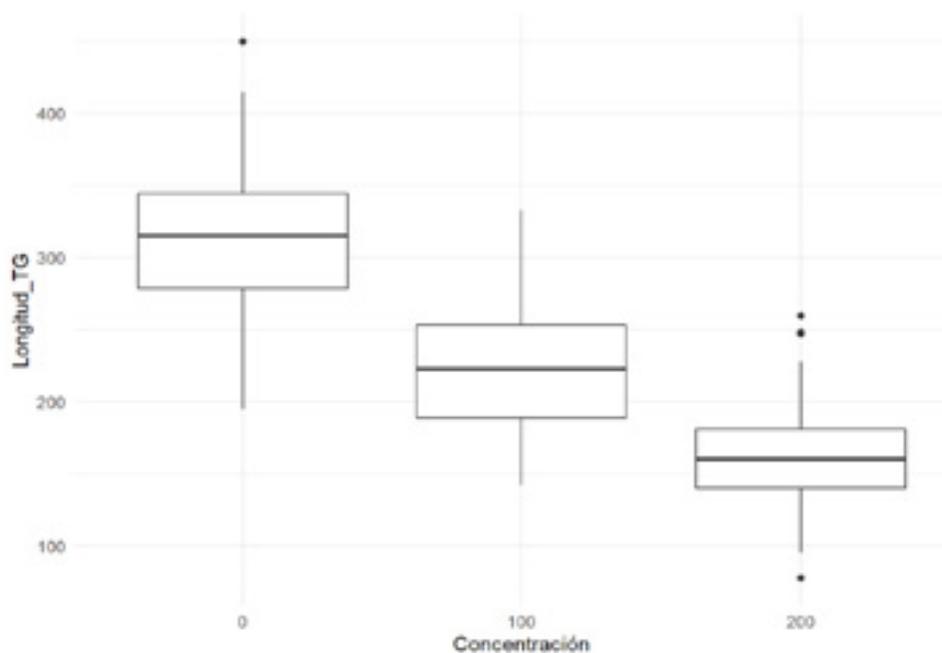
Figura 6. Imágenes tomadas de las Ascosporas elongando el tubo germinativo, en presencia de Tricyclazole. **A.** Evaluación de 0; 0,3 y 1 ppm. **B.** Evaluación de 0, 100 y 200 ppm réplica 1, **C.** Evaluación de 0, 100 y 200 ppm réplica 2 y **D.** Evaluación de 0, 100 y 200 ppm réplica 3.

A

Concentración	promedio	desviacion	coef_variacion	minimo	maximo	N
<fct>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<int>
0	312.9733	49.69317	15.87777	194.843	449.559	120
100	222.6263	44.10889	19.81297	142.047	332.989	120
200	161.6463	33.21515	20.54804	77.331	259.296	120

3 rows

B



C

term	contrast	null.value	estimate	conf.low	conf.high	adj.p.value
<chr>	<chr>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<dbl>	<dbl>
Concentración	100-0	0	-90.34697	-103.37816	-77.31577	0
Concentración	200-0	0	-151.32894	-164.35814	-138.29574	0
Concentración	200-100	0	-60.97997	-74.01117	-47.94878	0

3 rows

Figura 7. Resultados de los análisis estadísticos preliminares realizados. **A.** Datos descriptivos básicos, **B.** Diagrama de cajas longitud tubo germinativo vs Concentración de Tricyclazole y **C.** Resultados de la Prueba de ANOVA realizada.

5.1.3.7. Prueba de patogenicidad. Para realizar la réplica de la infección, se crecieron los 10 aislamientos en 7 cajas con PDA (**Figura 8A y 8B**). Como datos preliminares se puede observar que la infección está ocurriendo de forma exitosa, sin embargo, aún falta el registro de las últimas etapas de la infección, por lo que aún no se puede concluir acerca de la patogenicidad de los aislamientos evaluados.

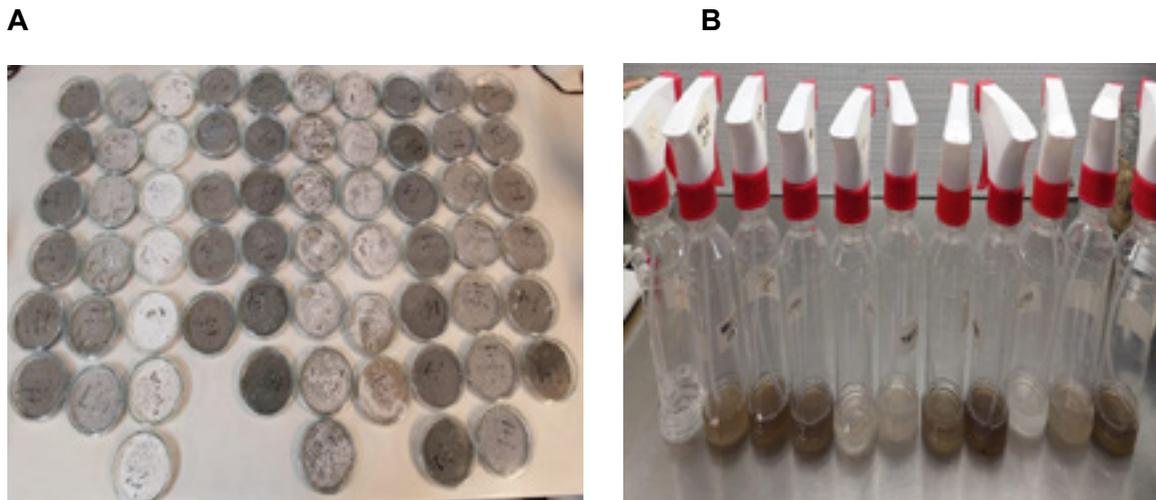


Figura 8. Imágenes del montaje del experimento de infección. **A.** Cajas de Petri con el hongo en crecimiento con medio PDA, **B.** Suspensiones miceliales.

C- 9 dpi



C86 9 dpi



C139 9 dpi



X845 9 dpi

Planta 1



Planta 2



X846 9 dpi

Planta 1



Planta 2



111029 9 dpi

Planta 1



Planta 2



111033 dpi

Planta 1



Planta 2



120903 dpi



Planta 1



Planta 2



080930 dpi



Planta 1



Planta 2



Figura 9. Fotografía por el haz y el envés de las hojas infectadas de cada una de las plantas. Fotografías tomadas 9 dpi de todas las hojas infectadas con los aislamientos C86, C139, X845, X846, 111029, 111033, 120903 y 080930. Y de las plantas control sin infección.

5.1.4. Discusión

El análisis de expresión de genes mediante PCR en tiempo real es una técnica muy utilizada para determinar la importancia de ciertas rutas metabólicas en diferentes microorganismos (Temate-Tiagueu et al., 2016). Para la cuantificación de la expresión se utilizan dos métodos: el primero es la cuantificación absoluta, la cual cuenta con varios inconvenientes puesto que su estandarización es bastante dispendiosa (Pfaffl, 2007; Dhanasekaran et al., 2010). El segundo método y que ha venido tomando mayor aceptación en los últimos años es la cuantificación relativa, en la cual se utiliza uno o varios genes de referencia como calibradores y que permite como su nombre lo indica dar una cuantificación relativa a estos genes (Livak & Schmittgen, 2001). Gracias a estos genes de referencia además de la cuantificación, se puede normalizar las muestras haciendo que los resultados no se vean distorsionados por errores tales como diferencia en la cantidad inicial de muestra o problemas en el montaje de la PCR (Livak & Schmittgen, 2001). Estos genes calibradores suelen ser genes que codifican para proteínas ribosomales u otras proteínas requeridas para la división celular o procesos esenciales en la célula (Dheda et al., 2014).

Es necesario comprobar que la expresión de los genes de referencia internos no se vea afectada por las condiciones de crecimiento y/o factores medioambientales. En este trabajo se pretende seleccionar el mejor o mejores genes calibradores o genes *Housekeeping*, para el caso de *Pseudocercospora fijiensis* se tienen en este momento siete juegos de primers que codifican para proteínas ribosomales o proteínas implicadas en el proceso de traducción (Subunidad ribosomal 1 y Factor de elongación 1), también genes implicados en la glucólisis y otros procesos celulares como el reciclaje de proteínas (GADPH, Ubiquitina y Reducto isomerasa) y genes implicados en la división celular (β Tubulina, Actina). Adicionalmente se logró con éxito la extracción de RNA total de las diferentes muestras para futuros análisis.

En cuanto al Tricyclazole se logró determinar que, en el caso de micelio, expuesto a este fungicida, se produce un compuesto rojizo que ya había sido reportado en otros hongos incluidas especies del género *Pseudocercospora*. Este compuesto se produce por la inhibición de la enzima Scytalone dehidratase lo que impide continuar con la producción de Melanina a partir de Acetil CoA, ocasionando que se acumule el Flaviolín, un compuesto intermediario de la ruta de producción de melanina y que además es tóxico para algunos hongos (Bárcena et al., 2015). Adicionalmente se observó una inhibición en la elongación del tubo germinativo lo cual concuerda con lo reportado en otros hongos donde se ha visto que la producción de melanina está implicada en el proceso de germinación de las esporas y en el proceso infectivo en general (Woloshuk et al., 1983; Kubo et al., 1985).

En cuanto a las pruebas de patogenicidad, anteriormente se había realizado una infección para determinar el grado de patogenicidad de los 10 aislamientos, sin embargo, era necesario realizar una réplica del experimento para confirmar los resultados previamente obtenidos.

5.1.5. Conclusiones

- En este trabajo se sentaron las bases que permitirán determinar el mejor o mejores genes *Housekeeping* que a futuro permitirán realizar análisis de expresión de genes.
- Con este trabajo se determinó que el Tricyclazole, un fungicida usado en arroz para el control del tizón del arroz afecta el metabolismo de *P. fijiensis* a nivel *in vitro*, desencadenando la acumulación de compuestos a nivel micelial e inhibiendo la elongación del tubo germinativo.

5.1.6. Referencias bibliográficas

- Bárcena, A., Petroselli, G., Velasquez, S. M., Estévez, J. M., Erra-balsells, R., Balatti, P. a, & Saparrat, M. C. N. (2015). Response of the fungus *Pseudocercospora griseola* f . mesoamericana to Tricyclazole. <http://doi.org/10.1007/s11557-015-1102-7>
- Beltrán-García, M. J., Prado, F. M., Oliveira, M. S., Ortiz-Mendoza, D., Scalfo, A. C., Pessoa, A., ... Di Mascio, P. (2014). Singlet molecular oxygen generation by light-activated DHN-melanin of the fungal pathogen
- Churchill A.C.L. (2011). *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. MOLECULAR PLANT PATHOLOGY. 12(4), 307–328
- Dhanasekaran, S., Doherty, T. M., Kenneth, J., & TB Trials Study Group. (2010). Comparison of different standards for real-time PCR-based absolute quantification. *Journal of immunological methods*, 354(1-2), 34-39.
- Dheda, K., Huggett, J. F., Bustin, S. A., Johnson, M. A., Rook, G., & Zumla, A. (2004). Validation of housekeeping genes for normalizing RNA expression in real-time PCR. *Biotechniques*, 37(1), 112-119.
- Kubo, Y., Suzuki, K., Furusawa, I., & Yamamoto, M. (1985). Melanin biosynthesis as a prerequisite for penetration by appressoria of *Colletotrichum lagenarium*: site of inhibition by melanin-inhibiting fungicides and their action on appressoria. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 23(1), 47-55.
- Meredith, D. S., & Lawrence, J. S. (1969). Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. *Transactions of the British Mycological Society*, 52(3), 459-IN16.
- Langfelder, K., Streibel, M., Jahn, B., Haase, G. y Brakhage, A. (2003). Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 38, 143 – 158
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta CT$ method. *methods*, 25(4), 402-408.

- Lord, J. C., Hartzler, K., Toutges, M., & Oppert, B. (2010). Evaluation of quantitative PCR reference genes for gene expression studies in *Tribolium castaneum* after fungal challenge. *Journal of microbiological methods*, 80(2), 219-221.
- Pfaffl, M. W. (2007). Relative quantification. In *Real-time PCR* (pp. 89-108). Taylor & Francis.
- Ploetz, R. C. (2001). Black Sigatoka of Banana: The most important disease of a most important fruit.
- P. W. Crous, & X. Mourichon (2002). *Mycosphaerella eumusae* and its anamorph *Pseudocercospora eumusae* spp. nov: causal agent of eumusae leaf spot disease of banana. - *Sydowia* 54(1): 35-43.
- Temate-Tiagueu, Y., Al Seesi, S., Mathew, M., Mandric, I., Rodriguez, A., Bean, K., ... & Zelikovsky, A. (2016). Inferring metabolic pathway activity levels from RNA-Seq data. *BMC genomics*, 17(5), 493-503.
- Thompson, J., Fahnestock, S., Farrall, L., Liao, D., B. y Jordan, D. (2000). The Second Naphthol Reductase of Fungal Melanin Biosynthesis in *Magnaporthe grisea*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 275 (45). 34867-34872
- Urán, M E y Cano, L E. (2008). Melanina: implicaciones en la patogénesis de algunas enfermedades y su capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero. *Asociación Colombiana de Infectología*. Vol 12 (2). 357-377
- Woloshuk, C. P., Sisler, H. D., & Vigil, E. L. (1983). Action of the antipenetrant, tricyclazole, on appressoria of *Pyricularia oryzae*. *Physiological Plant Pathology*, 22(2), 245-IN21.
- Zhao, B., Fan, S., Fan, Z., Wang, H., Zhang, N., Guo, X., ... & Zhou, S. (2018). Discovery of pyruvate kinase as a novel target of new fungicide candidate 3-(4-Methyl-1, 2, 3-thiadiazolyl)-6-trichloromethyl-[1, 2, 4]-triazolo-[3, 4-b][1, 3, 4]-thiadiazole. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(46), 12439-12452.

5.2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y ANÁLISIS FUNCIONAL DE GENES CANDIDATOS DE RESISTENCIA EN *Musa acuminata* spp. *burmanicoides* Var. CALCUTTA 4 (AA) CONTRA *P. fijiensis*

Autores: Isabel Cristina Calle Balbin, Vicente Rey, Juan Gonzalo Morales Osorio, Rafael Eduardo Arango Isaza.

Resumen

Las musáceas, en particular el banano de tipo exportación son atacados por un gran número de patógenos, para los cuales se aplica en su mayoría un control químico. No obstante, este tipo de control tiene un gran número de inconvenientes, dentro de ellos, se encuentran el daño al medio ambiente y a la salud y la aparición de cepas resistentes que obligan a aumentar las dosis de los químicos usados y a la búsqueda de nuevos métodos de control. Una de las alternativas es el uso de variedades resistentes a enfermedades. En trabajos anteriores en el grupo Biotecnología Vegetal UNALMED – CIB se había caracterizado un grupo de genes candidatos de resistencia tipo *Cf* y se había realizado un análisis preliminar a algunos de ellos, adicionalmente, se había estandarizado un método de infiltración en banano para caracterizar funcionalmente este tipo de genes. Sin embargo, el método aún requería un buen sistema heterólogo que sirviera como control en los experimentos. En este trabajo se inició la estandarización del sistema heterólogo y adicionalmente se continuó con la búsqueda y clonación de genes de resistencia de la familia de los genes antiapoptóticos, específicamente se clonó el gen BAG1.

5.2.1. Introducción

La sigatoka negra es la enfermedad foliar más importante que afecta a los cultivos de banano en todo el mundo, y causa el 30% de los costos de producción, lo que resulta en un promedio de 350 millones de dólares al año en América Latina y 20 millones para Colombia (Churchill, 2011). Otra de las enfermedades producidas por hongos y que ha devastado la industria bananera es el marchitamiento por *Fusarium*, antiguamente conocido como mal de Panamá. Se trata de una enfermedad que es producida también por un Ascomiceto *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense, de este patógeno se conocen 4 razas, tres de las cuales causan enfermedades en el banano y el plátano (Ploetz, R. C. 2015).

Tanto en plantas como en animales existen diversas familias de genes que confieren diferentes grados de resistencia a enfermedades y factores medioambientales adversos; dentro de estos hay algunos que cuentan con dominios conservados entre todos los reinos de la naturaleza, este es el caso de los genes antiapoptóticos, que son los genes encargados de regular la muerte celular programada (Doukhanina et al., 2006; Kabbage & Dickman, 2008). En esta familia de genes se encuentra la familia de las BAG un grupo de proteínas que regulan el proceso Apoptótico y que poseen dominios conservados en muchas especies, desde humanos hasta plantas (Doukhanina et al., 2006). Estas proteínas han sido ampliamente estudiadas en humanos, sin embargo, en plantas su función aún no es bien conocida.

En algunos estudios en plantas, las proteínas BAG han demostrado que la sobreexpresión de genes antiapoptóticos puede generar resistencia a patógenos (Dickman et al., 2001), en el caso particular del banano, se transformó la variedad Rasthali con el gen Ced-9 aislado del genoma humano y que es un gen antiapoptótico que actúa en defensa contra nemátodos, lo cual le confirió resistencia contra el Marchitamiento por *Fusarium* (Sunisha et al., 2020).

5.2.2. Materiales y métodos

5.2.2.1. Estandarización de agroinfiltración. Se creció *Agrobacterium* con los vectores que se muestran en la **tabla 1** en medio LB suplementado con el respectivo antibiótico, durante 48h. Posteriormente se pasó a medio YEB (*Agrobacterium Growth Medium One*) suplementado con acetosiringona y MES, hasta alcanzar una OD de entre 0,5 y 1. Seguidamente, se inocularon tres plantas de tomate y tres plantas de banano, con dos hojas por tratamiento distribuido al azar en cada hoja.

Tabla 1. Cepas de *Agrobacterium tumefaciens*. Se muestran las cepas de *A. tumefaciens* usadas para la estandarización de la Agroinfiltración junto con el vector y el gen que contienen

Número	Tratamiento		
	Cepa	Vector	Gen
1	Agl1	pBinplus y pK7WG2	<i>R3a + Avr3a</i>
2	GV3101	pVX	<i>CRN</i>
3	Agl1	pBinplus	<i>R3a</i>
4	Agl1	pK7WG2	<i>Avr3a</i>
5	Agl1	Ninguno	Ninguno
6	GV3101	Ninguno	Ninguno
7	Ninguno	Ninguno	Ninguno
8	Agl1	pK7WG2	Ninguno
9	GV3101	pK7WG2	Ninguno

5.2.2.2. Diseño de primers. Se realizó la búsqueda del gen homólogo al gen BAG1, previamente aislado de banano variedad Rasthali (Ghag et al., 2014), mediante BLAST local, en el genoma de banano variedad DH - Pahang, posteriormente se diseñaron los primers para amplificar la parte codificante del gen.

5.2.2.3. Amplificación del gen BAG1. Se extrajo el DNA total y el RNA a partir de tejido foliar de banano de las variedades Williams y Calcutta 4 con el método CTAB 2x para DNA y el método CTAB para RNA adaptado de Rajakani et al. (2013). El RNA total fue tratado con Dnasa I (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) para eliminar el DNA contaminante y se

comprobó su correcta digestión mediante PCR. Posteriormente se realizó la síntesis de cDNA con el kit Maxima First Strand Cdna Synthesis (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos). A partir de las muestras de DNA de banano variedad Williams se realizó una PCR en gradiente de temperatura con ocho temperaturas diferentes entre los 55 y los 65 °C. Una vez establecidas las condiciones óptimas se amplificó el gen a partir de DNA y cDNA de banano variedad Williams y Calcutta 4, con herculase ii fusion dna polymerase (Agilent, Santa Clara, California, Estados Unidos).

5.2.2.4. Clonación de los productos de PCR. Una vez obtenida una cantidad suficiente de amplicón del gen a partir de cada tipo de muestra, se purificó a partir de gel de agarosa, se añadió colas de Adenina y se clonó en el vector pGEM ®-T Easy usando el sistema de clonación vector pGEM ®-T Easy Systems (Promega, Madison, Wisconsin, Estados Unidos), siguiendo las instrucciones del fabricante.

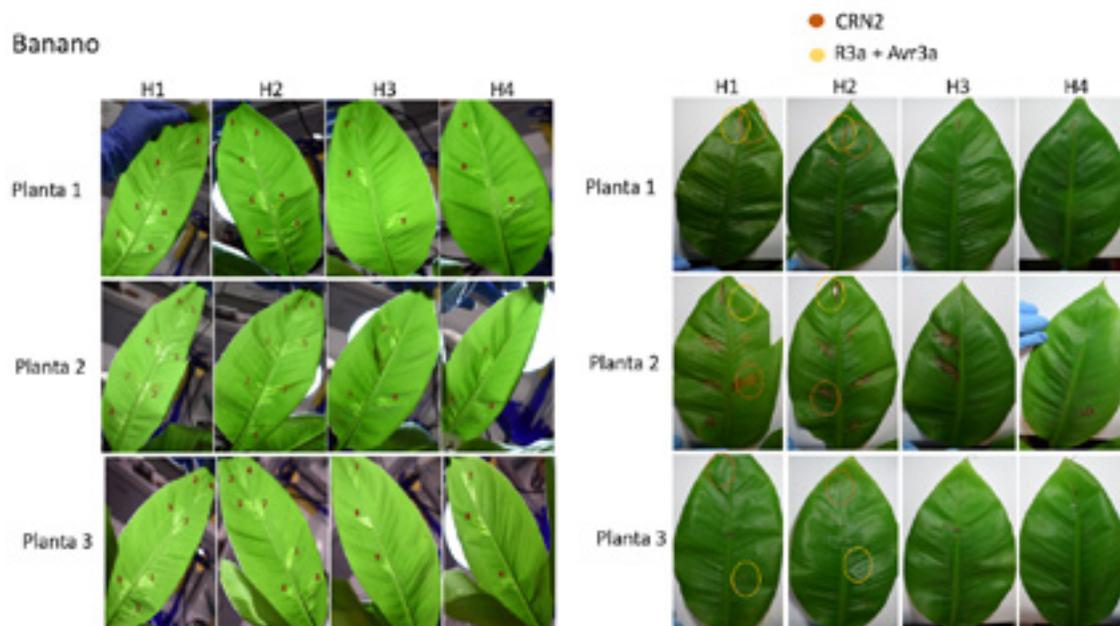
5.2.2.5. Analisis de transformantes. Se realizó una PCR de colonia, a las colonias resultantes de la transformación, las colonias positivas se crecieron en medio LB suplementado con Ampicilina como marcador de selección y posteriormente se extrajo manualmente el plásmido, se realizó una PCR sobre el DNA plasmídico obtenido y los productos de PCR fueron enviados a secuenciar por Sanger a Macrogen (Seúl, Corea del Sur). Se secuenciaron en total las amplificaciones de tres colonias de cada tipo de muestra (cDNA y DNA de banano variedad Williams y variedad Calcutta 4). Los resultados de las secuencias fueron analizados en el software GENEIOUS 9.0.5 para la búsqueda de cambios en la secuencia.

5.2.3. Resultados

5.2.3.1. Estandarización de agroinfiltración. La agroinfiltración permite realizar una transformación de un número reducido de células foliares mediada por *A. tumefaciens*, lo cual permite que en estas células se expresen los genes que se pongan en el vector insertado en esta bacteria. En este caso los vectores infiltrados en las hojas tanto de Banano como de tomate de árbol eran genes relacionados con la apoptosis por lo tanto los resultados que se observan están directamente relacionados con la ausencia o presencia de una necrosis localizada en el área de la infiltración. En la tabla 1 se puede observar las diferentes combinaciones de cepas y vectores asignadas a cada tratamiento. En las áreas en las que se infiltró el tratamiento 1 (**Figura 1A y 1B**) se insertaron los genes *R3a* y *Avr3a* del patosistema papa *P. infestans* los cuales se reconocen mutuamente y desencadenan la respuesta hipersensible, por lo que debería haberse observado esta reacción, lo cual fue evidente en las hojas 1 y 2 de la planta 1, en la hoja 2 de la planta 2 y en la hoja 2 de la planta 3 de tomate de árbol; mientras que en las hojas de banano, sólo se observó en la hoja 2 de la planta 2. El tratamiento 2 correspondió al gen CRN2, gen que por sí sólo induce la apoptosis, sin embargo, en las hojas de tomate de árbol no se observó ningún tipo de reacción con este tratamiento, para el caso de las hojas de banano se observa una reacción en las hojas 1 y 2 de la planta 2, pero no en las demás hojas. Los demás tratamientos como se indica en la **tabla 1** corresponden a controles negativos, pues se trataba de las cepas no transformadas o transformadas con el vector vacío, lo cual se espera que no produzca ningún tipo de reacción, no

obstante, tanto en las hojas de banano como en las de tomate de árbol, se observan múltiples áreas necrosadas lo que indica una reacción inespecífica en estas áreas no inducida por las proteínas evaluadas.

A



B

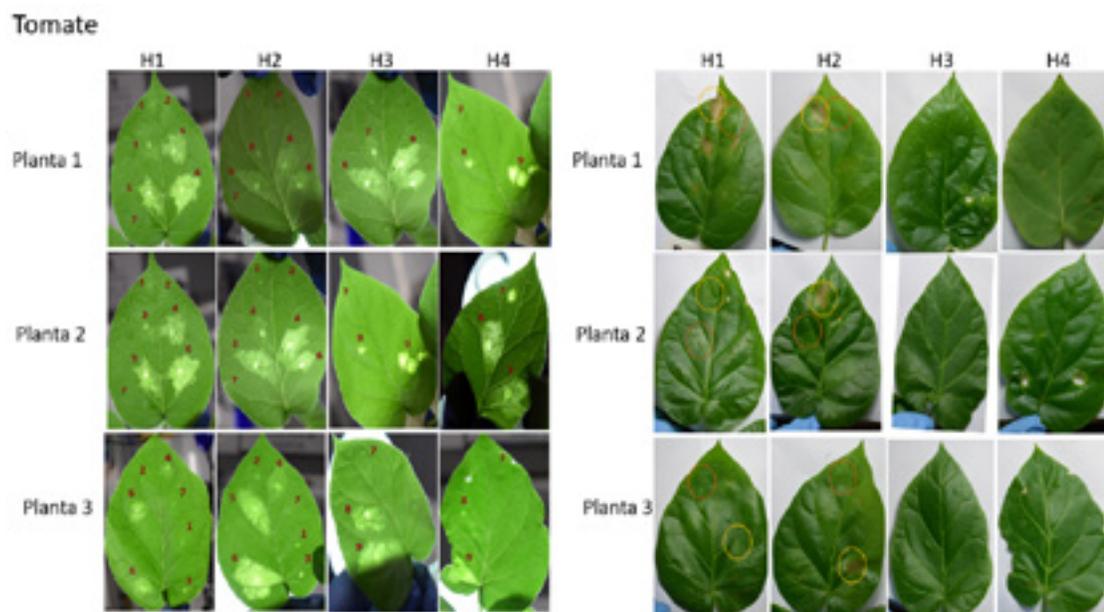


Figura 1. Imágenes de agroinfiltraciones en Banano y Tomate de árbol. **A.** Agroinfiltraciones en banano variedad Williams, **B.** Resultado en Tomate de árbol. Con números rojos se demarca el tratamiento aplicado en cada punto y descrito en la **tabla 1**.

5.2.3.2. Diseño de primers. El diseño de primers se había realizado previamente.

5.2.3.3. Amplificación del gen BAG1. Con el fin de seleccionar la temperatura óptima de annealing de los primers que amplifican el gen BAG1 se realizó una PCR en gradiente de temperatura, usando las temperaturas que se muestran en la **figura 2A** y determinándose la mejor temperatura entre los 58 y los 55 °C. Posteriormente se amplificó por duplicado con reacciones de un volumen final de 50 µl el gen BAG1 a partir de DNA de Calcutta 4 con diferentes concentraciones, DNA de Williams y cDNA de Williams y Calcutta 4 (**Figura 2B**). De las reacciones realizadas a partir de cDNA se realizaron reamplificaciones para obtener la suficiente cantidad y concentración del producto de PCR tal y como se observa en la **figura 2C**. Finalmente y debido a la presencia de amplificaciones inespecíficas en el producto de PCR (**Figura 2D**), se realizó una purificación a partir de gel de agarosa.

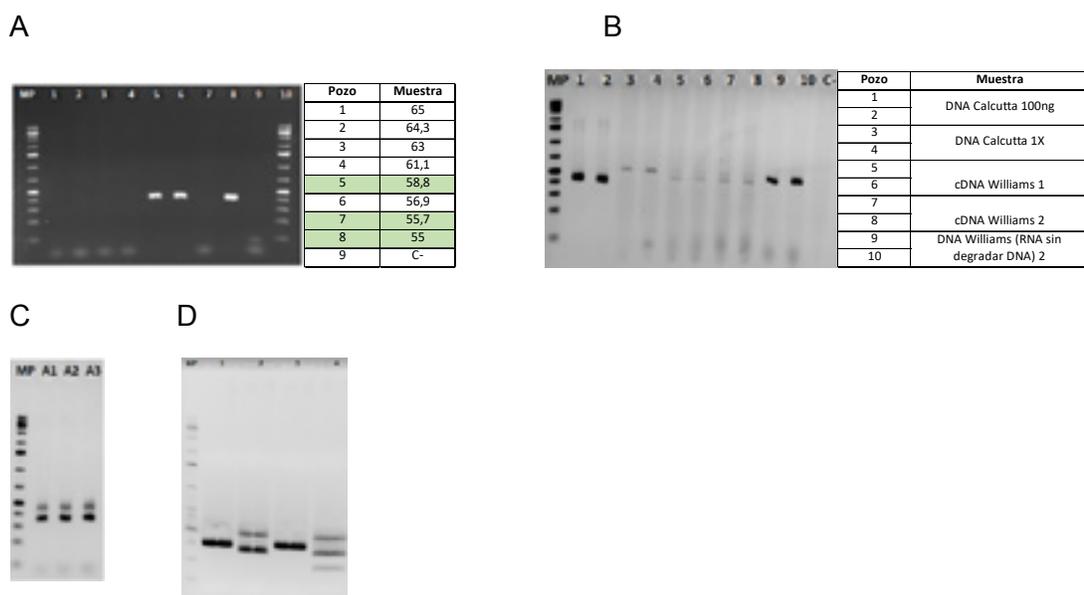


Figura 2. Fotografías de geles de agarosa del proceso de amplificación y purificación de los genes BAG1. **A.** Gradiente de temperatura, **B.** Resultado de amplificación con Herculase II, **C.** la reamplificación a partir de las muestras 7 de la imagen B y **D.** Gel corrido previo a la purificación.

5.2.3.4. Clonación de los productos de PCR. Posterior a la obtención de los productos de PCR, se procedió con su clonación y transformación en células de *E. coli* mediante el método de choque térmico, obteniéndose en todas las cajas múltiples colonias (**Ver Figura 3**).

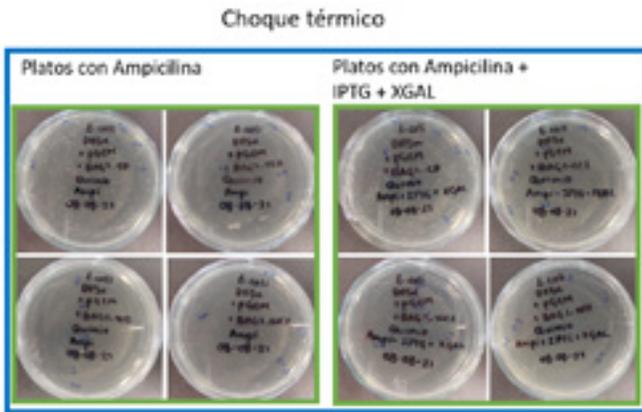


Figura 3. Fotografía de las colonias transformadas en crecimiento. En la imagen se muestran los platos de Petri que contenían LB suplementado con ampicilina 100mg/L, IPTG y XGAL.

5.2.3.5. Análisis de transformantes. Una vez obtenidas las bacterias transformantes se realizó PCR de colonia directa, a 40 colonias en total, obteniéndose resultados positivos para la gran mayoría de las colonias, con excepción de 5 colonias, de las cuales no se obtuvo amplificación (**Ver Figura 4**). Posteriormente se seleccionaron tres colonias transformadas con el gen BAG1 provenientes de Calcutta 4 y Williams. De estas se purificó manualmente el DNA plasmídico y se amplificó un volumen considerable para enviar a secuenciación por Sanger (**Ver figura 5**).

5.2.3.5. PCR de Colonia

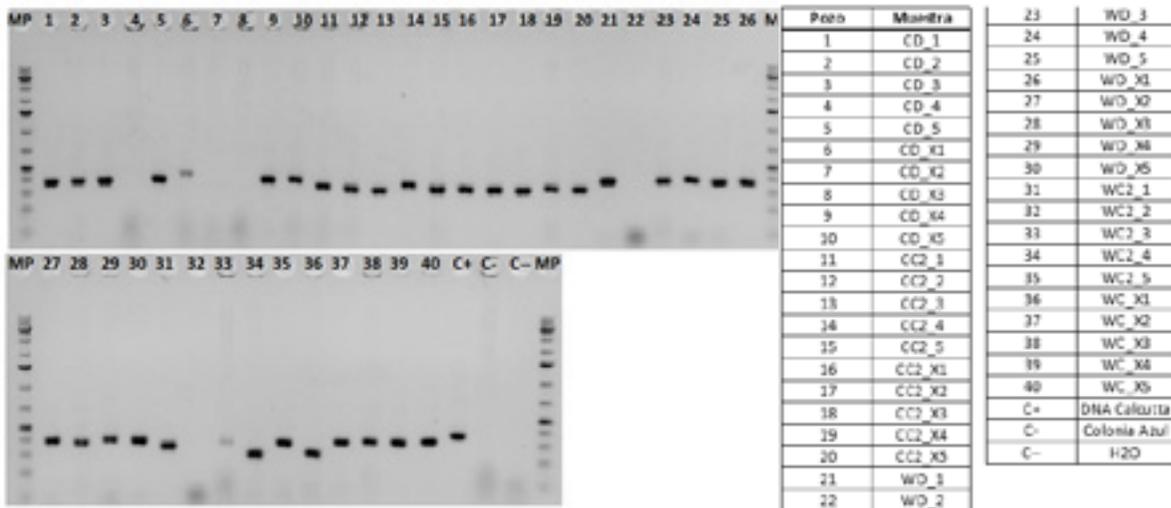


Figura 4. Fotografía del gel de agarosa con los productos de PCR directa de las colonias transformadas. En la imagen se muestra los productos de PCR y en la parte derecha se observa el orden correspondiente a cada una de las muestras corridas.

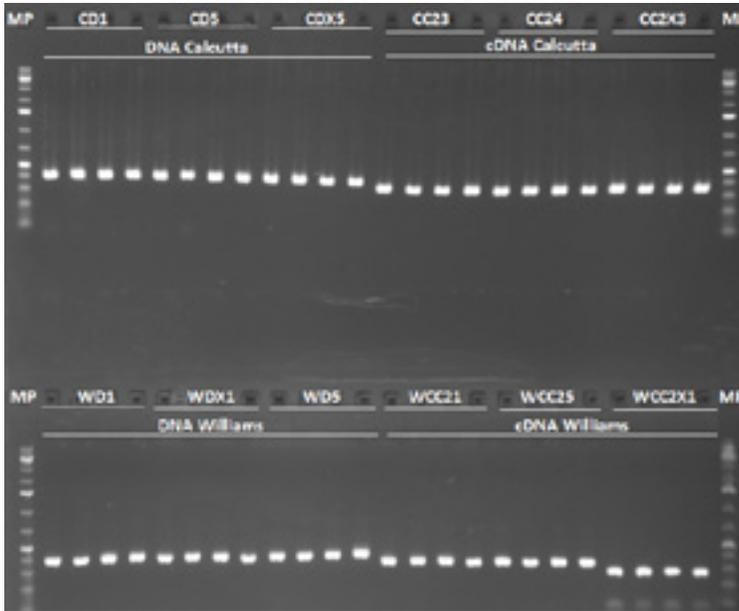
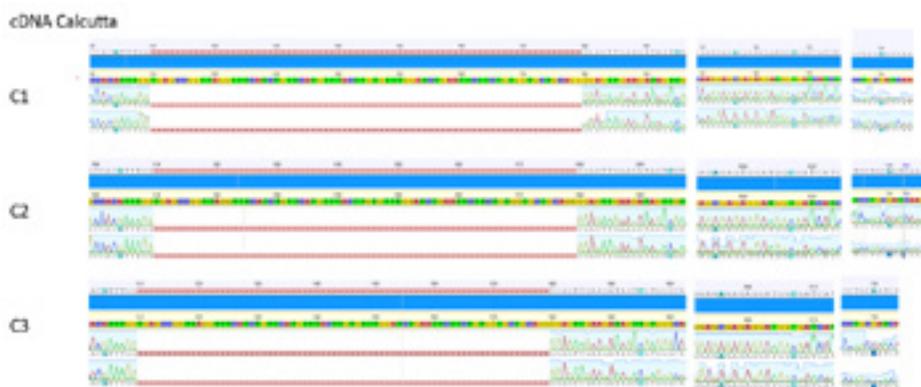


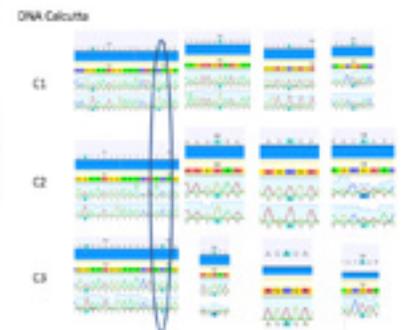
Figura 5. Fotografía de gel de agarosa donde se corrieron los productos de PCR a partir de los plásmidos extraídos. En la imagen se muestran los productos de PCR del gen BAG1 amplificado a partir de los plásmidos extraídos de las bacterias transformantes.

Se confirmó la presencia de un intrón interno en el gen clonado a partir de DNA de Calcutta 4 (**Ver figura 6A**) al igual que algunos cambios en la secuencia a nivel de CDS (**Ver figura 6B**). Sin embargo, las 6 colonias secuenciadas mostraron los mismos cambios, a diferencia del gen aislado a partir de DNA de Williams en el cual las tres colonias presentaron diferencias (**Ver Figura 6C**). Una de las secuencias provenientes de cDNA de Williams presentó problemas en la secuenciación por lo tanto sólo se obtuvieron dos secuencias en las cuales se conservan diferencias (**Ver Figura 6D**).

A



B



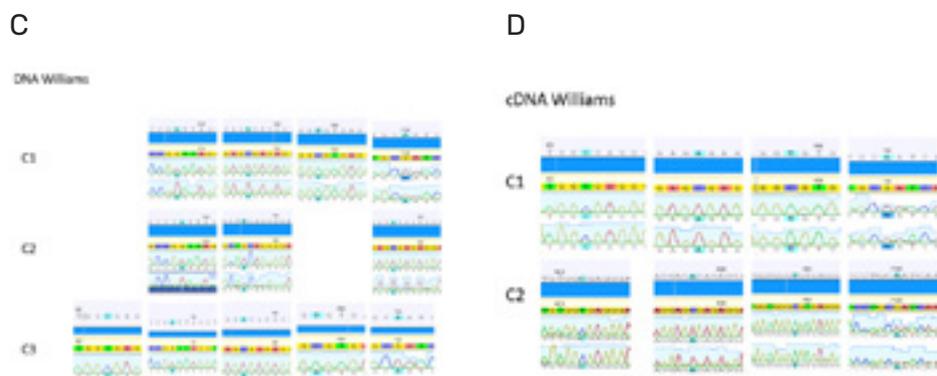


Figura 6. Fragmentos del alineamiento de las secuencias del gen BAG1 en formato ab1. **A.** Fragmento del alineamiento de las tres secuencias provenientes de DNA de Calcutta 4, **B.** Tres secuencias provenientes de cDNA de Calcutta 4, **C.** Proveniente de DNA de Williams y **D.** Proveniente de cDNA de Williams.

5.2.4. Discusión

La transformación en plantas es un proceso difícil de lograr, por ello la evaluación funcional de genes es un trabajo arduo. Alternativas como la Agroinfiltración, han facilitado la evaluación de genes de resistencia, sin embargo, establecer un buen sistema que permita la correcta visualización de la reacción de hipersensibilidad es primordial (Pan et al., 2021). En trabajos anteriores se estandarizó una metodología de infiltración para la hoja de banano, que permite ingresar exitosamente la solución que contiene el *Agrobacterium* al espacio intercelular, sin embargo, aún es poca la capacidad de esta bacteria de infectar células de plantas monocotiledóneas como se ha reportado en otros trabajos (Smith & Hood, 1995; Sood et al., 2011; Koetle et al., 2015). Debido a lo anterior en este trabajo se inició la estandarización de un sistema heterólogo como el tomate de árbol, dado que es de fácil crecimiento y la fisiología de sus hojas jóvenes permite una fácil infiltración, no obstante, los resultados aquí mostrados, no permiten establecer si el tomate de árbol puede ser usado para la evaluación funcional de genes de resistencia, debido a que la respuesta de hipersensibilidad esperada no ocurrió en todos los casos.

Por otro lado, se logró la clonación exitosa del gen BAG1 a partir de DNA y cDNA de banano variedad Williams y variedad Calcutta 4 y se logró evidenciar algunas diferencias entre los genes provenientes de ambas variedades, pudiéndose establecer que en el caso de la variedad Williams existen por lo menos 3 variantes de este gen, como es común en genes de resistencia (Dolatabadian et al., 2017).

5.2.5. Conclusiones

- En este trabajo se continuó con la estandarización de una metodología de Agroinfiltración que permita la evaluación funcional de genes en monocotiledóneas, sin embargo, aún son

necesarias más pruebas que permitan establecer con éxito la funcionalidad de genes de resistencia.

- Adicionalmente se clonó exitosamente el gen BAG1, a partir de DNA y cDNA de banano de las variedades Williams y Calcutta 4, sin embargo, se requieren experimentos adicionales que permitan determinar su funcionalidad.

5.2.6. Referencias bibliográficas

- Ghag, S. B., Shekhawat, U. K. S., & Ganapathi, T. R. (2014). Native cell-death genes as candidates for developing wilt resistance in transgenic banana plants. *AoB Plants*, 6.
- Churchill A.C.L. (2011). *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *MOLECULAR PLANT PATHOLOGY*. 12(4), 307-328
- Dickman, M. B., Park, Y. K., Oltersdorf, T., Li, W., Clemente, T., & French, R. (2001). Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(12), 6957-6962.
- Dolatabadian, A., Patel, D. A., Edwards, D., & Batley, J. (2017). Copy number variation and disease resistance in plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(12), 2479-2490.
- Doukhanina, E. V., Chen, S., van der Zalm, E., Godzik, A., Reed, J., & Dickman, M. B. (2006). Identification and functional characterization of the BAG protein family in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 281(27), 18793-18801
- Kabbage, M., & Dickman, M. B. (2008). The BAG proteins: a ubiquitous family of chaperone regulators. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(9), 1390-1402.
- Koetle, M. J., Finnie, J. F., Balázs, E., & Van Staden, J. (2015). A review on factors affecting the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in ornamental monocotyledonous geophytes. *South African Journal of Botany*, 98, 37-44.
- Pan, Z., Bajsa-Hirschel, J., Vaughn, J. N., Rimando, A. M., Baerson, S. R., & Duke, S. O. (2021). In vivo assembly of the sorgoleone biosynthetic pathway and its impact on agroinfiltrated leaves of *Nicotiana benthamiana*. *New Phytologist*, 230(2), 683-697.
- Ploetz, R. C. (2015). Fusarium wilt of banana. *Phytopathology*, 105(12), 1512-1521.
- Rajakani, R., Narnoliya, L., Sangwan, N. S., Sangwan, R. S., & Gupta, V. (2013). Activated charcoal-mediated RNA extraction method for *Azadirachta indica* and plants highly rich in polyphenolics, polysaccharides and other complex secondary compounds. *BMC research notes*, 6(1), 1-10.

- Smith, R. H., & Hood, E. E. (1995). *Agrobacterium tumefaciens* transformation of monocotyledons. *Crop Science*, 35(2), 301-309.
- Sood, P., Bhattacharya, A., & Sood, A. (2011). Problems and possibilities of monocot transformation. *Biologia Plantarum*, 55(1), 1-15.
- Sunisha, C., Sowmya, H. D., Usharani, T. R., Umesha, M., Gopalkrishna, H. R., & Sriram, S. (2020). Induction of Ced9 mediated anti-apoptosis in commercial banana cultivar Rasthali for stable resistance against Fusarium wilt. *3 Biotech*, 10(8), 1-8.

5.3. APLICACIÓN DE METODOLOGÍAS BASADAS EN RNAi PARA EL CONTROL DE SIGATOKA NEGRA EN BANANO Y DESARROLLO DE METODOLOGÍA BASADA EN CRISPR-CAS9 PARA EL ESTUDIO DE GENES EN *Pseudocercospora fijiensis*

Autores: Flor Yuranny Canacuan Melo, Vicente Rey, Sebastian Zapata Henao, Juan Gonzalo Morales Osorio; Rafael Eduardo Arango Isaza.

Resumen

La Sigatoka negra ocasionada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis* es la enfermedad más importante en el cultivo del banano. Recientemente se han reportado tecnologías que permiten el conocimiento de la función génica en hongos fitopatógenos, y tienen potencial de ser utilizadas en el control de enfermedades. En este trabajo, evaluamos el silenciamiento génico mediado por RNA (RNAi), como mecanismo para el control de *Pseudocercospora fijiensis*. Para esto, se sintetizaron secuencias de RNA de doble cadena (dsRNA) homólogas a los genes *PfCYP51* y *PfFus3* y se aplicaron sobre *P. fijiensis*. Adicionalmente, con el fin de identificar nuevos genes blanco de control, se evaluó el uso de la tecnología CRISPR-Cas, para la edición de genes en *P. fijiensis*. Para esto, se usó el gen *scitalona deshidratasa* (SD), relacionado con la síntesis de melanina, y cuya edición permitiría observar un cambio visual en el fenotipo de los transformantes. Los resultados mostraron que los tratamientos con dsRNA homólogos a los genes *PfCYP51* y *PfFus3* inhibieron la longitud del tubo germinativo y el crecimiento miceliar de *P. fijiensis*. Además, la edición de *P. fijiensis* usando el sistema CRISPR Cas dio como resultado la obtención de colonias de color blanco. Este estudio sugiere que los mecanismos analizados podrían ser utilizados en el control y el estudio de *P. fijiensis*. Sin embargo, es necesario realizar más pruebas para determinar la protección por RNAi durante la infección y comprobar a nivel molecular la edición del gen SD.

5.3.1. Introducción

El banano es uno de los cultivos más importantes en el mundo tanto para consumo local como para exportación. La producción de este cultivo se ve afectada por la enfermedad llamada Sigatoka negra, la cual es causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*. Esta es considerada como la enfermedad foliar más importante en banano y plátano desde el punto de vista económico (1, 2). El manejo actual de la enfermedad se basa principalmente en el uso de fungicidas químicos, los cuales presentan riesgo ambiental y en la salud, además de incrementar notablemente los costos de producción. Adicionalmente, las poblaciones del patógeno generan rápidamente resistencia a algunos grupos de fungicidas, por lo que ya no es posible usarlos para su control (3-6). Debido a lo anterior, es necesaria la búsqueda de nuevas alternativas y nuevos blancos para el manejo de esta enfermedad.

El propósito de este proyecto fue evaluar herramientas que permitan mejorar el manejo de la Sigatoka Negra. La tecnología de RNAi para inducir el silenciamiento de genes, se ha explorado en diferentes patosistemas para la protección de los cultivos, mediante la represión selectiva de genes importantes para la patogenicidad en los fitopatógenos (7-9). Su implementación en *P. fijiensis*, podría dar una luz de nuevas alternativas para su control que no sea por medio de productos de síntesis química, que no generen resistencia y que sean amigables con el medio ambiente y la salud. En este proyecto se utilizaron secuencias de RNA de doble cadena (dsRNA) homólogas a los genes *PfFus3* y *PfCYP51* que previamente se identificaron como genes importantes en la patogenicidad del hongo.

Por otra parte, el estudio de la biología del hongo y los genes implicados en el proceso de infección es importante para la búsqueda de sus correspondientes genes de resistencia en la planta y nuevos blancos de control. Una alternativa para estudiar los genes en *P. fijiensis* es el uso de la herramienta CRISPR-Cas, que ha permitido la edición exitosa de diferentes genes en numerosos organismos incluidos varios hongos patógenos (10). La implementación de esta metodología en *P. fijiensis* permitirá el estudio de genes regulados en la infección que pueden ser blancos de control. Para este proyecto, se usó como blanco el gen SD que está relacionado con la síntesis de melanina en hongos, lo que permitiría observar un cambio visual en el fenotipo del color de los transformantes. Utilizando este gen como blanco de estudio, se pretende desarrollar una metodología que pueda ser implementada para el estudio de otros genes del hongo que están diferencialmente expresados durante la infección y que, por lo tanto, pueden ser buenos candidatos para el control de la enfermedad.

5.3.2. Materiales y métodos

5.3.2.1. Evaluación de blancos de control usando el sistema CRISPR Cas9

Construcción de vectores plasmídicos. La construcción de los vectores para el estudio de genes en *P. fijiensis* por CRISPR/Cas9 se realizó previamente (informe de 2019), utilizando el sistema descrito por Kujoth, Sullivan (11) para la edición de genes en *Blastomyces dermatitidis*.

5.3.2.2. Transformación en *E. coli* y *Agrobacterium*. La transformación de los plásmidos en *E. coli* DH5a y en *Agrobacterium tumefaciens* se realizó previamente como se describe en los informes de 2019 y 2020.

5.3.2.3. Transformación de *P. fijiensis*. La transformación de *P. fijiensis* mediada por *Agrobacterium* se realizó acorde a lo reportado por Diaz-Trujillo, Kobayashi (12). Se tomó un fragmento miceliar de la cepa de referencia C86 de *P. fijiensis* crecida en PDA aproximadamente por un mes y se fragmentó con ayuda de una cuchilla estéril. Luego se agregó en un tubo de 50 ml que contenía agua destilada estéril y perlas de vidrio y se aplicó vortex hasta que se fragmentaran por completo los micelios. Se tomó 1 ml de esta suspensión miceliar y se sembró en cajas de petri con PDA. Después de 15 días y un día antes de la transformación se raspó el micelio usando Medio de Inducción (IM) (Por litro: 2 g K₂HPO₄, 1.45 g KH₂PO₄, 0.6 g MgSO₄·7H₂O, 0.3 g NaCl, 0.01 g CaCl₂·2H₂O, 0.001 g FeSO₄, 0.5 mg ZnSO₄·7H₂O, 0.5 mg CuSO₄·5H₂O, 0.5 mg H₃BO₃, 0.5 mg MnSO₄·H₂O, 0.5 mg Na₂MoO₄·2H₂O, 0.5 g NH₄NO₃, 2g glucosa, 10 mL de glicerol al 50% y 40 ml de MES IM pH 5.3). Los fragmentos miceliares fueron filtrados a través de gasa doble y ajustada la concentración a 1.10⁶ fragmentos/ml. Se tomó 10 ml de la suspensión y se incubó a 27 °C, 150 rpm durante toda la noche.

Cinco días antes de la transformación de *P. fijiensis*, las cepas de *Agrobacterium tumefaciens* (AGL-1 y GV3101) que contenían los plásmidos, fueron plateadas en medio LB sólido con los antibióticos de selección (rifampicina 40 mg/l y kanamicina 50 mg/l) a 28 C. Luego de 48 horas de crecimiento, se tomó una colonia de cada cepa y se inoculó en 20 ml de LB líquido con los mismos antibióticos y se incubó a 28 °C, 150 rpm durante 36 horas. Luego de la incubación, las células se centrifugaron y se resuspendieron en 20 ml de Medio Mínimo (MM) (Igual al IM, pero sin glicerol y MES) y se transfirió 100 ul de esta suspensión a un nuevo tubo con 20 ml de MM con los antibióticos de selección y acetosiringona (0.1% of 200 mM). Después de incubación a 28 °C, 150 rpm por 36 horas se leyó la OD600 de los cultivos y se ajustó a 0.15 con medio IM con los

antibióticos de selección y se incubó hasta una OD 600 de 0.25. Seguido a esto, se mezcló los fragmentos miceliares de *P. fijiensis* y *A. bacterium tumefaciens* en una proporción 1:1.

Alicuotas de 2 ml fueron esparcidas en papel filtro estéril sobre agar IM con rifampicina 40 mg/l, kanamicina 50 mg/l y acetosiringona (0.1% de 200 mM) e incubadas en oscuridad por 48 horas a 28 °C. Después las membranas fueron transferidas a cajas de petri que contenían PDA con cefotaxime 250 mg/l e Higromicina B 15 mg/l e incubadas a 28 °C en oscuridad durante un mes.

5.3.2.4. Confirmación de transformantes. Se realizó confirmación de los transformantes color blanco que fueron asilados previamente (ver informe 2020). Las colonias que crecieron después de 3 repiques bajo selección con higromicina se les realizó extracción de ADN con CTAB utilizando el método estandarizado en el grupo de investigación. Con el ADN extraído se realizó PCR con los primers que amplifican para el gen SD: Primer Forward scy_des_secF 5´TCCCACATCACCACAGACTAC 3´y Primer Reverse scy_des_secR 5´ GCGAAAAGCTGGGTTGATT 3´. Las amplificaciones fueron purificadas utilizando el kit illustra™ GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit, y se enviaron a secuenciar a la empresa Macrogen (República de Korea).

5.3.2.5. Evaluación del silenciamiento mediado por RNAi en la protección de banano contra *P. fijiensis*. Los genes blancos fueron seleccionados previamente en función de su potencial para el control de la enfermedad (13, 14).

5.3.2.6. Diseño y síntesis de moléculas de dsRNA para los genes blanco. El diseño de las secuencias de dsRNA se realizó previamente como se describe en el informe de 2019.

5.3.2.7. Pruebas de silenciamiento *in vitro* en ascosporas. Se evaluó el efecto de las secuencias de dsRNA en la longitud del tubo germinativo de ascosporas de *P. fijiensis*. Para esto, se aplicó 20 µl de las secuencias de dsRNA directamente sobre ascosporas descargadas sobre agar granulado al 2%. Se aplicaron las secuencias de dsRNA a una concentración de 100 ng, 200 ng, 500 ng y 1000 ng y agua como control negativo. Luego se incubó por 40 horas y se tomaron fotografías, con el fin de medir la longitud del tubo germinativo de al menos 60 ascosporas por cada tratamiento, usando el software ImageJ.

5.3.2.8. Pruebas de silenciamiento *in vitro* en micelio. Se realizó una segunda repetición del ensayo de silenciamiento *in vitro* en micelio de *P. fijiensis*, usando la metodología que se describe en el informe del 2020. Los ensayos se realizaron con las secuencias de dsRNA para cada gen.

Se realizó ensayos de inhibición en platos de 96 pozos como se describe a continuación: se realiza una suspensión de fragmentos miceliares de la cepa C139 de *P. fijiensis* con ayuda de un pincel y agua destilada estériles; la suspensión se ajusta a una concentración de 1×10^6 fragmentos miceliares/ml. Se toma 1 ml de la suspensión y se centrifuga a 12.000 rpm por 5 minutos y se resuspende en 500 µl de 100 mM LiCl, se mezcla y se centrifuga nuevamente a 12.000 rpm por 2 minutos. Luego, se agrega 240 µl de PEG800 al 50% y 36 µl de LiCl 1.0 M. Finalmente, se agrega a la suspensión las secuencias de dsRNA a una concentración de 100 ng, 200 ng, 500 ng y 1000 ng y agua tratada con DEPC para un volumen final de 360 µl. Como control negativo se usa una suspensión miceliar sometida al tratamiento, pero sin agregar las secuencias de dsRNA. Cada tubo se mezcla vigorosamente por vortex duramente 5-10 segundos hasta que el pellet quede completamente resuspendido. Las células se someten a un choque de calor en baño de maría a 42 °C por 40 minutos, seguido de centrifugación a 8.000 rpm por 30 segundos y se resuspenden en 500 µl de agua destilada estéril. Finalmente, las muestras son incubadas en platos de 96 pozos,

cada pozo con 100 μ l de medio líquido Sabouraud y 50 μ l de la suspensión. Los microplatos se incuban 27 °C por 11 días, y el crecimiento miceliar será medido mediante lectura de absorbancia a 595 nm en lector de ELISA.

5.3.2.9. Evaluación del silenciamiento mediante PCR en tiempo real. Se trabajó en la estandarización de un gen normalizador para realizar la confirmación del silenciamiento de los genes. La confirmación se realizará como se describe en el informe del 2020 mediante la cuantificación relativa utilizando el método $\Delta\Delta$ ct (Livak and Schmittgen, 2001).

5.3.2.10. Experimentos de infección en cámara de infección para probar el efecto de RNAi.

Se preparó una suspensión de fragmentos miceliares de la cepa de *P. fijiensis* de 15 días de crecimiento en medio PDA, realizando un raspado con pincel y agua destilada estériles. La suspensión se filtró a través de una gasa estéril y se ajustó la concentración a 1×10^6 . Para facilitar el ingreso de las secuencias de siRNA a la célula se utilizó el método modificado de Polietilenglicol, reportado por Moazeni, Khorramizadeh (10), como se describe a continuación: 10 ml de la suspensión miceliar se centrifugó a 4.000 rpm por 10 minutos, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en 5 ml de LiCl a 100 nM, se mezcló suavemente y se centrifugó a 4.000 rpm durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y se agregó al pellet 2.4 ml de PEG8000 al 50% y 360 ml de LiCl a 1.0 M, después se agregó el siRNA a la suspensión para una concentración final de 100 nM y agua tratada con DEPC a un volumen final de 3.6 ml y como control negativo se utilizó micelios sin las secuencias de siRNA. Luego se mezcló vigorosamente por 5-10 segundos y se puso las células en baño caliente a 42 °C durante 40 minutos. Finalmente se centrifugó de 4.000 durante 1 minuto, se resuspendió en 5 ml de agua destilada estéril y se incubó a 25 °C sin agitación. Al día siguiente, se centrifugaron los fragmentos miceliares y se resuspendieron en 10 ml de gelatina microbiológica al 2%.

Las inoculaciones se realizaron en plantas susceptibles de banano del cultivar Williams, rociando las primeras tres hojas de cada planta desde una distancia de aproximadamente 20 cm. Como control, se rociaron plantas con gelatina al 2% sin inóculo infeccioso. Después de la inoculación, las plantas se colocaron en cámara de infección con una temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, humedad relativa del 95% y una foto periodo de 12 h luz / 12 h oscuridad.

5.3.2.11. Análisis estadístico. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para verificar normalidad de los datos, y prueba de Levene para homogeneidad de varianzas. Los datos no cumplieron con los criterios de normalidad por lo tanto fueron analizados usando la prueba de Kruskal-Wallis y prueba de Dunn ($P > 0.05$) para comparación de medias.

5.3.3. Resultados y discusión

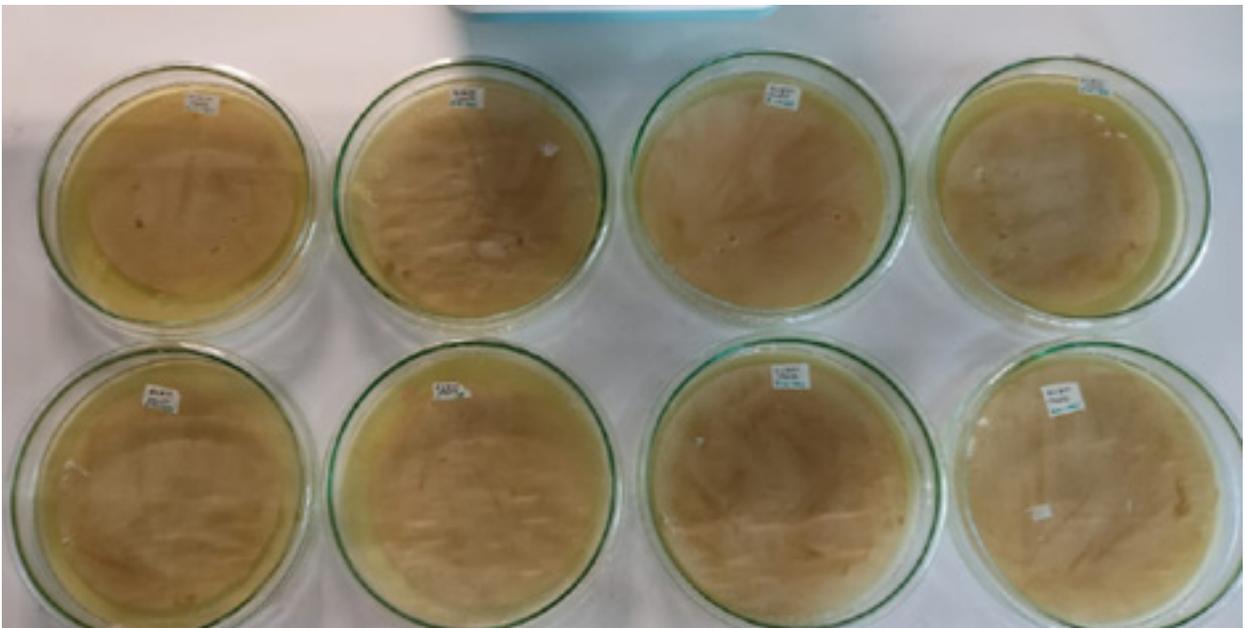
5.3.3.1. Construcción de vectores plasmídicos. Los plásmidos diseñados y sintetizados para la edición de genes por Cripsr cas9 en *P. fijiensis*, se describen en el informe de 2019. Los resultados de transformación que se presentan en el presente informe se realizaron con el vector que contenía el gRNA tres de la **tabla 1** y con el vector vacío (sin sgRNA), para tenerlo como control.

Tabla 1. Secuencias de sgRNA usadas en los cassetes. Las 3 secuencias son homólogas al exón 2 del gen SD (NW_006921535.1).

HH RIBOZ IR	sgRNA	PAM	Cadena
ACCCAA	TTGGGTGCGCCAGAACTGC G	GGG	Antisentido
GGTTTT	AAAACCCAACACTTCATCGG	AGG	Sentido
ATGAAG	CTTCATCGGAGGCACGAAGT	GGG	Sentido

5.3.3.2. Transformación de *P. fijiensis*. Se realizó transformación de *P. fijiensis* utilizando las cepas de *Agrobacterium* GV3101 y AGL-1 transformadas previamente con el vector pPTS608_Cas9_hyg_SD_sgRNA #3 y vector vacío (**Tabla 1**). Después de 30 días de la transformación, no se observó el crecimiento de colonias transformantes sobre las membranas de papel filtro (**Figura 1**).

A



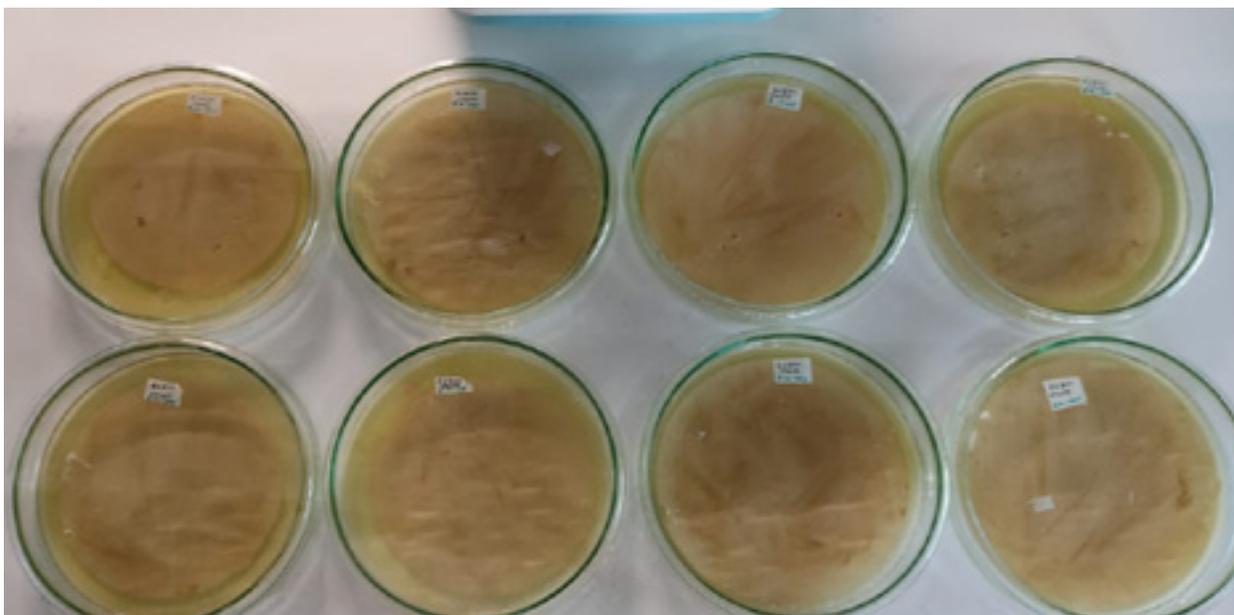
B

Figura 1. Transformación de *P. fijiensis* con *Agrobacterium* GV3101. **A.** *Agrobacterium* con Vector vacío **B.** *Agrobacterium* con vector que contenía el sgRNA #3.

En los ensayos realizados anteriormente si se obtuvieron colonias transformantes (informe 2019 y 2020), por lo tanto, se empezó a buscar la causa de la no transformación. Debido a que en estos nuevos ensayos se utilizó un reactivo nuevo de higromicina, se realizó de nuevo pruebas de sensibilidad para determinar la concentración mínima que se puede utilizar de higromicina que permita la selección de transformantes pero que sea adecuada para que no afecte la supervivencia del hongo. Inicialmente se ensayó las concentraciones 8mg/l, 10 mg/l, 12 mg/l, 14 mg/l y 16 mg/l (**Figura 2**), pero no se obtuvo crecimiento a ninguna de estas concentraciones, por lo tanto, en este ensayo no fue posible establecer la concentración mínima adecuada para la transformación. Sin embargo, estos resultados sirvieron para confirmar que posiblemente la concentración de higromicina utilizada para las transformaciones estaba muy alta y por eso no se observó ningún crecimiento.

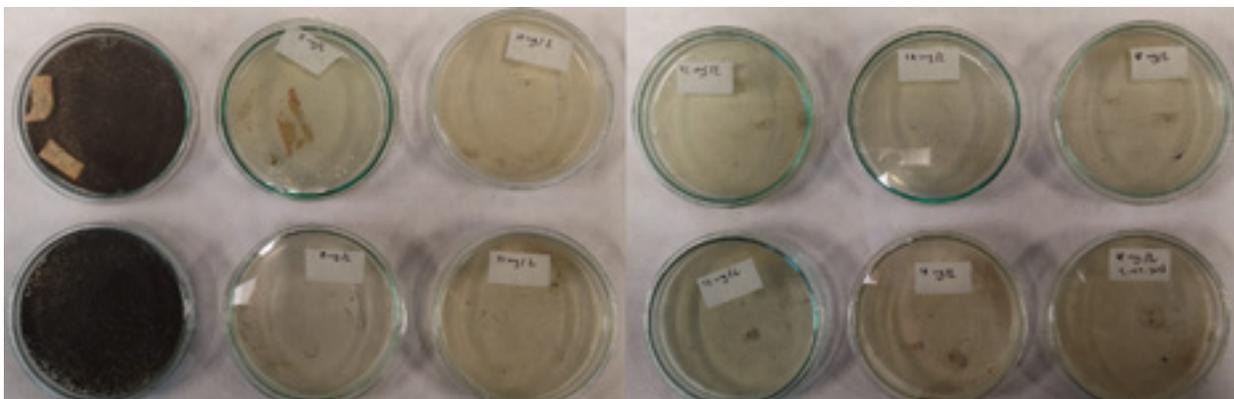


Figura 2. Crecimiento de *P. fijiensis* a concentraciones de 0, 8mg/l, 10 mg/l, 12 mg/l, 14 mg/l y 16 mg/l de higromicina.

Se realizó un nuevo ensayo utilizando concentraciones más bajas de higromicina. Se evaluó el crecimiento de *P. fijiensis* a concentraciones de 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l y 4 mg/l (**Figura 3**). En este ensayo se pudo observar que a una concentración de 4 mg/l no hay crecimiento de la cepa sin transformar, por lo tanto, se tomó esta concentración como la adecuada para realizar los ensayos de transformación.

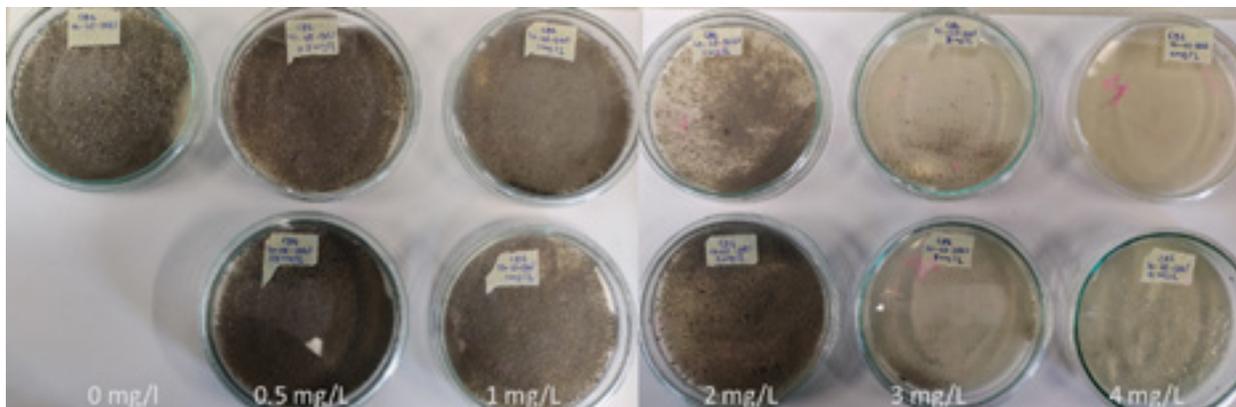
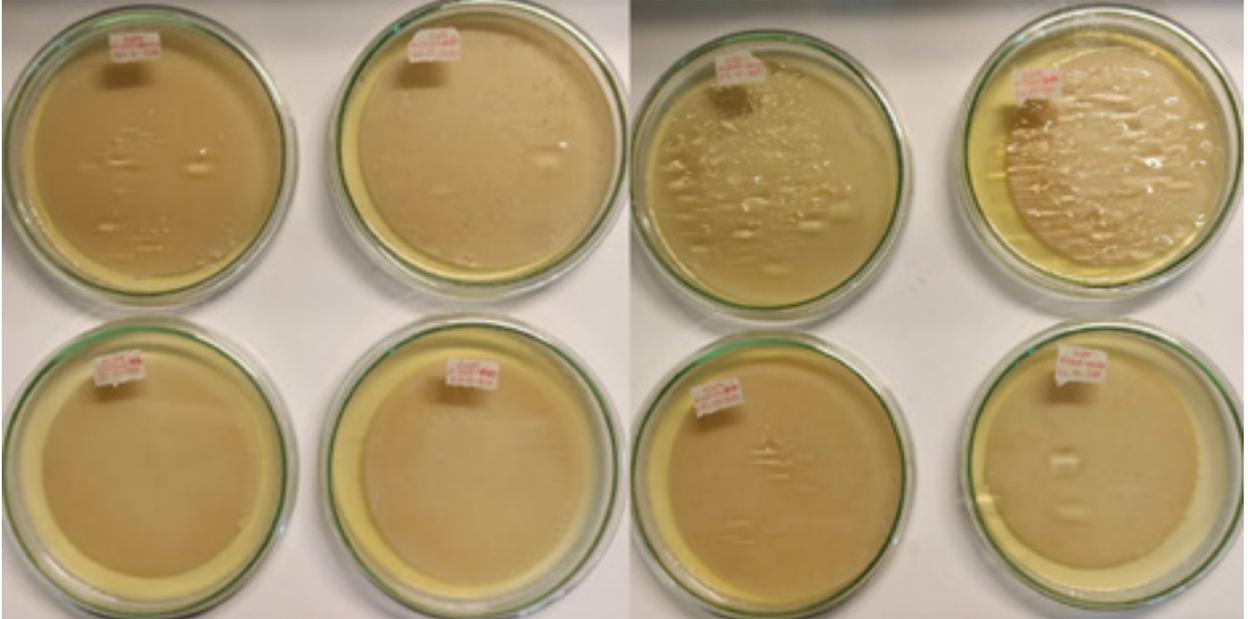


Figura 3. Crecimiento de *P. fijiensis* a concentraciones 0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l y 4 mg/l de higromicina.

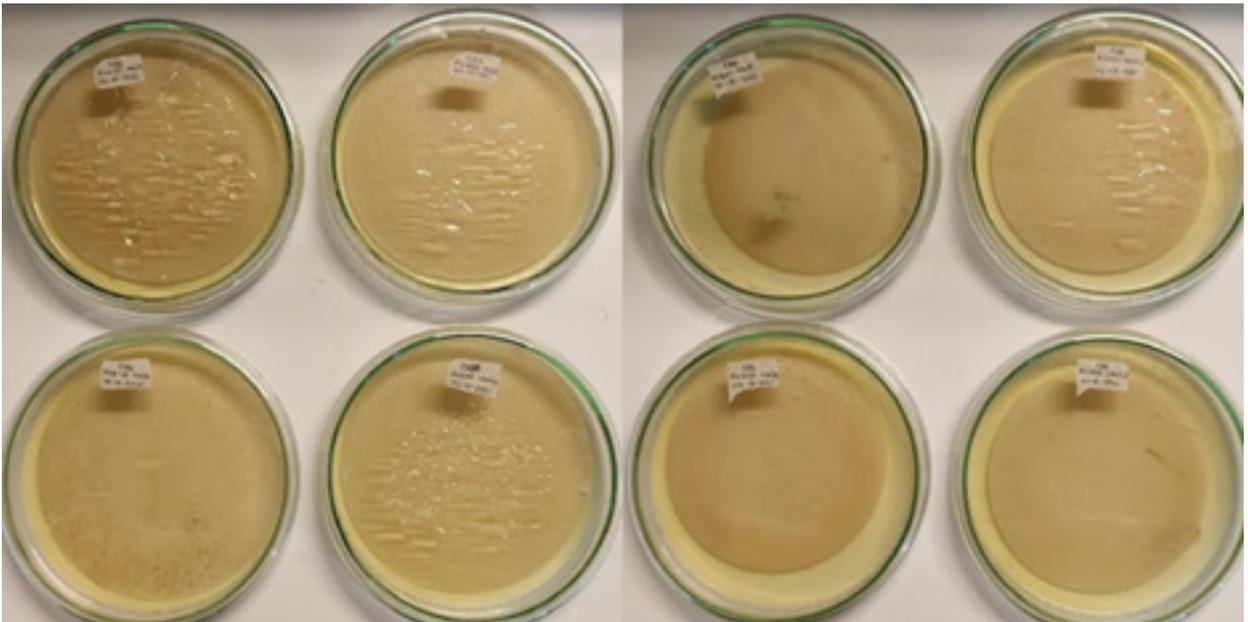
Por otra parte, se evaluó si cambiar la cepa de *P. fijiensis* podría mejorar la eficiencia en la transformación. Para esto, se realizaron transformaciones utilizando las cepas C139, C86 y una nueva cepa aislada de hojas de banano infectadas con Sigatoka negra en estadio avanzado de la enfermedad. Para la obtención de la nueva cepa se realizó un cultivo monoascosporico y se confirmó por PCR con primers específicos para *P. fijiensis*. Con ninguna de las cepas se obtuvo crecimiento de colonias transformantes (**Figura 4**). Con

este ensayo se puede deducir que la cepa no aumenta la eficiencia de la transformación y que se puede seguir trabajando con la cepa C86 que es la cepa de referencia con la que se viene haciendo los ensayos.

A



B



C

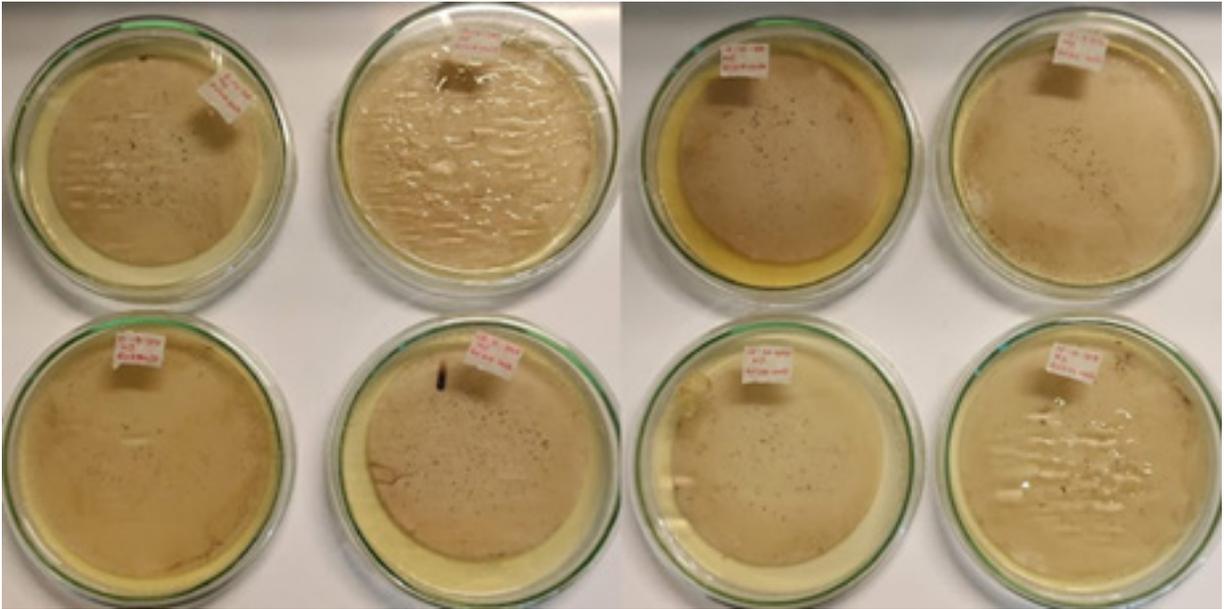


Figura 4. Transformación de *P. fijiensis* con cepa de *Agrobacterium* GV3101 con vector vacío, higromicina 4 mg/l, cefotaxime 250 mg/L. **A.** Cepa C139 de *P. fijiensis*, **B.** Cepa C86 de *P. fijiensis*, **C.** Aislado monosascosporico.

Se realizaron varios ensayos de transformación utilizando la cepa C86 de *P. fijiensis* y la cepa de *Agrobacterium* GV3101 que contenía el vector vacío, con una concentración de higromicina de 4 mg/l y cefotaxime 250 mg/L. En uno de estos se ensayos se observó el crecimiento de colonias en dos de las cajas (**Figura 5**). A diferencia de los resultados obtenidos con las transformaciones utilizando la cepa de *Agrobacterium* que contenía los vectores con los sgRNA guía 1 y 2 (**tabla 1, informe 2019 y 2020**), las colonias obtenidas no tenían una coloración blanca sino un fenotipo igual a la cepa sin transformar. Este resultado era el esperado, ya que al transformarse con el vector sin ningún RNA guía, no se activa el mecanismo de CRISPR CAS9, y no se debería ver ningún cambio en el fenotipo de la cepa.

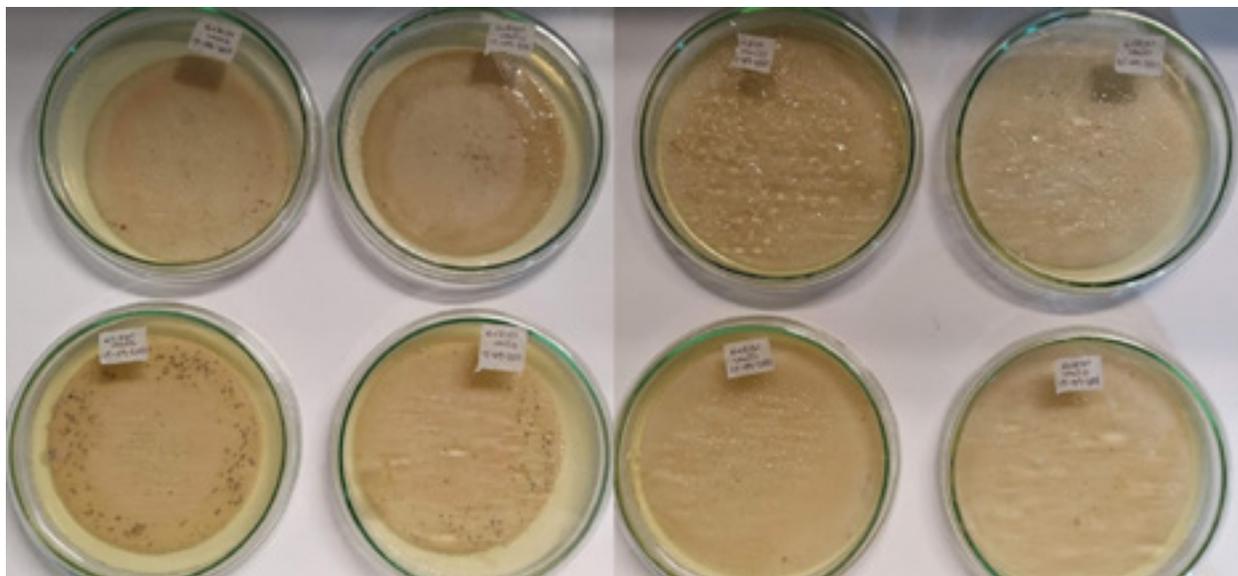


Figura 5. Transformación de *P. fijiensis* C86 con cepa de *Agrobacterium* GV3101 con vector vacío, higromicina 4 mg/l, cefotaxime 250 mg/L.

Las colonias obtenidas en la transformación fueron repicadas en medio PDA que contenía higromicina 4 mg/l. Estas colonias crecieron contaminadas con *Agrobacterium*, por lo tanto, se trataron de recuperar repicándolas en cajas de Petri que contenían PDA con higromicina 4 mg/l y cefotaxime 250 mg/L. De estos repiques solo 4 crecieron sin contaminación (**Figura 6**). Estas 4 colonias se repicaron nuevamente bajo las mismas condiciones para posteriormente confirmar su transformación.

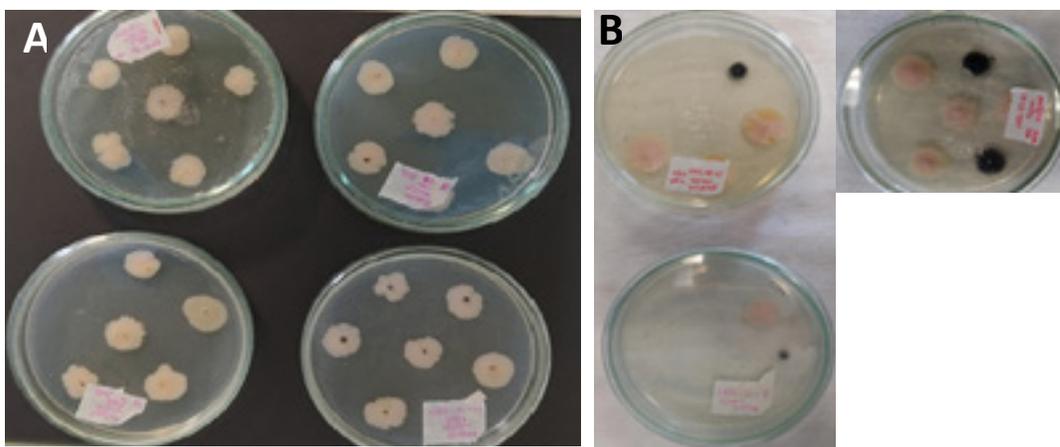


Figura 6. Transformantes con el plásmido vacío aislados en PDA con higromicina 4 mg/l **A.** Primer repique. **B.** Segundo repique con cefotaxime 250 mg/l.

coloración más blanca, y se realizaron aislamientos de monohifales y repiques sucesivos en PDA con higromicina 10 mg/l de cada uno de estos aislados con el fin de purificarlos y obtener homocariotes (**Figura 8**).

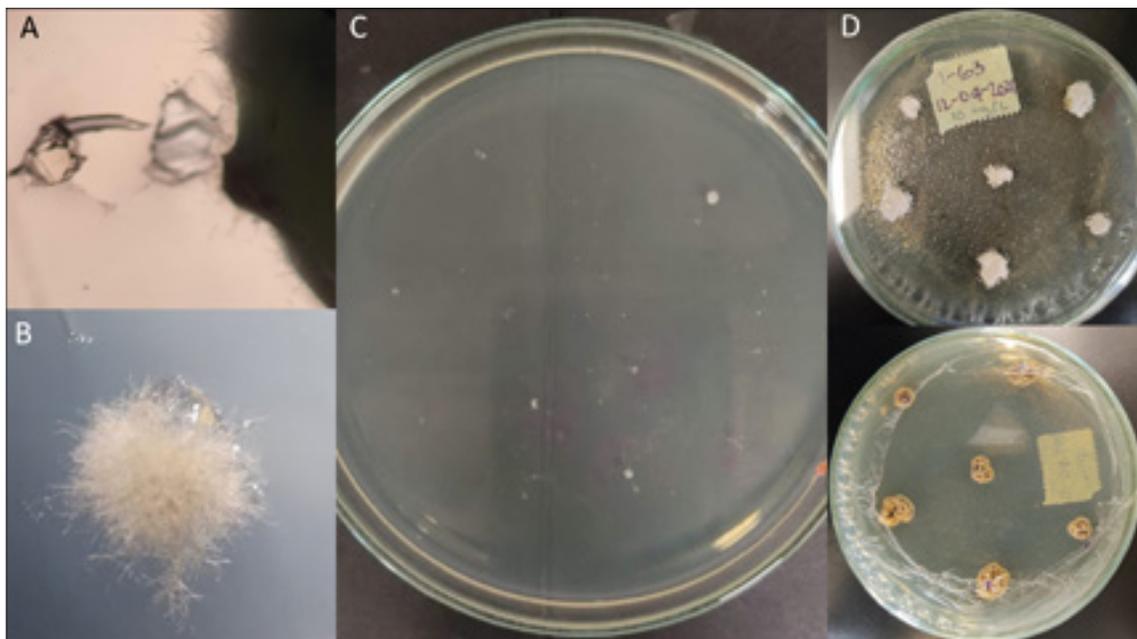


Figura 8. Obtención de monohifales. **A** Fragmento de hifa cortada. **B** y **C** Colonias en crecimiento obtenidas a partir de una hifa. **D.** Colonias repicadas.

Después de varios repiques, las colonias que presentaron una coloración clara en la base y blanca en el micelio aéreo se les realizó extracción de ADN y PCR del gen SD. Los productos de PCR fueron purificados y se enviaron a secuenciar a MacroGen. Las secuencias fueron depuradas y analizadas en el software Geneious. Sin embargo, al igual que en el anterior análisis, las secuencias no presentaron modificaciones en el gen blanco (**Figura 9**).

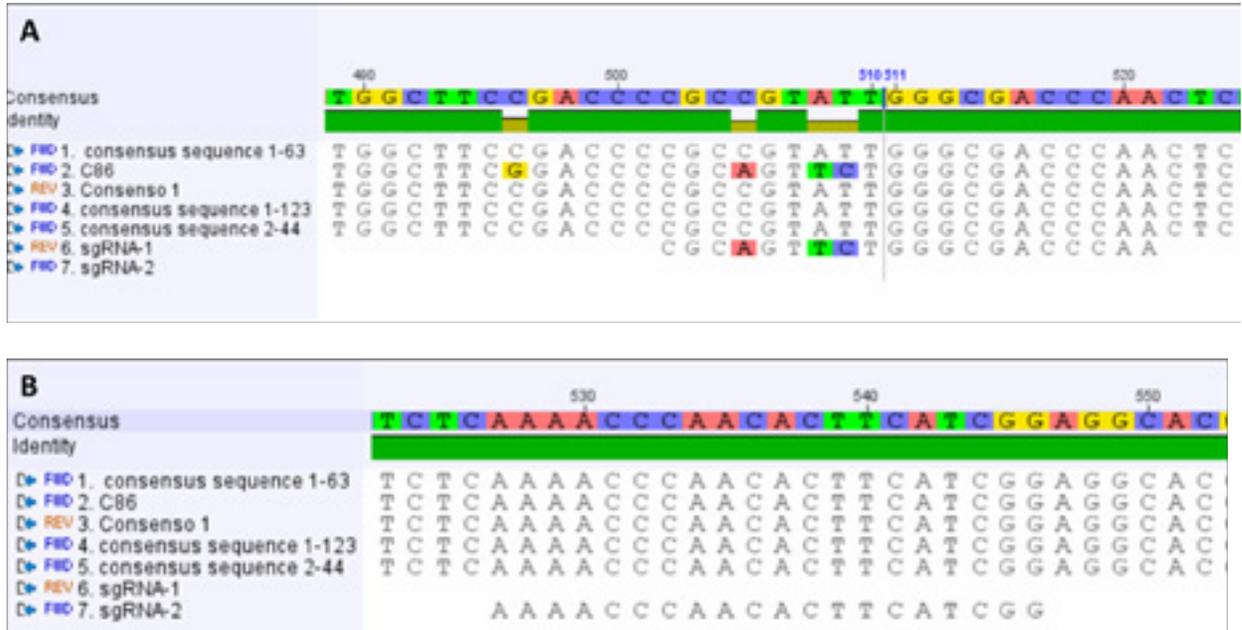


Figura 9. Alineamiento de las secuencias del gen SD de los transformantes con la cepa de referencia C86. **A** Alineamiento en la región del RNA guía 1 **B.** Alineamiento en la región del RNA guía 2.

Se esperaba que después de varios repiques, las colonias obtenidas fueran homocariontes transformantes, pero de acuerdo a los resultados puede ser que no se logró la purificación de las colonias y seguían siendo heterocariontes, o puede tratarse de un efecto fuera de blanco y que se haya editado otra región del genoma que también está relacionado con la pigmentación del hongo. Para descartar efecto fuera del blanco se realizó un Blast de los RNA guías utilizados con la secuencia del genoma completo de *P. fijiensis* reportada en el GenBank. Los análisis obtenidos dieron posibles offtarget con un gen que codifica para una enzima glucosiltransferasa (**Figura 10**). Hay que hacer más análisis para saber si la coloración blanca de las colonias transformantes se debe a un efecto fuera del blanco.

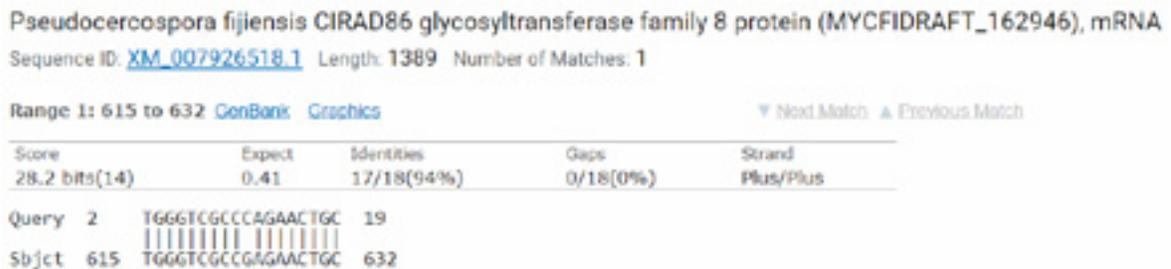


Figura 10. Resultado de Blastn de la secuencia del RNA guía 1 con el genoma de *P. fijiensis*.

5.3.3.4. Evaluación del silenciamiento mediado por RNAi en la protección de banano contra *P. fijiensis*. Los blancos de evaluación son los genes *PfFus3* y *PFCYP51* que se eligieron previamente de acuerdo con los resultados obtenidos en investigaciones anteriores realizadas en el grupo de investigación (informe 2019).

5.3.3.5. Diseño y síntesis de moléculas de dsRNA para los genes blanco. Las secuencias de dsRNA fueron diseñadas y sintetizadas previamente (informe 2019). En la **tabla 2** se presentan los primers diseñados, el tamaño del amplicón y la eficiencia esperada en el silenciamiento.

Tabla 2. Primers utilizados en la síntesis de dsRNA.

Gen	Secuencia de los primers	Tamaño del amplicón	dsRNA	Eficiencia esperada
FUS3	Forward: taatacgactcactatagggCGCACGCACATTACCTACACCCTC	358	M1	50.41
	Reverse: taatacgactcactatagggCATGGAATGGTCGAAGGGTGTG			
	Forward: taatacgactcactatagggTACGTCCGAACTCGATGGTA	306	M2	49.72
	Reverse: taatacgactcactatagggGTCAAGAGCCAAGTCGGAAG			
	Forward: taatacgactcactatagggTGCGGTAACGTCATATCCAA	315	M3	50.37
	Reverse: taatacgactcactatagggGTGGGCATAGCAGATTCAGG			
CYP51	Forward: taatacgactcactatagggCCGTGTTGCTTAACGTGTTG	363	M4	52.72
	Reverse: taatacgactcactatagggAGGTGAGGCCATATTTGACG			
	Forward: taatacgactcactatagggATGGCGGAAGTCTACACAGC	317	M5	51.38
	Reverse: taatacgactcactatagggTCGGCGTACGTTAACTCCTT			
	Forward: taatacgactcactatagggGACCACACACTCCCTCCTTG	146	M6	47.22
	Reverse: taatacgactcactatagggCCTCCTTGACATGCTTTGGT			

5.3.3.6. Efecto de los dsRNA en el crecimiento micelial. Se realizó un segundo ensayo de silenciamiento con las secuencias de dsRNA previamente sintetizadas (**Tabla 2**). Se midieron las absorbancias a los 11 días después del tratamiento. A diferencia del primer experimento (ver informe 2020) hubo diferencias significativas con respecto al control en los micelios tratados con las secuencias M6 homólogas al gen *PFCYP51* cuando se transfectaron a una concentración de 200 ng (**Figura 11**). Además, al igual que en el primer experimento (ver informe 2020) hubo diferencias significativas (α 0.05) en los micelios que fueron tratados con la secuencia M3 de dsRNA homóloga al gen *PfFus3* comparado con el control cuando se transfectaron a una concentración de 200 ng (**Figura 12**).

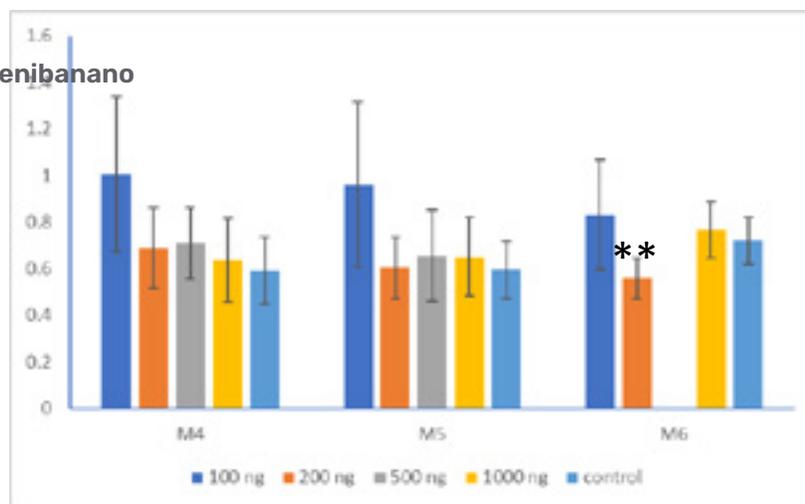


Figura 11. Absorbancia de los micelios de *P. fijiensis* después de 11 días de tratamiento con 3 secuencias de dsRNA homólogas al gen *PFCYP51* (M4, M5 y M6) a concentraciones de 100 ng, 200 ng, 500 ng y 1000 ng. Las barras verticales indican la desviación estándar. Los asteriscos indican las diferencias significativas con respecto al control ($\alpha = 0.05$).

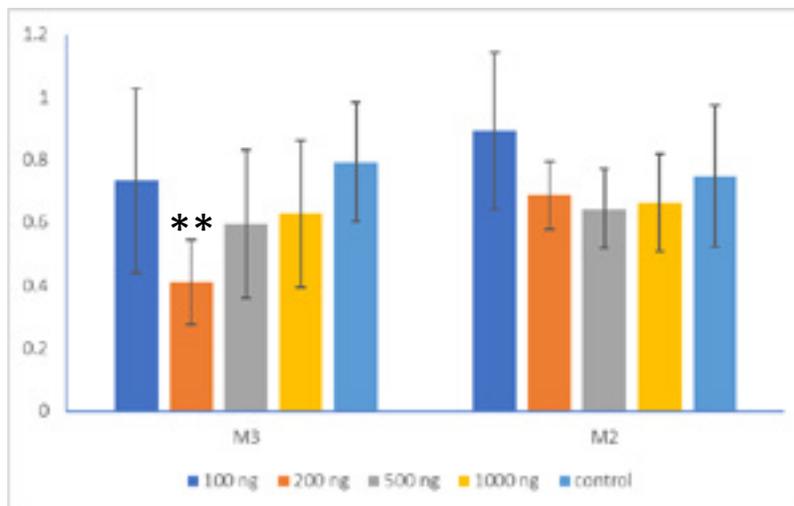


Figura 12. Absorbancia de los micelios de *P. fijiensis* después de 11 días de tratamiento con 3 secuencias de dsRNA homólogas al gen *PfFus3* (M3 y M2) a concentraciones de 100 ng, 200 ng, 500 ng y 1000 ng. Las barras verticales indican la desviación estándar. Los asteriscos indican las diferencias significativas con respecto al control ($\alpha = 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos se confirma que la secuencia M3 de dsRNA homólogas al gen *PfFus3*, logró inducir la inhibición en el crecimiento micelial. Por lo tanto, esta secuencia a una concentración de 200 ng será la utilizada para realizar las pruebas del efecto protector de las secuencias en plántulas de banano.

5.3.3.7. Evaluación del silenciamiento mediante PCR en tiempo real. La confirmación del silenciamiento se hará mediante cuantificación de mRNA por PCR en tiempo real (qPCR). Anteriormente se realizaron las extracciones de RNA de los micelios sometidos al tratamiento con las secuencias de dsRNA a las diferentes concentraciones (ver informe 2020). Aunque en los geles

no se observó banda de ADN se realizó digestión del ADN para evitar interferencias en la qPCR (**Figura 13**).

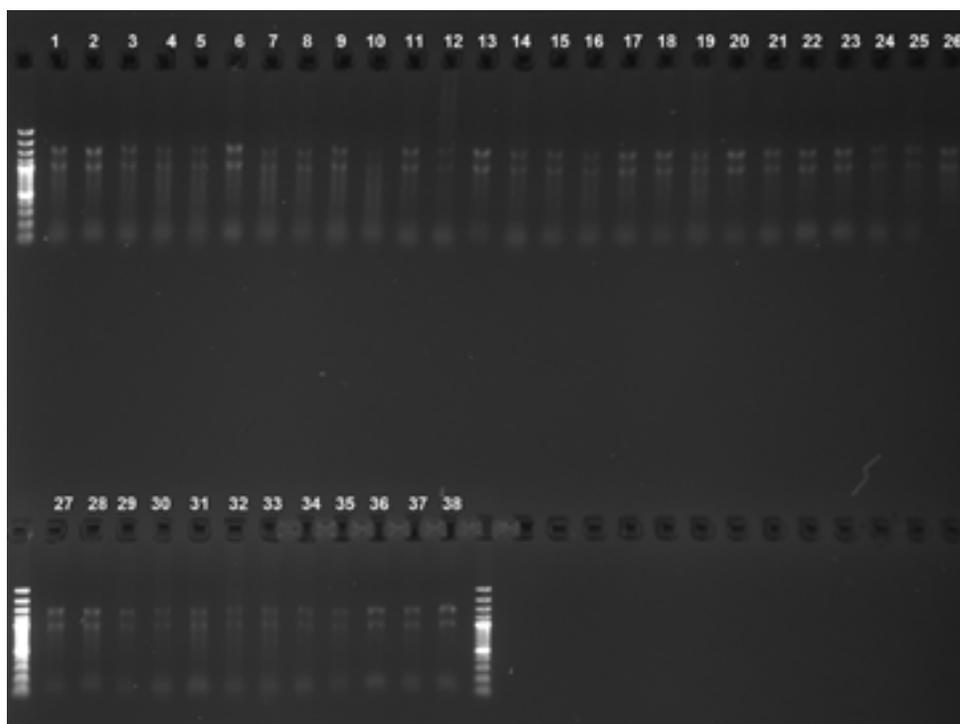


Figura 13. mRNAs después de la digestión de ADN.

Como se puede observar en la Figura 13, después de la digestión con DNasa I, la integridad de los mRNAs se mantuvo. Estos mRNAs fueron utilizados para síntesis de cDNA, y se realizó una PCR convencional para confirmar que no hubiera contaminación de ADN en los mRNAs digeridos. Como resultado no se observó en el gel amplificación con el mRNA después de la digestión, pero si con el mRNA antes de la digestión (**Figura 14**). Esto confirma la importancia de realizar digestión de ADN, aunque en el gel no se observe una banda de ADN.

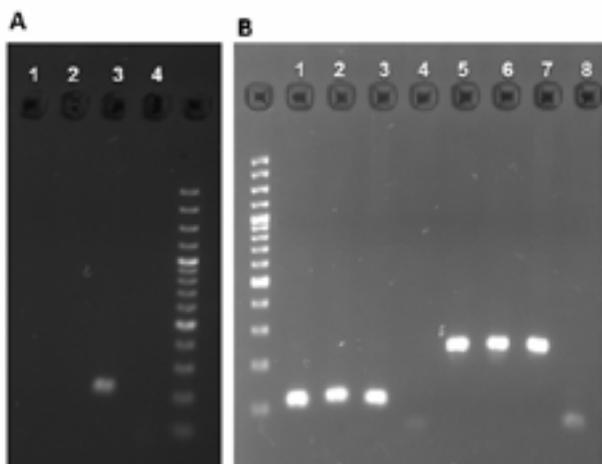


Figura 14. PCR convencional **A.** PCR con primers de qPCR que amplifican para el gen *PFCYP51*; carriles 1-2: mRNA después de la digestión con DNasa I, carril 3: control positivo; carril 4: control negativo. **B.** PCR con muestras de mRNA antes de la digestión con DNasa I; carriles 1-4: utilizando primers que amplifican el gen *PFCYP51*, el carril 3 es el control positivo y el carril 4 el control negativo; carriles del 5-8: utilizando primers que amplifican el gen *PfFus3*, el carril 7 es el control positivo y el carril 8 el control negativo. Los cDNA sintetizados fueron almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para utilizarlos en las pruebas de qPCR.

5.3.3.8. Efecto de los dsRNA en la longitud del tubo germinativo. En las secuencias de dsRNA homólogas al gen *PfCYP51*, la secuencia M5 mostró una inhibición en la longitud del tubo germinativo a concentraciones de 200 ng, 500 ng y 1000 ng en comparación con el control, en las dos repeticiones. Mientras que la secuencia M6 solo mostró inhibición en una de las repeticiones. No hubo diferencias significativas en la longitud del tubo germinal entre las ascosporas control y las tratadas con las secuencias de dsRNA M4 (**Figura 15**).

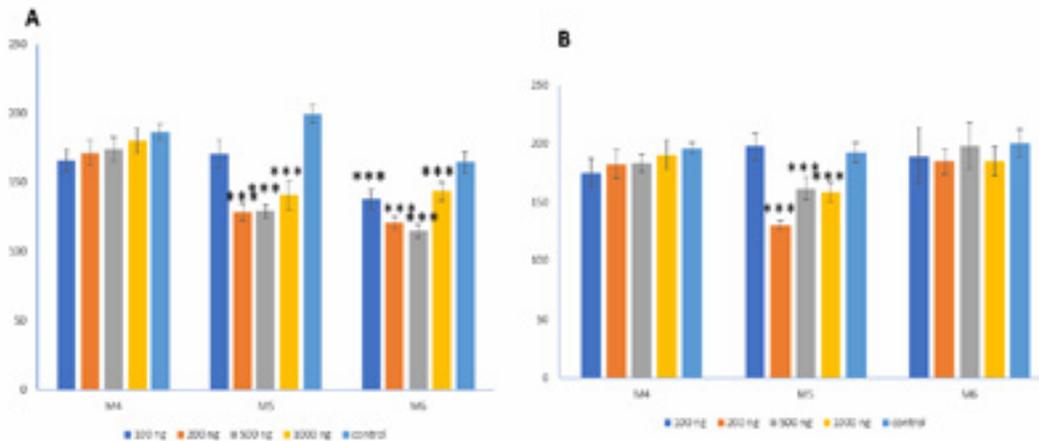


Figura 15. Longitud del tubo germinativo de ascosporas tratadas con las secuencias de dsRNA homólogas al gen *PFCYP51* (M4, M5 y M6) a concentraciones de 100 ng, 200 ng, 500 ng, 1000 ng y control. Las barras verticales indican la desviación estándar. Los asteriscos indican las diferencias significativas con respecto al control ($\alpha = 0.05$).

Las dos secuencias homólogas al gen *PfFus3* lograron una inhibición de la longitud del tubo germinativo en comparación al control cuando se aplicaron a concentraciones de 200 ng, 500 ng y 1000 ng (**Figura 16**).

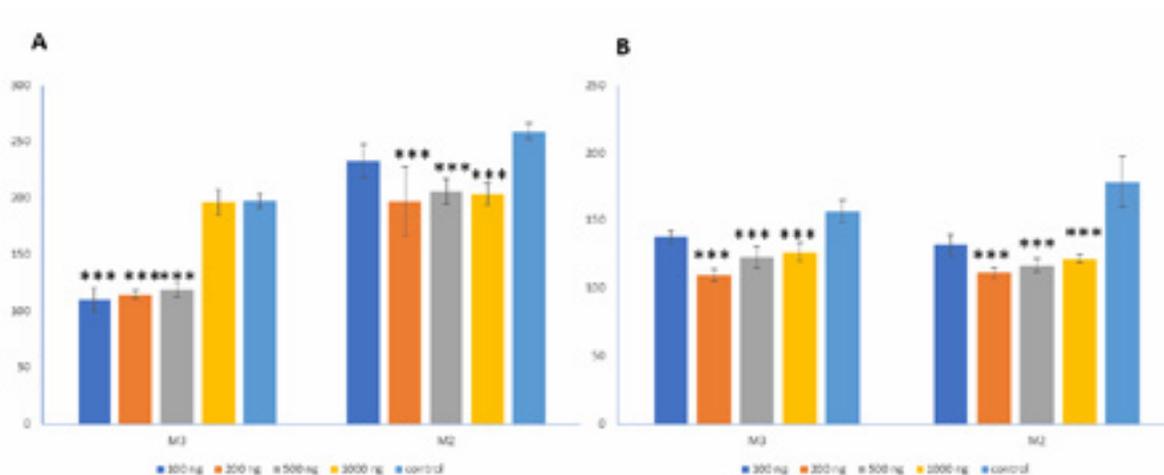


Figura 16. Longitud del tubo germinativo de ascosporas tratadas con las secuencias de dsRNA homólogas al gen *PFCYP51* (M2 y M3) a concentraciones de 100 ng, 200 ng, 500 ng, 1000 ng y control. Las barras verticales indican la desviación estándar. Los asteriscos indican las diferencias significativas con respecto al control ($\alpha= 0.05$).

Estos resultados de las pruebas de germinación fueron similares a los obtenidos en micelio y a los obtenidos con las secuencias de siRNA cortas, lo que confirma que las secuencias largas de RNA también pueden inducir el silenciamiento de genes mediado por RNA en *P. fijiensis*. Además, se ha reportado que las secuencias largas de RNA son más estables en el ambiente que las secuencias cortas (siRNA).

5.3.3.9. Experimentos de infección en cámara de infección para probar el efecto de RNAi. Los experimentos en invernadero se realizaron con las secuencias de siRNA homólogas a los genes *PfUS3*, *PfCYP51* y Adenilato ciclase (AC), previamente evaluadas in vitro en *P. fijiensis* por el grupo de investigación Biotecnología Vegetal. La aplicación de estas secuencias en *P. fijiensis* causó la disminución de la expresión de estos genes y la inhibición del crecimiento micelial y del tubo germinativo de este hongo. Las plantas de banano infectadas con los micelios tratados con estas secuencias mostraron una inhibición en el desarrollo de la infección, en comparación con el control como se puede observar en la figura (**Figura 17**). Sin embargo, es necesario realizar una cuantificación de la severidad de las lesiones para poder establecer si las diferencias son estadísticamente significativas.

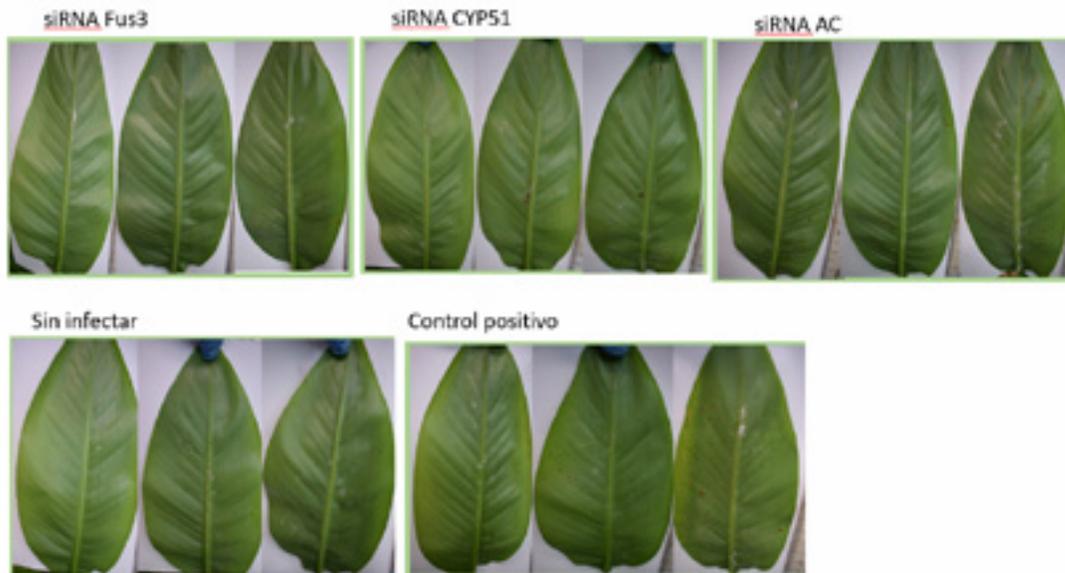


Figura 17. Hojas de banano después de 21 días de infección.

5.3.4. Conclusiones

- Las colonias transformantes obtenidas en transformaciones previas tenían una coloración blanca que era acorde al fenotipo deseado, pero en el análisis molecular no se observó modificaciones en la secuencia del gen blanco. Es necesario realizar más pruebas para establecer si se trata de heterocariontes o de efectos fuera de blanco. Adicionalmente queda pendiente evaluar el cassette número 3 y realizar la confirmación molecular de las colonias obtenidas en la transformación de *P. fijiensis* con el vector vacío.
- En los ensayos in vitro en *P. fijiensis* se encontró que las secuencias M3 y M5 de dsRNA lograron inducir el silenciamiento de los genes *PfFus3* y *PFCYP51* respectivamente, mediante la inhibición del crecimiento micelial y la inhibición de la longitud del tubo germinativo. Queda pendiente realizar una tercera repetición de cada uno de estos ensayos; realizar la confirmación del silenciamiento por PCR en tiempo real; y evaluar el efecto en la protección en plántulas de banano.
- La infección de hojas de banano con micelio transfectado con las secuencias de siRNA logró disminuir el avance de la enfermedad comparado con el control. Sin embargo, hay que realizar la cuantificación de la severidad de las lesiones para confirmar estos resultados.

5.3.5. Referencias bibliográficas

1. Donzelli BG, Churchill AC. A Quantitative Assay Using Mycelial Fragments to Assess Virulence of *Mycosphaerella fijiensis*. *Phytopathology*. 2007;97(8):916-29.
2. Friesen TL. Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. *PLoS genetics*. 2016;12(8):e1006234.
3. Romero RA, Sutton TB. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, Causal Agent of Black Sigatoka of Banana, to Propiconazole. *Phytopathology*. 1997;87(1):96-100.
4. Marin DH, Romero RA, Guzman M, Sutton TB. Black Sigatoka: An Increasing Threat to Banana Cultivation. *Plant Dis*. 2003;87(3):208-22.
5. Chong P, Essoh J, Arango R, Keizer LC, Stergiopoulos I, Seidl M, et al. Global analysis of reduced sensitivity to azole fungicides in the banana black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis*. Submitted to *PLoS One*. 2016.
6. Churchill AC. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*. 2011;12(4):307-28.
7. Girard IJ, McLoughlin AG, de Kievit TR, Fernando DW, Belmonte MF. Integrating Large-Scale Data and RNA Technology to Protect Crops from Fungal Pathogens. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:631.
8. Wang J, Lv M, Islam F, Gill RA, Yang C, Ali B, et al. Salicylic acid mediates antioxidant defense system and ABA pathway related gene expression in *Oryza sativa* against quinclorac toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2016;133:146-56.
9. Wang M, Jin H. Spray-Induced Gene Silencing: a Powerful Innovative Strategy for Crop Protection. *Trends in Microbiology*. 2017;25(1):4-6.
10. Schuster M, Kahmann R. CRISPR-Cas9 genome editing approaches in filamentous fungi and oomycetes. *Fungal genetics and biology : FG & B*. 2019;130:43-53.
11. Kujoth GC, Sullivan TD, Merkhofer R, Lee TJ, Wang H, Brandhorst T, et al. CRISPR/Cas9-Mediated Gene Disruption Reveals the Importance of Zinc Metabolism for Fitness of the Dimorphic Fungal Pathogen *Blastomyces dermatitidis*. *mBio*. 2018;9(2).
12. Diaz-Trujillo C, Kobayashi AK, Souza M, Chong P, Meijer HJG, Arango Isaza RE, et al. Targeted and random genetic modification of the black Sigatoka pathogen *Pseudocercospora fijiensis* by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *J Microbiol Methods*. 2018;148:127-37.
13. Canas-Gutierrez GP, Angarita-Velasquez MJ, Restrepo-Florez JM, Rodriguez P, Moreno CX, Arango R. Analysis of the CYP51 gene and encoded protein in propiconazole-resistant isolates of *Mycosphaerella fijiensis*. *Pest management science*. 2009;65(8):892-9.

14. Onyilo F, Tusiime G, Tripathi JN, Chen LH, Falk B, Stergiopoulos I, et al. Silencing of the Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) Fus3 and Sit2 in *Pseudocercospora fijiensis* Reduces Growth and Virulence on Host Plants. *Front Plant Sci.* 2018;9:291.
15. Wenderoth M, Pinecker C, Voss B, Fischer R. Establishment of CRISPR/Cas9 in *Alternaria alternata*. *Fungal genetics and biology : FG & B.* 2017;101:55-60.

5.4. EFICACIA Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE INDUCTORES DE DEFENSA EN BANANO CAVENDISH (*Musa AAA*) HACIA LA SIGATOKA NEGRA (*Pseudocercospora fijiensis*) EN EL URABÁ ANTIOQUEÑO

Autores: Diana Cristina Henao Ochoa, Héctor Alejandro Rodríguez Cabal, Luis Fernando Patiño Hoyos, Vicente Rey, Juan Gonzalo Morales Osorio, Rafael Eduardo Arango Isaza.

Resumen

La Sigatoka Negra causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis* es considerada la enfermedad foliar más devastadora en el cultivo de banano. El manejo de dicha enfermedad es de gran interés debido a la afectación del cultivo durante toda la etapa productiva siendo un rubro alto en la estructura de costos de la producción de fruta fresca de exportación. El manejo actual de la enfermedad consiste en una mezcla de estrategias culturales y químicas, las cuales incluyen deshoje fitosanitario y aplicación de fungicidas, los cuales con el paso de los años y aumento de aplicaciones han ido seleccionando poblaciones resistentes a los diferentes grupos químicos. Debido a esto se plantea el estudio e implementación de una estrategia preventiva de la enfermedad, basada en la aplicación foliar de inductores de defensa, los cuales pretenden activar los mecanismos de resistencia propios de las plantas para el manejo de la enfermedad. En el desarrollo de este estudio se realizaron pruebas de inhibición directa de diferentes compuestos inductores frente a dos cepas de *Pseudocercospora fijiensis* (C139 y Pf022101), en donde no se evidenció una inhibición directa significativa frente al hongo comparados con fungicidas químicos. Adicionalmente, se evaluó la efectividad de la inclusión de 3 moléculas inductoras de defensa en un plan comercial de manejo de la enfermedad, encontrando que las moléculas, potencialmente podrían sustituir mínimamente 3 ciclos de aplicación de fungicidas de síntesis química manteniendo los niveles de control de la enfermedad.

1. Introducción

La Sigatoka negra, causada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, es considerada mundialmente como la enfermedad foliar más destructiva en banano y plátano, desde el punto de vista económico (Donzelli & Churchill, 2007; Friesen, 2016). Llegando a ocasionar pérdidas hasta del 100% en la producción de la fruta de exportación, si no se controla en forma correcta y oportuna. El manejo actual de la enfermedad se basa en un programa químico-cultural el cual busca reducir y minimizar la diseminación del patógeno con la generación de un ambiente poco favorable para el desarrollo de la enfermedad, con estrategias como: control de malezas, deshoje de saneamiento y construcción de drenes. Estas medidas no logran disminuir el impacto de la enfermedad y se es necesario el empleo de fungicidas químicos para el control del patógeno. El costo del manejo de la enfermedad en Colombia es cercano a los treinta millones de dólares por año. Durante la última década se han aplicado entre 25 - 35 ciclos de aspersiones anuales de

fungicidas (comunicación verbal, AUGURA), llegando a constituir hasta el 50% de los costos de producción representados en el control fitosanitario y las labores culturales (Hincapié, 2003).

En el mundo el control químico de la Sigatoka Negra se ha considerado de alto riesgo, por los problemas de resistencia del hongo a algunos grupos de fungicidas, la contaminación ambiental y la afectación a la salud que ocasionan, además de incrementar notablemente los costos de producción de la fruta. En la actualidad se ha reportado la pérdida de sensibilidad de *P. fijiensis* a algunas moléculas tales como Qols, DMI y algunos Azoles (Balint-Kurti et al., 2001; Chong et al., 2011; Marin et al., 2003; Romero & Sutton, 1997). Lo anterior ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas para el manejo de esta enfermedad. Idealmente, estas estrategias deben tener un carácter preventivo más que paliativo; en tal sentido, se evalúa el potencial del uso de inductores de defensa como estrategia del manejo integral de la enfermedad en el cultivo.

2. Materiales y métodos

2.1. **Determinación del efecto directo de inductores de defensa sobre el hongo *P. fijiensis*.** Con sacabocados estéril, se realizaron 3 pozos equidistantes en aproximadamente 20mL de medio PDA en cajas de Petri, posteriormente se sembró en superficie, 1000 μ L de suspensión fúngica a una concentración de 2×10^5 fragmentos de micelio/mL de cada una de las cepas C139 y Pf-022101. En cada pozo se depositaron 100 μ L de la solución a evaluar (**Tabla 1**), llenando 3 pozos por caja. Se incubaron en oscuridad a 28°C durante 15 días, seguidamente se determinó el área de crecimiento de *P. fijiensis* empleando el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ.

2.2.

Tabla 1.

Compuesto	Concentración
Mancozeb (FC)	4g/L
Medio PDA	estandar
Metil Jasmonato-Meja	10mM
Salicilato de sodio-NaSa	4g/L
Ácido β -aminobutírico-BABA	1g/L
Fosfito de potasio-FosK	10mL/L
Acibenzolar-s-metil-Boost- ASM	5mL/L

- 2.2. **Determinación de la longitud del tubo germinativo de *P. fijiensis* en medio suplementado con cada uno de los inductores.** Tejido foliar necrosado por Sigatoka Negra, procedentes de cultivos con y sin aplicación de fungidas, llevados a cámara húmeda a temperatura ambiente durante 48 horas. En cajas de Petri estériles fueron dispensados aproximadamente 20 mL de Agar granular suplementado con los diferentes compuestos a evaluar (Boscalid 1ppm, MeJa 10mM, NaSa 4g/L, BABA 1g/L, FosK 10mL/L y agua), posterior a la gelificación se realizó la descarga de ascosporas durante 30 minutos y se llevaron a incubación durante 48 horas a 27°C. La lectura del crecimiento del tubo germinativo fue realizada con microscopio de campo claro con objetivo de 20X, midiendo el tubo germinativo de 30 ascosporas por cada caja, el montaje contó con 3 cajas por cada tratamiento.
- 2.3. **Determinación de efectividad en la inclusión de moléculas inductoras de defensa en un programa de manejo de la Sigatoka negra en banano en la Subregión del Urabá Antioqueño.** Se seleccionó un hijo de sucesión en cada una de 98 unidades productivas en un cultivo pre-establecido. Cada planta contaba con mínimo 5 hojas verdes con severidad inferior a grado 3 en el momento de la selección, según el Método de Stover modificado por Gauhl, altura entre 100 cm-120cm, distancia mínima de 80cm de los canales de drenaje y sin influencia de borde de la parcela o sombra de árboles. Empleando pulverizadora manual de 2L se realizó la aspersion de cada planta a una altura aproximada de 70 cm, rociando la parte superior de cada unidad experimental, aplicando un aproximado de 12mL por cada planta, dejando una cobertura fina en el haz de cada hoja. La frecuencia de aplicación y el tipo de fungicida de síntesis química, dependió del plan comercial empleado en el campo experimental y productivo "Ramiro Jaramillo Sossa" ubicado en Carepa- Antioquia. Los ciclos 2, 5 y 8 en 5 de los 7 tratamientos, fueron remplazados por compuestos inductores como se detalla en la Tabla 2. La duración del ensayo fue de 11 semanas, tiempo en el cual se realizaron 8 ciclos de aspersion en el plan comercial, contemplados desde la semana 12-23 y la semana 33-44 del año 2021. Las variables respuesta correspondieron a el cálculo de Preaviso Biológico y severidad de la enfermedad.

Tabla 2. Aplicaciones de fungicidas e inductores.

Ciclo	T 1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	Agua	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*
2	Agua	Fungicida*	Meja	BABA	NaSa	Mezcla**	Meja
3	Agua	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*
4	Agua	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*
5	Agua	Fungicida*	Meja	BABA	NaSa	Mezcla**	BABA
6	Agua	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*
7	Agua	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*	Fungicida*
8	Agua	Fungicida*	Meja	BABA	NaSa	Mezcla**	NaSa

*Fungicida aplicado en la finca Ramiro Jaramillo Sossa, correspondiente al plan de manejo comercial de la enfermedad.

**Mezcla en relación 1:1:1 Meja, BABA y NaSa.

3. Resultados y discusión

3.1. Pruebas *in vitro*. El crecimiento de la cepa silvestre de *P. fijiensis* (Pf-022101) proveniente de plantas de banano sin presión de fungicidas y la cepa C139 (aislado de cultivos con presión de fungicidas), no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el área de crecimiento en medio PDA en presencia de los diferentes compuestos inductores, determinado mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% (**Figura 1**). Ambos aislados tratados con el FC presentaron disminución estadísticamente significativa en el área de crecimiento frente a todos los tratamientos con los diferentes inductores y agua como se observa en las **figuras 2 y 3**.

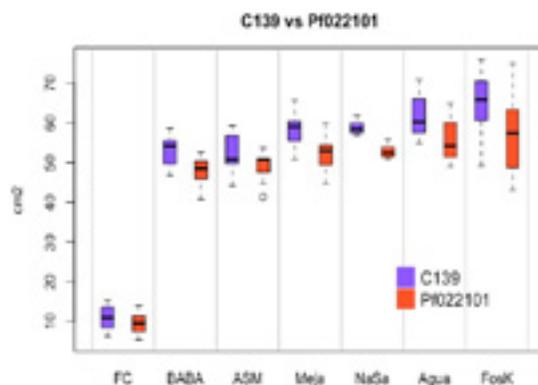


Figura 1. Efecto de inductores de resistencia en el crecimiento de *P. fijiensis*. Área de crecimiento de 2 aislados de *P. fijiensis* en medio PDA suplementado con cada uno de los inductores evaluados

y el fungicida de contacto (FC) (Mancozeb 4g/L). Aislado C139 correspondiente a cepa con presión de fungicidas, cepa Pf022101 corresponde a aislado sin presión de fungicidas.

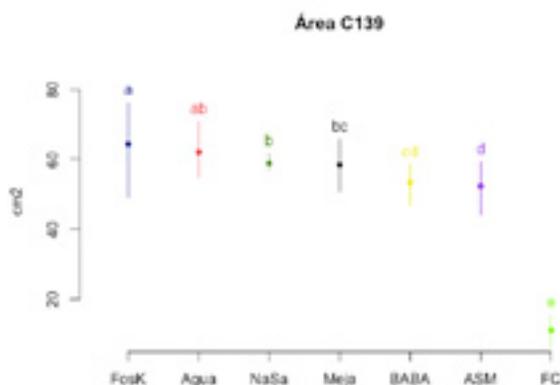


Figura 2. Área de crecimiento de la cepa C139 de *P. fijiensis*, en medio PDA suplementado con inductores de defensa, 15 días posteriores a la inoculación. FosK 10mL/L, Agua (control absoluto), NaSa4g/L, MeJa10mM, BABA1g/L, ASM5mL/L, FC (Mancozeb 4g/L). Letras diferentes indican diferencia significativa identificada mediante la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

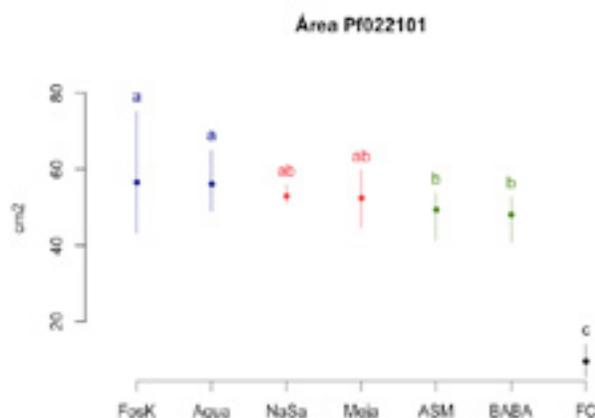


Figura 3. Área de crecimiento de la cepa Pf022101 de *P. fijiensis*, en medio PDA suplementado con inductores de defensa, 15 días posteriores a la inoculación. FosK 10mL/L, Agua (control absoluto), NaSa4g/L, MeJa10mM, BABA1g/L, ASM5mL/L, FC (Mancozeb 4g/L). Letras diferentes indican diferencia significativa identificada mediante la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

La longitud del tubo germinativo entre las muestras provenientes de plantaciones con y sin aplicación de fungicidas se comportaron de manera similar sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre el origen de las muestras. Sin embargo, cada cepa evaluada en forma individual mostró diferencias significativas en su respuesta frente a cada producto inductor de resistencia. Las ascosporas descargadas en medio suplementado con el compuesto BABA 1g/L, correspondieron al tratamiento con menor longitud de tubo germinativo siendo diferente estadísticamente ($P < 0.05$) al control agua, en las muestras con y sin presión de fungicidas, presentando longitudes promedio de 30 y 35 micras respectivamente. La elongación del tubo germinativo de las ascosporas tratadas con el fungicida sistémico Boscalid, presentaron

la menor longitud promedio (8 μ) en muestras de ambas procedencias, formando un grupo estadísticamente diferente a todos los otros tratamientos **figuras 4 y 5**.

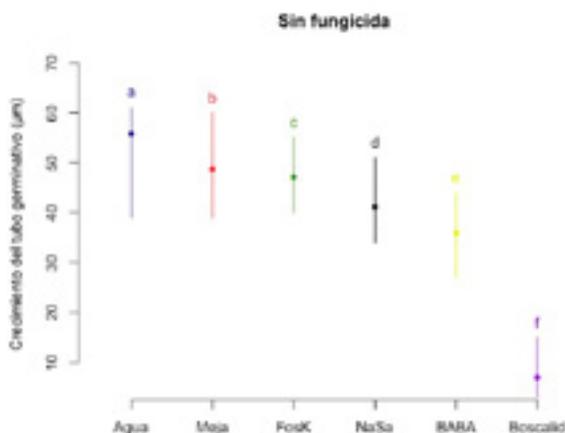


Figura 4. Efecto de inductores de resistencia en la longitud de tubo germinativo de una cepa de *P. fijiensis*, obtenida de un sitio sin presión de fungicidas. FosK 10mL/L, Agua (control absoluto), NaSa4g/L, MeJa10mM, BABA1g/L, ASM5mL/L, Boscalid 1 ppm. Letras diferentes indican diferencia significativa identificada mediante la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

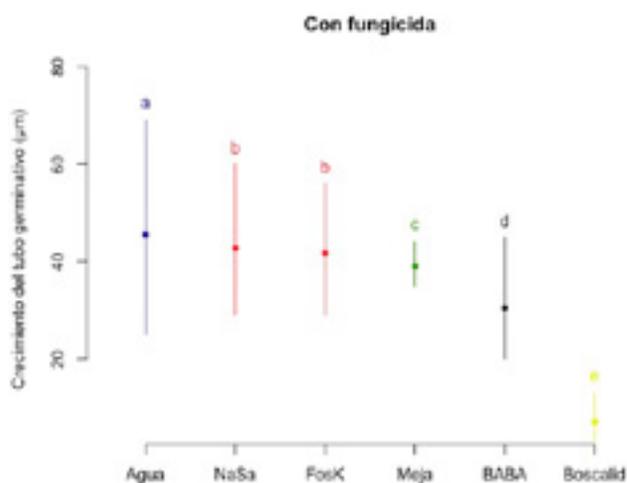


Figura 5. Efecto de inductores de resistencia en la longitud de tubo germinativo de una cepa de *P. fijiensis*, obtenida de un sitio con presión de fungicidas. FosK 10mL/L, Agua (control absoluto), NaSa4g/L, MeJa10mM, BABA1g/L, ASM5mL/L, Boscalid 1 ppm. Letras diferentes indican diferencia significativa identificada mediante la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

Los valores observados para la variable respuesta de la longitud del tubo germinativo, sugiere que el inductor BABA [1g/L] tiene un posible efecto antimicrobiano directo en el desarrollo de *P. fijiensis*, sin lograr ser igual al efecto del FC o el FS (fungicida sistémico) evaluados. La posible inhibición directa leve de BABA sobre *P. fijiensis* fue reportada por (Mogollon, 2012), quién evidenció reducciones en el tamaño de las colonias y esporulación de *P. fijiensis* y al igual que el

presente caso el desarrollo del patógeno siguió a lo largo del experimento sin mostrar una inhibición total (Figura 6). Los fungicidas Mancozeb y Boscalid, mostraron disminuciones significativas sobre el crecimiento del hongo y/o elongación del tubo germinativo. El mecanismo de acción del FC consiste en inhibir la germinación de las esporas del hongo al afectar el metabolismo de lípidos, la respiración y producción de ATP y el FS bloquea la enzima succinato deshidrogenasa del patógeno (FRAC, 2021).

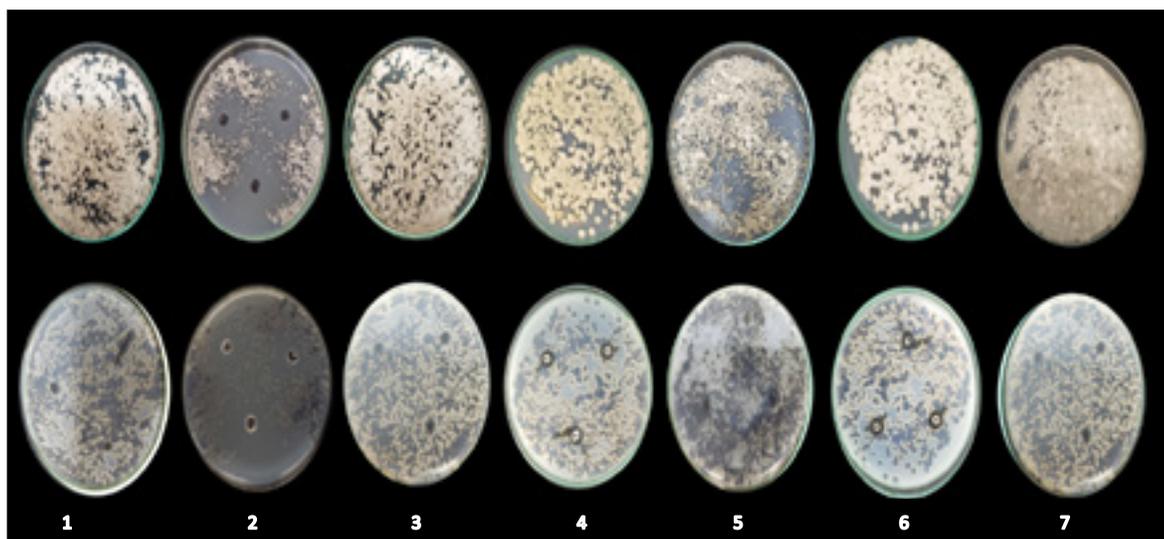


Figura 6. Desarrollo de *P. fijiensis* 15 días posteriores a la siembra en medio PDA suplementado con cada uno de los inductores de defensa evaluados. Fotografías por el frente y revés de las cajas de Petri. 1-Agua (control absoluto), 2 -Mancozeb 4g/L, 3-Meja 10mM, NaSa BABA FosK ASM.

3.2. Determinación de efectividad en la inclusión de moléculas inductoras de defensa en un programa de manejo de la Sigatoka negra en banano en la Subregión del Urabá Antioqueño

La inserción de los inductores MeJa, BABA y NaSa, de manera individual, y la mezcla 1:1:1 (BABA, Meja, NaSa), en los ciclos 2, 5 y 8 de aspersión para el manejo de la Sigatoka negra, mostraron un comportamiento similar al tratamiento 2, correspondiente a plantas con aplicaciones completas del plan de fumigación convencional (**Figura 7**). El tratamiento con menor severidad correspondió a las plantas en las cuales se aplicaron los inductores MeJa, BABA y NaSa, en los ciclos 2, 5 y 7 respectivamente; presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en el área bajo la curva de la enfermedad (AUDPC) en 11 semanas de evaluación, comparado con el control comercial (**Figura 7**). La AUDPC expresada como suma bruta, presentó diferencias significativas identificadas mediante la prueba de comparaciones múltiples, entre todos los tratamientos y el control absoluto (agua). Sin embargo, no se logró observar diferencias entre el control químico convencional y los tratamientos en donde se incluyeron inductores de resistencia (**Figura 8**). Estos resultados sugieren la posibilidad de incluir los inductores anteriormente mencionados en el manejo de la Sigatoka negra y potencialmente permitiría la disminución de mínimo 3 ciclos de aplicación de fungicidas, manteniendo los rangos actuales del control de la enfermedad alcanzados mediante control químico convencional.

Otros inductores de defensa han sido evaluados en asocio con fungicidas, determinado su capacidad controladora dentro de un plan de manejo de enfermedades. En la investigación desarrollada por Patrício et al., (2007) se evaluó la capacidad controladora del ASM comparada con

fungicidas y antibióticos en el manejo de *Cercospora coffeicola* y *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* en plantas de café, evidenciando porcentajes de control similares entre el ASM, fungicidas y antibióticos. El fosfito de potasio fue evaluado para el control de Mildeo Velloso en cebolla de bulbo causado por *Peronospora destructor*, en combinación con los fungicidas Metalaxyl y Mancozeb, encontrando un efecto altamente significativo en el control de la incidencia y severidad de *P. destructor* (Monsalve et al., 2012).

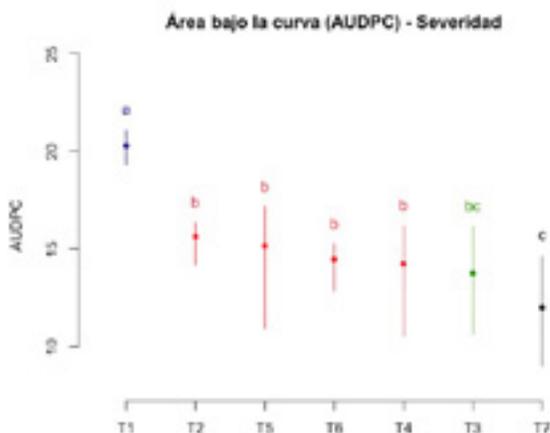


Figura 7. Datos transformados de AUDPC de la Sigatoka negra 11 semanas posteriores a la primera aplicación de los tratamientos con inductores y mezclas con fungicidas convencionales. T1-Control absoluto. T2-Plan completo de fungicidas. T3-inserción de Meja. T4- inserción de BABA. T5- inserción de NaSa. T6- inserción de mezcla 1:1:1. T7- inserción de inductores intercalados Meja/BABA/NaSa. Letras diferentes indican diferencias significativas identificadas mediante la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

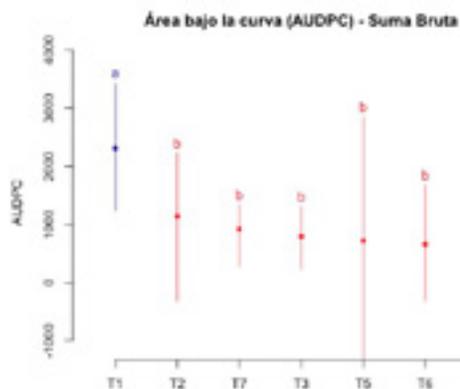


Figura 8. AUDPC de la Sigatoka negra calculada a partir de la suma bruta 11 semanas posteriores a la primera aplicación. T1-Control absoluto. T2-Plan completo de fungicidas. T3-inserción de Meja. T4- inserción de BABA. T5- inserción de NaSa. T6- inserción de mezcla 1:1:1 Meja:BABA:NaSa. T7- inserción de inductores intercalados Meja/BABA/NaSa. Letras diferentes indican diferencias significativas identificadas por la prueba de Tukey con una confianza del 95%.

4. Conclusiones

- Algunos inductores de resistencia como BABA presentan efecto directo de inhibición sobre *P. fijiensis*; sin embargo, es significativamente menor que el de los fungicidas mancozeb y boscalid.
- La inserción de los inductores MeJa, BABA, NaSa o la mezcla de los mismos, permite la reducción de ciclos de aplicación de fungicidas.

5. Referencias bibliográficas

- Balint-Kurti, P. J., May, G. D., & Churchill, A. C. (2001). Development of a transformation system for *Mycosphaerella* pathogens of banana: A tool for the study of host/pathogen interactions. *FEMS Microbiol Lett*, 195(1), 9–15. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10490.x>
- Chong, P., Arango, R., Stergiopoulos, I., Guzmán, M., Crous, P. W., Silva, G. F. da, Wit, P. J. G. M. de, & Kema, G. H. J. (2011). Analysis of azole fungicide resistance in *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black Sigatoka. En *Modern fungicides and antifungal compounds VI. 16th International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Germany, April 25-29, 2010* (pp. 217–222). Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft e.V. Selbstverlag.
- Donzelli, B. G., & Churchill, A. C. (2007). A Quantitative Assay Using Mycelial Fragments to Assess Virulence of *Mycosphaerella fijiensis*. *Phytopathology*, 97(8), 916–929. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-8-0916>
- FRAC, F. R. A. C. (2021). *Mode of Action Group*. FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-frac-mode-of-action-group>
- Friesen, T. L. (2016). Combating the Sigatoka Disease Complex on Banana. *PLoS Genet*, 12(8), e1006234. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006234>
- Hincapié, A. (2003). Efecto del ácido salicílico y acibenzolar-s-metil como inductores de resistencia a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano. Medellín. *Trabajo de grado Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias*.
- Marin, D., Romero, R., Guzmán, M., & Sutton, T. (2003). Black Sigatoka: An Increasing Threat to Banana Cultivation. *Plant Disease - PLANT DIS*, 87, 208–222. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.208>
- Mogollon, Á. M. M. (2012). *Evaluación in vitro de Inductores de Resistencia sobre Mycosphaerella fijiensis Morelet*. 65, 11.

- Monsalve, J. V., Rosero, S. E. V., & Cárdenas, N. J. R. (2012). *Efecto del Fosfito de Potasio en Combinación con el Fungicida Metalaxyl + Mancozeb en el Control de Mildeo Velloso (Peronospora destructor Berk) en Cebolla de Bulbo (Allium cepa L.)*. 65, 9.
- Patrício, F., Almeida, I. M. G., Barros, B. C., Santos, A., & Frare, P. M. (2007). Effectiveness of acibenzolar-S-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. *Annals of Applied Biology*, 152, 29–39. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00187.x>
- Romero, R. A., & Sutton, T. B. (1997). Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, Causal Agent of Black Sigatoka of Banana, to Propiconazole. *Phytopathology*, 87(1), 96–100. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1997.87.1.96>

5. IMPLEMENTACIÓN DE UNA PLATAFORMA BIOTECNOLÓGICA BASADA EN LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE BIOCONTROL DE PATÓGENOS EN EL CULTIVO DE PLÁTANO (*Musa*, AA)

Autores: Alba Y. Mosquera, Raquel Juliana Romo Buchelly, Yenny Paola Restrepo Restrepo, Liuda J. Sepúlveda, Lucía Atehortúa, Diego Lozada, Sebastián Zapata.

Resumen

La Sigatoka negra es la principal enfermedad que afecta a las plantaciones de musáceas en el mundo, especialmente en plantaciones en monocultivo -banano- donde el impacto de la enfermedad es mayor. El combate anual de la enfermedad absorbe a las empresas bananeras del país un alto porcentaje del total de costos de producción de la fruta. Este costo es posible de sufragar por las transnacionales que tienen grandes plantaciones, cuyas producciones superan las 2500 cajas de banano por hectárea y por año, no obstante, las pequeñas plantaciones de los productores de plátano no soportan una carga tan alta para mantener bajo control la enfermedad además de que su rentabilidad es baja por su forma de producción anual y por su área. En la búsqueda de alternativas para combatir la enfermedad se han conducido diversas investigaciones con interés particular en el desarrollo de nuevos bioinsumos que sean costo-efectivos y que sean amigables con el medio ambiente; particularmente los extractos proteicos formulados de *Ganoderma lucidum* presentan una prometedora actividad antifúngica *in-vitro* contra *Pseudocercospora fijiensis*, sin embargo, su actividad no ha sido demostrada *in-vivo*. En el presente informe, se describen los resultados de las pruebas de eficacia del formulado proteico en época de alta presión del patógeno (formulado de *Ganoderma* / agentes antifúngicos) y en época de transición (formulado de *Ganoderma* / otros bioinsumos), a partir de los resultados obtenidos en términos de los porcentajes de severidad, incidencia y eficacia pudo determinarse que el uso del extracto en mezcla con fungicidas sistémicos en época de lluvia o alta presión obtuvo un excelente control de la enfermedad sobre el cultivo de plátano, obteniéndose porcentajes de eficacia mayores del 70%, por otra parte, el bioinsumo formulado del extracto proteico presenta porcentajes de eficacia similares al de otros bioinsumos posicionados en el mercado en época de transición. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, el formulado del extracto proteico en mezcla con otros fungicidas constituye una excelente alternativa para controlar la enfermedad en cultivos a pequeña escala.

Palabras clave: Sigatoka negra, extracto proteico, *Ganoderma lucidum*, pruebas de eficacia agronómica.

5.5.1. Introducción

El plátano es uno de los cultivos que más importancia ha ido ganando en los últimos años gracias a la generación de empleo y su contribución a la seguridad alimentaria de los diferentes países productores. La demanda de esta fruta es cada vez mayor y según datos de la FAO, para el año 2019 se exportaron un total de 41'580.022 toneladas (FAO, 2019a). Colombia es el décimo productor de plátano del mundo, mientras que los primeros puestos son ocupados por países africanos como Ghana, República democrática del Congo, Camerún, Uganda y Nigeria (FAO, 2019b). En Colombia, el plátano es uno de los cultivos de mayor importancia en cuanto a la seguridad alimentaria del país, ya que hace parte de los productos básicos de la canasta familiar (Minagricultura, 2018). Para el año 2020, Colombia produjo unas 4'476.922 toneladas de plátano y cerca del 90% de esta producción fue exportada a países como Estados Unidos, Reino Unido, Bélgica y España, obteniendo divisas por exportación de unos 63 millones de dólares, además se indicó que este subsector generó más de 960.000 empleos directos e indirectos (Minagricultura, 2021). El 80% de dichas exportaciones son realizadas por pequeñas familias de productores con fincas de 0,5 a 1 Ha, lo cual corresponde aproximadamente a 213.950 familias productoras de plátano con área sembrada de más 455.529 hectáreas, las cuales, se encuentran distribuidas en 786 municipios de los 32 departamentos del país. La exportación de plátano es de gran importancia ya que, además de servir de sustento alimentario genera aproximadamente un empleo indirecto y dos empleos indirecto por hectárea (Castro, 2012). El departamento con mayor producción de plátano es Antioquia con un 14%, equivalente a cerca de 61.000 hectáreas según los registros para el año 2017 (Minagricultura, 2018). Dentro de este departamento el Urabá Antioqueño y el noroccidente Antioqueño son las subregiones donde se concentra la producción de esta fruta y por ende las exportaciones (90% de las exportaciones realizadas en el país) (Castro, 2012), (Minagricultura, 2018, 2021).

La alta demanda de esta fruta y el incremento de enfermedades en las plantaciones de plátano, han ocasionado que el país importe plátano de otros países para suplir la demanda interna y recuperar los mercados externos perdidos (Piedrahíta, 2011) Una de las enfermedades que más perjudica el cultivo de plátano es la Sigatoka Negra, ocasionada por el hongo ascomycete *Pseudocercospora fijiensis*. La Sigatoka negra, es considerada la enfermedad que genera mayores pérdidas en la producción de cultivo de plátano y banano alrededor del mundo, llegando a generar un 85% de reducción la productividad de las fincas. Esta fitopatología ataca el tejido de la hoja llevándola a un proceso de necrosis (estadio 6 de infección) limitando de esta forma los procesos fotosintéticos, como consecuencia, hay una baja productividad y una rápida maduración del fruto (Nascimento et al., 2020) (Ugarte Fajardo et al., 2020) (Gutierrez-monsalve et al., 2015) (Reuveni et al., 2020). *P. fijiensis* puede llegar a disminuir la productividad de un cultivo hasta en 100% si no se emplean medidas de control y si el manejo no es el adecuado el peso de la fruta puede disminuir hasta en un 50% (Escudero et al., 2020; Marín et al., 2003).

El manejo de la enfermedad de la Sigatoka Negra es realizado a través de diferentes métodos, como el control químico que involucra el uso de fungicidas químicos protectantes y sistémicos, las prácticas culturales y en una menor proporción el uso de agentes de biocontrol. El método más predominante es el uso de fungicidas químicos sistémicos los cuales han provocado que las poblaciones de *P. fijiensis* adquieran una notable resistencia (Churchill, 2011). La resistencia

adquirida por el hongo *Pseudocercospora fijiensis* ha sido tanta que se ha provocado un incremento en las dosis y los ciclos de aspersión; actualmente se realizan más entre 30 a 50 ciclos de aplicación de fungicidas en el año, casi el doble de aplicaciones aéreas que se realizaban en 1993 (Patiño et al., 2007) (Restrepo & Martínez, 2021). Se estima que el costo asociado de estos fungicidas para disminuir la severidad de la enfermedad en una hectárea es cercano a los \$1500 US anualmente (Becker et al., 2021). Sumado al inconveniente anteriormente mencionado, se presentan problemas de contaminación ambiental, salud pública y una alta residualidad de los agroquímicos en la fruta (Reuveni, 2021), lo que implica un rechazo rotundo por parte de los gremios importadores del plátano.

Las prácticas culturales como el deshoje, deshije, una adecuada disposición de residuos orgánicos dentro de las parcelas y una correcta fertilización también contribuyen a disminuir la incidencia de la enfermedad (Orozco-Santos et al., 2008). La búsqueda de nuevas alternativas para el manejo de la enfermedad, ha permitido atribuir capacidad antifúngica a algunos microorganismos como bacterias y hongos (Alvindhia, 2012; Shoda, 2000), sin embargo, el uso directo de estos microorganismos en las plantaciones depende su capacidad para adaptarse a un nuevo nicho, además estos microorganismos pueden afectar la microbiota nativa en la cual son depositados, por lo cual no emplearían de inmediato la síntesis y secreción de enzimas a las cuales se asocia su acción antifúngica, otra dificultad que se puede presentar con estos microorganismos es su fácil remoción por las constantes aplicaciones de moléculas químicas para el manejo de arvenses, enfermedades y/o fertilización (Mandal et al., 2020).

En la búsqueda de alternativas para reducir el uso de moléculas sintéticas en el manejo de la enfermedad, el laboratorio de Biotecnología de la UdeA y la Asociación de Bananeros de Colombia –AUGURA– han realizado diversas investigaciones dirigidas a la búsqueda de nuevas moléculas para el biocontrol, encontrando que el extracto intracelular de rico en proteínas, del hongo comestible y medicinal *Ganoderma lucidum* tiene un efecto antifúngico sobre el desarrollo micelial de *P. fijiensis* a nivel *in-vitro*. El objetivo principal de esta investigación fue evaluar a nivel *in-vivo* la capacidad biocontroladora de los extractos proteicos sobre el desarrollo de la enfermedad en plantaciones de plátano a través de pruebas de eficacia del extracto proteico formulado, en época de alta presión (extracto formulado/ agentes químicos) y en época de transición (extracto proteico/otros bioinsumos). Las pruebas de eficacia agronómica son ensayos exigidos por las entidades de control sanitario agrícola en todo el mundo (EPA; EPPO, ICA, etc.) para otorgar el registro de nuevos productos empleados en plantas (fitoestimulantes o fitoprotectores), estas permiten la cuantificación de la eficacia biológica de un insumo agrícola, conocer fitocompatibilidad de un insumo agrícola con el cultivo y la aplicabilidad en el contexto de prácticas de manejo fitosanitario al medir ciertos atributos estadísticos a nivel de campo (ICA, 2015)(EPPO, 2012).

5.5.2. Materiales y métodos

5.5.2.1. Obtención del extracto proteico. El extracto proteico fue obtenido por medio de disrupción mecánica de la biomasa micelial del hongo *G. lucidum*. La biomasa usada fue recuperada después del proceso de cultivo del hongo en biorreactor de tanque agitado BIOFLO 110 en sistema discontinuo. El cultivo fue realizado en un biorreactor de 14 L con 10 L de medio de cultivo compuesto por 20 g/L de harina de cebada como fuente principal de carbono y nitrógeno; 1mL/L de aceite de oliva; micronutrientes $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 mg/L; $NaNO_3$ 80 mg/L; KCl 10 mg/L; KH_2PO_4 30 mg/L y cofactores $Na_2MoO_4 \cdot 4H_2O$ 0,02 mg/L; $ZnCl_2$ 3,5 mg/L; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 49 mg/L; $CuSO_4$ 53 mg/L; Biotina 0.1 mg/L con pH inicial de 5,6. El biorreactor fue inoculado con el 0,4% (v/v) e incubado durante 7 días a temperatura de 24 °C, flujo de aire de 0,5 vvm, control de oxígeno disuelto del 20 % mediante aumento de agitación de 250 rpm a 400 rpm y en exposición continua a la luz azul proporcionada por un módulo de diodo emisor de luz (LED) (BIOINN).

Para las evaluaciones en campo, el extracto proteico fue seco mediante aspersion utilizando un mini secador por aspersion B-290 adicionando maltodextrina-dextrosa como excipientes coadyuvantes de secado para la proteccion de proteinas. La temperatura de secado a la entrada y salida del secador y el flujo de entrada de la muestra al aspersor se mantuvieron a 110 °C, 68°C y 250 ml/h respectivamente. Los extractos secos fueron empacados al vacio y mantenidos en nevera a 4°C hasta su uso.

5.5.2.2. Cultivo de musáceas. Para evaluar la eficacia agronomica del extracto proteico se empleo la variedad de plátano Clon Harton (*Musa AAB Simmonds*), una de las variedades más comercializadas en el país (SIPSA, 2014), que presenta una alta susceptibilidad a la enfermedad de la Sigatoka negra (Javier & Galeano, 2011) ocasionada por el hongo fitopatogeno *Pseudocercospora fijiensis*, el cual naturalmente se encuentra ampliamente distribuido en la subregion del Urabá Antioqueño.

5.5.2.3. Establecimiento de parcelas en bloques completamente al azar. Para la evaluacion de la eficacia agronomica del extracto proteico de *Ganoderma*, se realizaron dos ensayos, el primero fue llevado a cabo entre los meses de diciembre de 2020 y enero de 2021, en condiciones de lluvia o alta presion del fitopatogeno, en este, se evaluó la compatibilidad del bioinsumo agricola producido en el laboratorio de Biotecnología en mezcla con insumos quimicos posicionados en el mercado (fungicidas sistemicos y coadyuvantes). El segundo ensayo, fue desarrollado durante los meses de julio y agosto de 2021, época de transicion invierno - verano, en este caso, se evaluó la influencia de la formulacion sobre el desarrollo de los estadios de la enfermedad de la Sigatoka negra, de igual forma, se comparó la eficacia del producto desarrollado frente a otros bioinsumos posicionados en el mercado. Ambos experimentos fueron llevados a cabo en la subregion del Urabá Antioqueño en condiciones de campo.

5.5.2.3.1. Ensayo 1. Se desarrolló en el municipio de Chigorodó Antioquia, en la finca La Chivana vereda Champitas, con coordenadas geograficas 7°38'44.3"N y 76°41'15.5"W, temperatura promedio de 28 °C y 3.800mm promedio precipitacion anual (Alcaldía de Chigorodó, n.d.). Se emplearon 16 tratamientos con 3 repeticiones, cada tratamiento contó con 6 plantas por cada

repetición para un total de 18. Durante el ensayo se utilizó como testigo comercial Dithane, cuya eficacia fue comparada con el insumo propuesto a base el extracto proteico de *Ganoderma lucidum*, ambos en mezcla con plaguicidas sistémicos y coadyuvantes posicionados comercialmente como Volley 880L, Sico 250 EC, Cumora 500 SC y Tritón X-45, Banole, respectivamente. Los tratamientos fueron aplicados en planta cada 10 días, hasta cumplir un total de 4 aplicaciones, mientras que, las evaluaciones fueron desarrolladas cada 5 días después de cada aplicación.

5.5.2.3.2. Ensayo 2. El segundo experimento, se desarrolló en el municipio de Carepa Antioquia en la vereda Tulenapa bajo coordenadas geográficas 7°46'22.8"N y 76°39'41.2"W, durante los meses de julio y agosto de 2021 en época de transición invierno – verano, este municipio cuenta con un promedio de temperatura anual de 20 a 35 ° C y un promedio de precipitación 2.000 y 4.000 mm (Alcaldía de Carepa (Antioquia), n.d.). Se empleó un diseño de experimentos con 10 tratamientos, 3 repeticiones por tratamiento, cada repetición contó con 9 plantas, para un total de 27 plantas. como testigo comercial fue empleado el Dithane, cuya efectividad fue comparada con el extracto proteico (insumo propuesto), estos fueron mezclados con los coadyuvantes Banole e hipotensor. En este experimento, se comparó la eficacia del extracto proteico frente al testigo comercial y frente a bioplaguicidas avalados por el Instituto Colombiano Agropecuario – ICA para el control de la enfermedad de la Sigatoka Negra, tales como, Banadak, Serenade y Timorex gold. Se realizaron 4 aplicaciones a intervalos de 7 días, las evaluaciones del estado evolutivo y número de plantas afectadas se realizaron 5 días después de cada evaluación. Después de la cuarta aplicación, se evaluó el estado de las hojas hasta 14 días después de la aplicación, con el fin de examinar el efecto residual de los insumos empleados en el control de la enfermedad.

Tabla 1. Tratamientos empleados en los ensayos de eficacia agronómica en dos épocas climáticas.

Época de lluvia, alta presión del fitopatógeno		Época de transición (invierno - verano)	
Tratamientos (TTOs)	Mezcla de agroinsumos	Tratamientos (TTOs)	Mezcla de agroinsumos
T1E1	Banole + Tritón X-45 (7,6 + 0,056 L/ha).	T1E2	Banole +Hipotensor (7,60 + 0,057 L/ha).
T2E1	Banole + Tritón X-45+ Extracto proteico (7,6 + 0,056 + 2 L/ha).	T2E2	Banole +Hipotensor + Ganoderma SC (7,60 + 0,057 + 1,00 L/ha).
T3E1	Banole + Tritón X-45 + Dithane (7,6 +0,056 + 2 L/ha).	T3E2	Banole +Hipotensor + Ganoderma SC (7,60 + 0,057 + 1,50 L/ha).
T4E1	Banole + Tritón X-45 +Extracto proteico +Volley 880L (7,6 + 0,056+ 0,5 +0,7 L/ha).	T4E2	Banole +Hipotensor + Ganoderma SC (7,60 + 0,057 + 2,00 L/ha).

T5E1	Banole +Tritón X-45 + Extracto proteico + Sico 250 EC (7,6+ 0,056 +0,5 +0,4 L/ha).	T5E2	Banole +Hipotensor + Ganoderma en polvo con Malto-dextrosa 50:50 (7,60 + 0,057 + 0,20 L/ha).
T6E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto proteico + Cumora 500 SC (7,6 + 0,056 + 0,5 + 0,3 L/ha).	T6E2	Banole +Hipotensor + Banadak (7,60 + 0,057 + 1,00 L/ha).
T7E1	Banole +Tritón X-45 + Extracto proteico + Volley 88OL (7,6 + 0,056 + 1+0,7 L/ha).	T7E2	Banole +Hipotensor + Serenade (7,60 + 0,057 + 1,00 L/ha).
T8E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto proteico + Sico 250 EC (7,6 + 0,056 + 1 + 0,4 L/ha).	T8E2	Banole +Hipotensor + Timorex Gold (7,60 + 0,057 + 0,80 L/ha).
T9E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto Proteico + Cumora 500 SC (7,6 + 0,056 + 1 + 0,3 L/ha).	T9E2	Banole +Hipotensor + Dithane FMB (7,60 + 0,057 + 3,00 L/ha).
T10E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto proteico + Volley 88OL (7,6 + 0,056 + 1,5 + 0,7 L/ha).	T10E2	Testigo absolute
T11E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto proteico + Sico 250 EC (7,6 + 0,056 + 1,5 + 0,4 L/ha).		
T12E1	Banole + Tritón X-45 + Extracto proteico +Cumora 500 SC (7,6 + 0,056 + 1,5 + 0,3 L/ha).		
T13E1	Banole + Tritón X-45 + Dithane + Volley 88OL (7,6 +0,056+2+0,7 L/ ha).		
T14E1	Banole + Tritón X-45 +Dithane +Sico 250 EC (7,6 + 0,056 + 2 + 0,4 L/ha).		
T15E1	Banole + Tritón X-45 + Dithane + Cumora 500 SC (7,6 + 0,05 + 2 + 0,3 L/ha).		
T16E1	Testigo absoluto.		

5.5.2.4. Pruebas de miscibilidad con diferentes surfactantes, aceites y fungicidas. Para determinar la compatibilidad de dos o más agroinsumos (fungicidas, aceites y/ surfactantes) se realizó análisis de la miscibilidad. En este ensayo, las mezclas de los tratamientos fueron llevadas a cabo en licuadora convencional a 200 rpm. El orden de mezcla para todos los tratamientos fue: 1.

Mezcla de coadyuvantes, 2. Agua (70% del volumen total de la mezcla), 3. Extracto proteico o Dithane y/o 4. Plaguicidas químicos por 1 minuto, en el caso del experimento desarrollado en época de transición sólo se realizó la aplicación del insumo químico o biológico después de agregar coadyuvantes y agua a la mezcla (siguiendo el mismo orden), en cada uno de los pasos se mezcló por un minuto la solución. Los tratamientos se depositaron en recipiente de vidrio tapa rosca de 500 mL y su miscibilidad fue evaluada después de 15, 30 y 60 minutos y/o 24 horas. Criterios como la resistencia, adhesión al vidrio, olor, temperatura y separación reversible fueron empleados para determinar la compatibilidad del insumo agrícola empleado.

5.5.2.5. Determinación de la dosis y concentración a evaluar. La emulsión concentrada de extracto proteico de hongo *Ganoderma lucidum* formulada por la empresa ABS AGROSOLUCIONES S.A.S fue evaluada en ambas épocas climáticas a concentraciones de 0,5; 1; 1,5 y 2 L en 18,92 L (correspondiente al volumen por hectárea, L/Ha) que correspondieron a 264, 528, 793 y 1057 ppm respectivamente. Durante la época de transición se empleó además el extracto en polvo sin formulación a concentración de 2 L/Ha es decir a 10000 ppm. La aplicación de los tratamientos se realizó con bomba de aspersión de CO₂ 40 PSI de boquilla TXVS-2. Todas las plantas fueron asperjadas en todas las hojas.

Para determinar la efectividad de los tratamientos en el control del fitopatógeno, se emplearon como variables de respuestas el porcentaje de severidad, el porcentaje de incidencia y el porcentaje de eficacia, los cuales fueron determinados 5 días después de cada aplicación (proceso de evaluación):

5.5.2.5.1. Porcentaje de severidad. Para determinar la gravedad de la infección o porcentaje de severidad ocasionada por *P. fijiensis* en hoja, a cada planta se le realizó observación del estado de evolución de la enfermedad en cada hoja de acuerdo con la escala de Stover modificada por Gauhl. De este porcentaje de afectación se obtuvo un promedio por día de evaluación. Para el cálculo de la severidad se empleó la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de severidad} = \frac{\left[(R_1 \times \%S_1 + \dots + R_1 \times \%S_6/NT) + \dots + (R_3 \times \%S_1 + \dots + R_3 \times \%S_6/NT) \right]}{NR} \times 100\%$$

Donde

R %S: repetición 1-3, porcentaje de severidad de la planta 1 hasta la planta 6 o 9

NT: número total de plantas evaluadas por repetición.

NR: número de repeticiones (3).

5.5.2.5.2. Porcentaje de incidencia. Hace referencia al número de plantas afectadas con respecto a la población total del lote, la finca o la zona, es decir, cuántas plantas están enfermas en una unidad determinada de área. Para su cálculo, se registró el número de plantas afectadas por el fitopatógeno y se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de incidencia} = \frac{\left[(N_1/N_T) \times 100 + \dots + (N_3/N_T) \times 100 \right]}{NR} \times 100\%$$

Donde:

N: número de plantas afectadas por repetición (1-3).

NT: número total de plantas evaluadas por repetición.

NR: número de repeticiones (3).

5.5.2.5.3. Porcentaje de eficacia. La eficacia de un producto fitosanitario se define según FAO, 2010, como el resultado neto de una ecuación que equilibra los efectos positivos del tratamiento en la realización de la actividad fitosanitaria deseada frente a cualquier efecto negativo sobre el cultivo o el sistema de producción, en este caso, se mide con relación a la disminución del daño generado por la enfermedad de la Sigatoka Negra en hoja. Para su cálculo se empleó la fórmula de Abbot, en la cual se relacionan los datos obtenidos durante la evaluación de la severidad (ICA, 2015):

$$\text{Porcentaje de eficacia} = \frac{Ste - Str}{Ste} \times 100\%$$

Donde:

Ste: porcentaje de severidad del testigo absoluto.

Str: porcentaje de severidad en el tratamiento.

5.5.2.6. Análisis estadístico. Con el fin de controlar la heterogeneidad del terreno, plantas de plátano fueron sembradas en bloque completamente al azar (BCA). Se realizó análisis de varianza ANAVA (nivel de confianza de 95%), se determinó el coeficiente de variación CV y se realizaron pruebas de comparación de medias con DUNCAN. Estos parámetros estadísticos, permitieron establecer si los tratamientos en donde se empleó el extracto proteico presentaron diferencia estadísticamente significativa en relación a los insumos posicionados en el mercado para el control de la Sigatoka negra.

5.5.3. Resultados y discusión

5.5.3.1. Pruebas de miscibilidad con diferentes surfactantes, aceites y fungicidas. Los experimentos demostraron la baja compatibilidad entre extracto proteico a 0,5 y 1 L/ha con el fungicida sistémico Sico 250 EC 250 EC, tratamientos T5E1 y T8E1 respectivamente, en los cuales después de 15 minutos de ser mezclada la muestra se presentaba separación. El plaguicida sistémico Cumora 500 SC, presentó una separación 30 minutos después de realizada la mezcla con 1 L/ha de extracto proteico, T9E1. Para los demás tratamientos realizados en época de alta presión de la enfermedad se presenta una buena miscibilidad. En el segundo ensayo de eficacia realizado en campo, en donde se realizaron mezclas simples, coadyuvantes e insumos agrícolas de control, el extracto proteico formulado y sin formular, presentó en las diferentes dosis evaluadas, una mejor compatibilidad en relación con bioinsumos como Banadak y Serenade en mezcla con los coadyuvantes Banole e Hipotensor. La alta miscibilidad del extracto proteico formulado y en polvo seco sin formular es una propiedad conveniente ya que, a nivel práctico facilitaría la entrada de este bioinsumo al mercado. Además, se espera encontrar mejores resultados de eficacia para aquellos productos que presenten mejor miscibilidad, debido a que las muestras mezcladas con

coadyuvantes pueden ingresar fácilmente al tejido de la hoja plátano por la función de transporte que ejercen estos compuestos.

5.5.3.2. Determinación de la dosis y concentración a evaluar

5.5.3.2.1. Porcentaje de severidad

Tabla 2. Porcentaje de severidad en época de lluvia

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E1	1,667	1,25	2	3,278	5,078	6,878	10,159	13,135
T2E1	1,667	1,25	2	2,593	3,776	4,96	7,778	11,002
T3E1	1,667	1,25	2	2,167	2,591	3,016	5	8,016
T4E1	1,667	1,25	2	2,222	2,421	2,619	3,254	4,921
T5E1	1,667	1,25	2	2,278	2,488	2,698	3,889	6,111
T6E1	1,667	1,25	2	2,167	2,433	2,698	3,571	5,486
T7E1	1,667	1,25	2	2,167	2,413	2,659	3,492	5,377
T8E1	1,667	1,25	2	2,222	2,46	2,698	3,651	5,903
T9E1	1,667	1,25	2	2,222	2,52	2,817	3,571	5,337
T10E1	1,667	1,25	2	2,222	2,46	2,698	3,571	5,823
T11E1	1,667	1,25	2	2,167	2,413	2,659	3,73	5,575
T12E1	1,667	1,25	2	2,222	2,421	2,619	2,857	3,581
T13E1	1,667	1,25	2	2,167	2,452	2,738	3,333	4,99
T14E1	1,667	1,25	2	2,278	2,528	2,778	3,968	6,28
T15E1	1,667	1,25	2	2,222	2,421	2,619	3,095	4,524
T16E1	1,667	2,5	3,3 33	5,574	11,29 9	17,02 4	25,952	33,651

Tabla 3. Porcentaje de severidad en época de transición

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E2	0	0	0,25	1,25	1,264	2,493	2,984	3,615
T2E2	0	0	0,333	1,438	1,702	2,53	2,912	3,13
T3E2	0	0	0,458	1,694	1,425	2,433	2,574	3,336
T4E2	0	0	0,271	1,472	1,522	2,708	2,709	3,606
T5E2	0	0	0,458	1,292	1,472	2,574	2,8	3,469
T6E2	0	0	0,292	1,222	1,438	2,254	2,657	3,125
T7E2	0	0	0,458	1,194	1,286	2,512	2,548	3,259
T8E2	0	0	0,5	1,542	1,639	2,453	2,716	3,476
T9E2	0	0	0,458	1,556	1,383	1,86	2,59	3,449
T10E 2	0	0	1,063	1,785	1,984	2,961	3,593	5,715

En la **tabla 2 y 3**, se relacionan los porcentajes de severidad obtenidos en dos épocas climáticas diferentes. En los resultados se observa que, el tratamiento correspondiente al control absoluto presentó un mayor desarrollo de la enfermedad ocasionada por *P. fijiensis* durante época de lluvia con valores de 33,65%, mientras que, el testigo absoluto de época de transición T10E2 presentó un porcentaje de severidad casi seis veces menor, 5,715%. Lo anterior puede estar relacionado con el hecho de que, el hongo causante de la enfermedad de la Sigatoka negra en Musáceas, se propaga favorablemente bajo condiciones de lluvia y humedad relativa por encima de 80%, logrando un mejor desarrollo en el tejido de la hoja si esta estructura presenta agua en su superficie, sumado a esto la subregión del Urabá Antioqueño cuenta con la temperatura propicia para la propagación de la enfermedad, de 20 a 35°C (Aguirre et al., 2012) (Benavides, 2019). Al realizar el análisis de las variables ambientales se observa que en época de lluvia la temperatura promedio durante las mediciones en campo fue de 23,5°C y la humedad relativa de 92%, similar a la presentada en época de transición de 26°C y 92%, por lo que la presencia de agua en hoja parece ser un factor importante para el desarrollo de los estadios de la enfermedad al igual que los altos niveles de precipitaciones presentados.

De igual forma, se encontró que los tratamientos en los que se emplean mezclas con dos coadyuvantes ejercen un efecto limitante en el desarrollo del fitopatógeno, llegando a disminuir hasta un 20% la severidad en relación con el testigo absoluto en época de lluvia (T1E1 comparado

con T16E1) y un 2% en época de transición (T1E2 frente a T10E2). La evaluación de esta variable demostró que los coadyuvantes ejercen una mayor influencia sobre el desarrollo de la enfermedad en hoja o desarrollo de los estadios evolutivos que los fungicidas protectantes, sistémicos y/o la mezcla entre estos (**Tabla 2 y 3**). Este resultado pudo estar relacionado, con el hecho de que el coadyuvante Banole empleado en ambas épocas de evaluación genera un efecto fungistático demostrado, retardando su desarrollo y evitando la proliferación y diseminación de propágulos a través de la plantación (TOTAL, 2020).

En términos generales, el extracto proteico presenta valor de severidad similares a los tratamientos en los que se incorpora Dithane. Además, se observó que este no presenta incompatibilidad con los coadyuvantes o plaguicidas sistémicos usados en mezcla (no causa efectos secundarios en hoja) y que el insumo desarrollado presenta un efecto similar sobre del desarrollo del hongo causante de la Sigatoka negra con relación a los fungicidas biológicos evaluados (**Tabla 2 y 3**).

Al determinar la concentración adecuada de extracto proteico, encontramos que los valores de severidad más reducidos en promedio se obtuvieron con una concentración de 1,5 L/Ha, es decir a una concentración de 793 ppm en época de alta presión, mientras que los tratamientos con Ganoderma en época de transición presentan una diferencia menor al 1% en relación a su severidad.

5.5.3.2.2. Porcentaje de incidencia

Tabla 4. Porcentaje de incidencia en época de lluvia.

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E1	33,3	25	40	43,333	48,254	53,175	57,143	61,31
T2E1	33,3	25	40	44,444	49,206	53,968	57,143	60,714
T3E1	33,3	25	40	43,333	47,857	52,381	57,143	61,905
T4E1	33,3	25	40	44,444	48,413	52,381	57,143	61,905
T5E1	33,3	25	40	45,556	48,968	52,381	57,143	62,5
T6E1	33,3	25	40	43,333	48,651	53,968	57,143	61,905
T7E1	33,3	25	40	43,333	48,254	53,175	57,143	59,524
T8E1	33,3	25	40	44,444	49,206	53,968	57,143	60,119
T9E1	33,3	25	40	44,444	49,603	54,762	57,143	60,714
T10E1	33,3	25	40	44,444	49,206	53,968	57,143	61,905

T11E1	33,3	25	40	43,333	48,254	53,175	57,143	60,119
T12E1	33,3	25	40	44,444	48,413	52,381	57,143	58,929
T13E1	33,3	25	40	43,333	49,048	54,762	57,143	58,333
T14E1	33,3	25	40	45,556	49,762	53,968	57,143	60,119
T15E1	33,3	25	40	44,444	48,413	52,381	57,143	57,143
T16E1	33,3	50	60	62,963	66,402	69,841	71,429	71,429

Tabla 5. porcentaje de incidencia en época de transición

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E2	0	0	5	25	25,278	49,851	58,631	63,171
T2E2	0	0	6,667	28,75	34,048	50,595	55,225	56,481
T3E2	0	0	9,167	33,889	28,492	48,661	50,446	59,12
T4E2	0	0	5,417	29,444	30,437	54,167	54,183	63,056
T5E2	0	0	9,167	25,833	29,444	51,488	54,812	62,755
T6E2	0	0	5,833	24,444	28,77	45,089	53,142	57,87
T7E2	0	0	9,167	23,889	24,325	49,322	50,959	60,42
T8E2	0	0	10	30,833	32,778	49,058	53,274	61,435
T9E2	0	0	9,167	31,111	27,659	37,202	50,761	58,148
T10E2	0	0	21,25	35,694	38,294	50,248	57,755	65,04

Al relacionar la incidencia del fitopatógeno en época de alta presión con la presentada en época de transición, podemos observar que, el testigo absoluto presentó mayor número de plantas afectadas con el fitopatógeno en relación con los tratamientos que recibieron aplicación de algún insumo agrícola 71,43% T16E1 y 65% T10E2. De esta forma se corrobora que, factores abióticos como la temperatura, humedad y presencia de rocío en hojas, permiten condiciones adecuadas para la proliferación y entrada del hongo al interior de la estructura de la hoja. Para los demás tratamientos, sin importar el tipo de mezcla o tipo de insumo de control empleado, la incidencia estuvo en un rango de 56 – 62% en ambas épocas.

5.5.3.2.2. Porcentaje de eficiencia

Tabla 6. Porcentaje de eficacia en época de lluvia

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E1	0	50	40	41,196	55,057	59,596	60,856	60,967
T2E1	0	50	40	53,488	66,577	70,862	70,031	67,305
T3E1	0	50	40	61,13	77,066	82,284	80,734	76,179
T4E1	0	50	40	60,133	78,576	84,615	87,462	85,377
T5E1	0	50	40	59,136	77,979	84,149	85,015	81,84
T6E1	0	50	40	61,13	78,471	84,149	86,239	83,697
T7E1	0	50	40	61,13	78,647	84,382	86,544	84,021
T8E1	0	50	40	60,133	78,225	84,149	85,933	82,459
T9E1	0	50	40	60,133	77,698	83,45	86,239	84,139
T10E1	0	50	40	60,133	78,225	84,149	86,239	82,695
T11E1	0	50	40	61,13	78,647	84,382	85,627	83,432
T12E1	0	50	40	60,133	78,576	84,615	88,991	89,357
T13E1	0	50	40	61,13	78,295	83,916	87,156	85,171
T14E1	0	50	40	59,136	77,628	83,683	84,709	81,338
T15E1	0	50	40	60,133	78,576	84,615	88,073	86,557

Tabla 7. Porcentaje de eficacia en época de transición

TTO	Días de Evaluación							
	1	5	10	15	20	25	30	35
T1E2	0	0	76,471	29,961	36,3	15,829	16,95	36,745
T2E2	0	0	68,627	19,455	14,2	14,573	18,954	45,232
T3E2	0	0	56,863	5,058	28,2	17,839	28,361	41,627
T4E2	0	0	74,51	17,51	23,3	8,543	24,603	36,903

T5E2	0	0	56,863	27,626	25,8	13,065	22,071	39,3
T6E2	0	0	72,549	31,518	27,5	23,869	26,051	45,319
T7E2	0	0	56,863	33,074	35,2	15,159	29,084	42,975
T8E2	0	0	52,941	13,619	17,4	17,169	24,409	39,178
T9E2	0	0	56,863	12,84	30,3	37,186	27,915	39,65

Para determinar la eficacia del insumo a base de extracto proteico formulado por la empresa ABS AGROSOLUCIONES S.A.S diferentes dosis de este fueron asperjadas sobre plantas de 1- 1,5 m de altura. La estimación de la eficacia se realizó comparando cada uno de los tratamientos con el testigo absoluto para la época, de esta forma, se verificó la influencia que tuvieron los insumos agrícolas sobre el desarrollo de la enfermedad en el tejido de la hoja. Es así como, los tratamientos empleados para el control de Sigatoka negra en hoja presentaron una reducción en el desarrollo de la enfermedad con relación al testigo absoluto (control negativo), generándose una eficacia escasa o media en época de transición con porcentajes entre 36 y 45% en la evaluación final. Por otro lado, en época de lluvia donde fueron empleadas mezclas de diferentes plaguicidas, como es usual en los programas de fumigación a nivel de cultivos comerciales, demostraron tener una eficacia por encima de un 60%, es decir, una eficacia alta o muy alta (**tabla 6 y 7**). Al momento de evaluar los tratamientos se pudo evidenciar que no hubo una diferencia estadística entre ellos en las dos épocas del año evaluadas, de esta forma con el extracto de Ganoderma se obtuvo un nivel de eficacia similar al de los productos ya posicionados en el mercado.

Tabla 8. Comparación de medias de los valores de severidad obtenidos en época de alta presión.

Días de evaluación	1		5		10		15		20		25		30		35	
	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	DUNCAN
T1E1	0	SD	0	SD	0	SD	3,28	B	5,08	B	6,88	B	10,16	C	13,13	D
T2E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,59	A	3,78	A B	4,96	A B	7,78	B C	11	C D
T3E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,17	A	2,59	A	3,02	A	5	A B	8,02	B C
T4E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,42	A	2,62	A	3,25	A	4,92	A B
T5E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,28	A	2,49	A	2,7	A	3,89	A	6,11	A B
T6E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,17	A	2,43	A	2,7	A	3,57	A	5,49	A B
T7E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,17	A	2,41	A	2,66	A	3,49	A	5,38	A B
T8E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,46	A	2,7	A	3,65	A	5,9	A B
T9E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,52	A	2,82	A	3,57	A	5,34	A B
T10E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,46	A	2,7	A	3,57	A	5,82	A B
T11E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,17	A	2,41	A	2,66	A	3,73	A	5,58	A B
T12E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,42	A	2,62	A	2,86	A	3,58	A
T13E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,48	A	2,74	A	3,1	A	4,43	A B
T14E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,28	A	2,53	A	2,78	A	3,97	A	6,28	A B

T15E1	0	SD	0	SD	0	SD	2,22	A	2,42	A	2,62	A	3,1	A	4,52	A B	
T16E1	0	SD	0	SD	0	SD	5,57	C	11,3	C	17,02	C	25,95	D	33,65	E	
R cuadrado	SD		1		1		0,76		0,84		0,86		0,88		0,9		
																CV	35,38

EV corresponde a las evaluaciones, D corresponde al análisis estadístico de comparación de medias usando DUNCAN y CV: coeficiente de variación.

Tabla 9. Comparación de medias de los resultados de severidad obtenidos en época de transición (invierno – verano)

Días de evaluación	1		5		10		15		20		25		30		35		
	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	EV	D	
T1E2	0	SD	0	SD	0,25	A	1,25	A	1,26	A	2,49	C B	2,98	B	3,61	A	
T2E2	0	SD	0	SD	0,33	A	1,44	A B	1,7	D C	2,53	C B	2,91	A B	3,13	A	
T3E2	0	SD	0	SD	0,46	A B	1,69	B	1,42	A B C	2,43	C B	2,57	A	3,34	A	
T4E2	0	SD	0	SD	0,27	A	1,47	A B	1,52	A B C	2,71	C B	2,71	A B	3,61	A	
T5E2	0	SD	0	SD	0,46	A B	1,29	A	1,47	A B C	2,57	C B	2,8	A B	3,47	A	
T6E2	0	SD	0	SD	0,29	A	1,22	A	1,44	A B C	2,25	A B	2,66	A B	3,13	A	
T7E2	0	SD	0	SD	0,46	A B	1,19	A	1,29	A B	2,51	C B	2,55	A	3,26	A	
T8E2	0	SD	0	SD	0,5	A B	1,54	A B	1,64	B C	2,45	C B	2,72	A B	3,48	A	
T9E2	0	SD	0	SD	0,46	A B	1,56	A B	1,38	A B C	1,86	A	2,59	A	3,45	A	
T10E2	0	SD	0	SD	1,06	B	1,78	B	1,98	D	2,96	C	3,59	C	5,72	B	
R cuadrado	SD		SD		0,41		0,58		0,64		0,59		0,76		0,673		
																CV	14,84

EV corresponde a las evaluaciones, D corresponde al análisis estadístico de comparación de medias usando DUNCAN y CV: coeficiente de variación.

Para época de lluvia y transición, no se presentó una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos en mezcla con fungicidas (**tablas 8 y 9**), de esta forma el Dithane, producto a base de Mancozeb, al mezclarse con fungicidas sistémicos durante época de alta presión de la enfermedad, se comportó igual al extracto proteico. Sumado a esto, como muestra la comparación de medias, empleando análisis de DUNCAN, en el tratamiento 12 (T12E1) en el cual se mezcla Banole, Triton, con extracto proteico a 1,5 L/Ha y Cumora 500 SC 500 SC tuvo una mayor eficacia durante el último día de evaluación. En época de transición, a pesar de no emplearse una mezcla tan compleja en los tratamientos, se observó que el extracto proteico se comportó igual que los demás insumos empleados, no importando que estos fueran de carácter biológico (Serenade, Banadak y Timorex gold) o químico (Dithane), lo cual sugiere que el extracto proteico puede ser empleado como reemplazo del Dithane con el fin de reducir la carga de químico fumigados durante el

control de la enfermedad de la Sigatoka negra y que este insumo, podría llevar a cabo funciones similares a los bioinsumos de control evaluados.

Durante época de transición (**tabla 9**), con el fin de observar el efecto residual que tenían los tratamientos, se realizaron aplicaciones de estos hasta 21 días después de iniciado el experimento. El efecto residual se logra apreciar al examinar los datos obtenidos después de la última aplicación, en este sentido, el efecto fungistático de la mezcla del aceite Banole e Hipotensor se mantiene hasta el día 25. Una vez terminada la aplicación de los tratamientos en campo se observó como el tratamiento 1 (T1E2) de mezcla de coadyuvantes pierde su efecto residual, pasando de ser unos de los tratamientos con menor severidad a comportarse igual que los demás tratamientos con bioinsumos. Los tratamientos con efectos residuales más prolongados fueron aquellos que contenían Dithane, Ganoderma formulado a concentración de 1,5 L/Ha y Serenade (T3E2 y T7E2). Con relación a los valores p , se corrobora lo observado en el análisis de medias, que los tratamientos no tienen una diferencia significativa entre ellos al presentar un valor $p < 0$.

Finalmente se determinó un mayor coeficiente de variación para época de invierno con valores de 35%, a pesar de la alta variabilidad en los resultados, al tratarse de ensayos realizados en campo, donde el microambiente del suelo puede afectar el desarrollo de la planta, la localización de la planta en la parcela va a hacer más vulnerable o no al fitopatógeno, así como fenómenos de lluvia, estos valores son aceptables.

5.5.3.3. Desarrollo de la enfermedad en hoja. Durante los experimentos se evaluó la hoja número 1, está es la hoja que tiene un mayor tiempo de exposición a la enfermedad de la Sigatoka y en la que se presenta un estadio evolutivo más avanzado en consideración a las demás hojas de la planta.



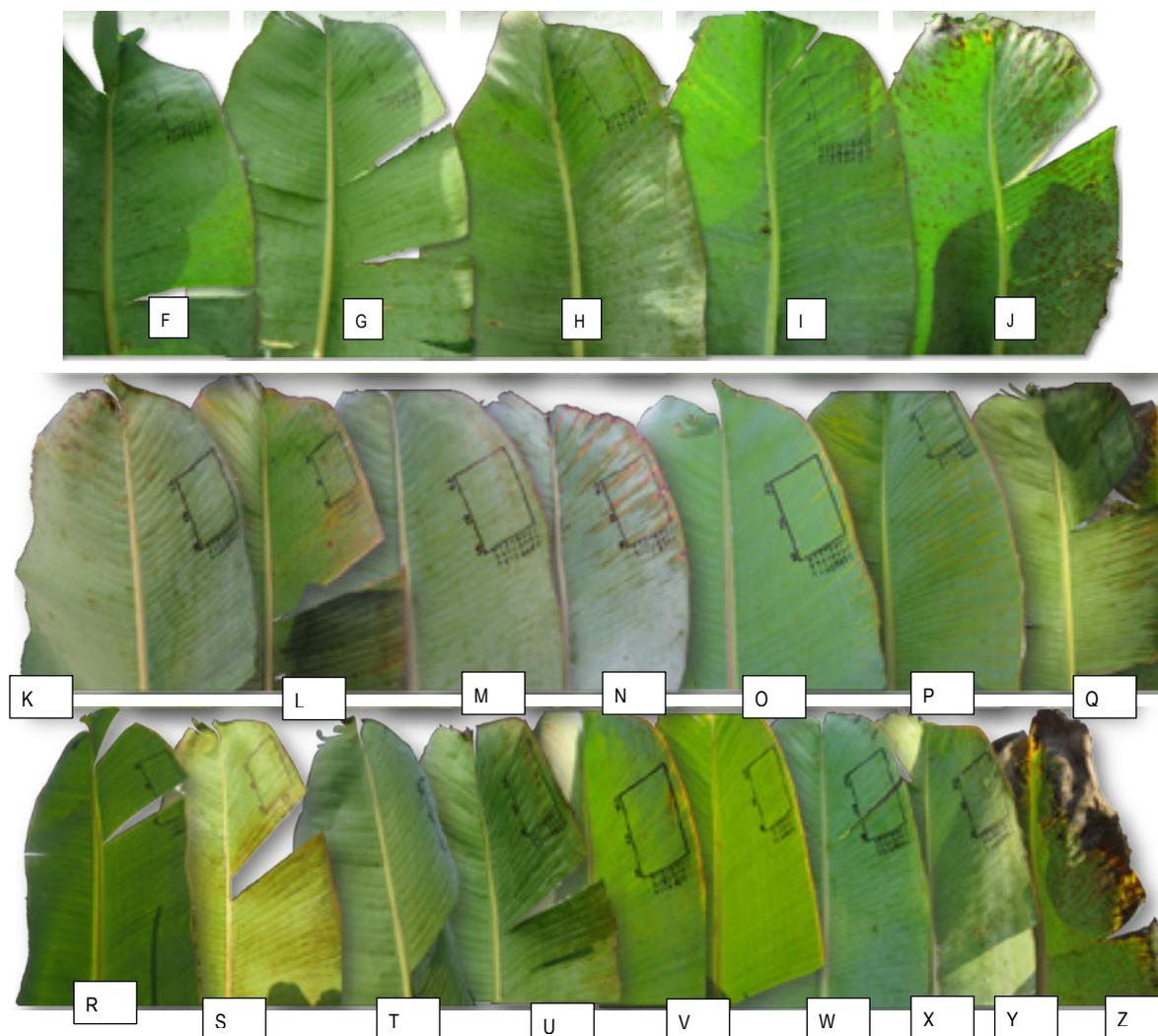


Figura 1. Estado de la enfermedad de la sigatoka negra en hoja 1 ambas épocas (lluvia y transición), de la A a la J, los tratamientos corresponden a época de transición y de la K a la Z corresponden a tratamientos en época de lluvia: **A.** Tratamiento Banole e Hipotensor en hoja 1. **B.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Ganoderma SC (1,0 L/ha). **C.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Ganoderma SC (1,5 L/ha). **D.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Ganoderma SC (2,0 L/ha). **E.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Ganoderma en polvo con Malt-dext 50:50 (0,2 L/ha). **F.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Banadak. **G.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Serenade. **H.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Timorex Gold. **I.** Tratamiento Banole, Hipotensor y Dithane FMB. **J.** Testigo absoluto en época de alta presión. **K.** Banole y Tritón X-45. **L.** Banole, Tritón X-45 y Extracto proteico (2 L/ha). **M.** Banole, Tritón X-45 y Dithane. **N.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (0,5 L/ha) y Volley 880L. **O.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (0,5 L/ha) y Sico 250 EC. **P.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (0,5 L/ha) y Cumora 500 SC. **Q.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (1 L/ha) y Volley 880L. **R.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (1 L/ha) y Sico 250 EC. **S.** Banole, Tritón X-45,

Extracto Proteico (1 L/ha) y Cumora 500 SC. **T.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (1,5 L/ha) y Volley 880L. **U.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico y Sico 250 EC (1,5 L/ha). **V.** Banole, Tritón X-45, Extracto proteico (1,5 L/ha) y Cumora 500 SC. **W.** Banole, Tritón X-45, Dithane y Volley 880L. **X.** Banole, Tritón X-45, Dithane y Sico 250 EC. **Y.** Banole, Tritón X-45, Dithane y Cumora 500 SC. **Z.** Testigo absoluto en época de lluvia.

La **figura 1**, muestra la evolución de la enfermedad causada por el hongo *P. fijiensis* sobre las hojas de plátano tratadas con los diferentes insumos agrícolas después de 35 días de evaluación (Ver anexo 5 para estado inicial de las plantas y su evolución 20 días después). La imagen corresponde a la primera hoja de la planta, es decir, aquellas de mayor edad y por tanto, con más tiempo de exposición a la infección. En esta imagen se observa como el testigo absoluto en época de lluvia (**Figura 1.Z**) presenta un mayor desarrollo de la enfermedad al ser la única en alcanzar el estadio 6 de dicha enfermedad, en relación con los demás tratamientos. Por otra parte, el testigo absoluto en época de transición presenta un estadio 3 (**Figura 1.J**). También se observa un mayor control de la enfermedad en época de lluvia. De esta forma, se corrobora de forma visual lo demostrado en las tablas 1 y 2, que el parámetro de severidad tuvo un comportamiento similar entre los tratamientos no importando si se empleó mezcla de coadyuvantes (tratamiento 1) o coadyuvantes con plaguicida biológico o químico y el bajo desarrollo de la enfermedad en época de lluvia debido a el uso de mezcla de plaguicidas.

5.6.4. Conclusiones

- El control de la Sigatoka negra en plátano involucra el uso de una gran cantidad de plaguicidas de naturaleza química, por lo anterior, se hace necesaria la búsqueda de estrategias que disminuyan la aplicación de este tipo de compuestos que puedan afectar el ecosistema en donde son aplicados y tener incidencia tanto en la salud de las comunidades dedicadas al cultivo de este fruto y a sus consumidores. Este estudio se presentan los resultados de la efectividad del extracto proteico de Ganoderma, este producto al ser comparado con fungicidas de naturaleza química y biológica constituye una alternativa que de ser escalable permitiría el reemplazo de productos como el Dithane que está saliendo del mercado, y de esta forma ayudaría a disminuir la carga de químicos peligrosos en los programas de control de la Sigatoka negra. Además, al presentar una efectividad similar a otros productos de naturaleza biológica usados para el control de la enfermedad permitiría llevar a cabo la rotación de productos de control y limitar aún más desarrollo de resistencia por parte de hongo hacia productos usados en el control.
- En la actualidad en Colombia se emplean principalmente bioinsumos microbianos a base de su biomasa, el uso de organismos vivos directamente en las plantaciones está supeditado a su adaptación a las condiciones ambientales impredecibles alrededor de la planta y del patógeno. El empleo de biomoléculas obtenidos a partir un hongo medicinal puede resultar más segura desde el punto

de vista ecosistémico, pues no requiere de la inserción de nuevas especies que generen cambio en el ambiente ecosistémico del cultivo.

5. Referencias bibliográficas

- Aguirre, S., Piraneque, N., & Menjivar, J. (2012). Relación entre las propiedades edafoclimáticas y la incidencia de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en la zona bananera del Magdalena - Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2).
- Alcaldía de Carepa (Antioquia). (n.d.). *Información geográfica del Municipio de Carepa Antioquia*. Retrieved October 19, 2020, from <http://www.carepa-antioquia.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>
- Alcaldía de Chigorodó. (n.d.). *Generalidades - Municipio de Chigorodó - Antioquia*. Retrieved October 19, 2020, from <http://www.chigorodo-antioquia.gov.co/municipio/generalidades-714792>
- Alvindia, D. G. (2012). Inhibitory influence of biocontrol agents, plant oils and an inorganic salt on *Mycosphaerella fijiensis* and *Cordana musae*, the causal pathogen of black sigatoka and leaf spot of banana. *African Journal of Microbiology Research*, 6(19), 4179–4184. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.175>
- Becker, P., Esker, P., & Umaña, G. (2021). Incorporation of microorganisms to reduce chemical fungicide usage in black sigatoka control programs in Costa Rica by use of biological fungicides. *Crop Protection*, 146, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105657>
- Benavides, L. (2019). *Cuantificación Temprana de Pseudocercospora fijiensis por Medio de qPCR en Modelos Predictivos de Sigatoka Negra en plantas de Banano (Musa AAA)*.
- Castro, M. G. (2012). Cadena Productiva del Plátano. Diagnostico de Libre Competencia. *Superintendencia de Industria y Comercio*, 1, 7.
- Churchill, A. C. L. (2011). *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: Progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*, 12(4), 307–328. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00672.x>
- EPPO. (2012). Principles of efficacy evaluation for microbial plant protection products. *EPPO Bulletin*, 42(3), 348–352. <https://doi.org/10.1111/epp.2607>
- Escudero, C. A., Calvo, A. F., Martínez, A. B., López, A. M., & Molina, A. (2020). Development of a digital image classification system to support technical assistance for black sigatoka detection. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 43(2), 1–11. <https://doi.org/10.1590/0100-29452020681>

- FAO, F. and A. O. of the U. N. (2019a). *FAOSTAT Producción Mundial de Plátano*.
- FAO, F. and A. O. of the U. N. (2019b). *FAOSTAT Producción Plátano*.
- Food and Agriculture Organization FAO. (2010). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines for the Registration of Pesticides. *Assessment, April*, 42pp. http://www.who.int/whopes/resources/resources_2010/en/
- Gutierrez-monsalve, J. A., Mosquera, S., González-jaramillo, L. M., Mira, J. J., & Villegas-escobar, V. (2015). Effective control of black Sigatoka disease using a microbial fungicide based on *Bacillus subtilis* EA-CB0015 culture. *BIOLOGICAL CONTROL*, 87, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.012>
- ICA. (2015). *Manual para Elaboración de Protocolos para Ensayos de Eficacia con PQUA*.
- Javier, F., & Galeano, C. (2011). Caracterización física del fruto en variedades de plátano cultivadas en la zona cafetera de Colombia. *Acta Agronómica*, 60(2), 176–182.
- Mandal, A., Sarkar, B., Mandal, S., Vithanage, M., Patra, A. K., & Manna, M. C. (2020). Impact of agrochemicals on soil health. In *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation* (pp. 161–187). LTD. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-103017-2.00007-6>
- Marín, D. H., Romero, R. A., Guzmán, M., & Sutton, T. B. (2003). Black Sigatoka: An Increasing Threat to Banana Cultivation. *Plant Disease*, 87(3), 208–222.
- Minagricultura, M. de A. y D. rural. (2018). Indicadores e instrumentos cadena Plátano. In *Lecturas de Economía*.
- Minagricultura, M. de A. y D. rural. (2021). *Cadena de plátano*.
- Mosquera, O. M., Echeverry, L. M., & Niño Osorio, J. (2009). Evaluation of the antifungic activity of plant extracts on the fungus *Mycosphaerella fijiensis* MORELET. *Scientia et Technica*, 15(41), 232–236.
- Nascimento, S., Sousa, Y. M., & Rocha, A. D. J. (2020). Sources of black Sigatoka resistance in wild banana diploids. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 0–3.
- Orozco-Santos, M., Orozco-Romero, J., Pérez-Zamora, O., Manzo-Sánchez, G., Farías-Larios, J., & da Silva-Moraes, W. (2008). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology*, 33(3), 189–196.
- Patiño, L., Bustamante, E., & Salazar, M. (2007). *EFFECTO DE SUSTRATOS FOLIARES SOBRE LA SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis Morelet) EN BANANO (Musa × paradisiaca L .) Y PLÁTANO (Musa acuminata Colla)* Effect of foliar

substrates on Black Sigatoka (Mycosphaerella fijiensis Morelet) in banana (. 67(4), 437-445.

- Piedrahíta, J. (2011, October 10). *Colombia es el segundo importador de plátano del mundo | Empresas | Negocios | Portafolio*. Portafolio. <https://www.portafolio.co/negocios/empresas/colombia-segundo-importador-platano-mundo-150300>
- Restrepo, W., & Martínez, J. (2021). *Evaluación del efecto antifúngico del extracto de moringa (Moringa Oleifera Lam.) para el control de la sigatoka negra (Mycosphaerella Finjiensis Morelet) en el cultivo de plátano, municipio de Turbo - Antioquia*. 4(1), 6.
- Reuveni, M. (2021). Replacing Mancozeb with Tea Tree Oil-Based Timorex Gold for the Successful Control of Black Sigatoka and the Reduction of Chemical Load in Banana Plantations. *Industrial Biotechnology*, 17(5), 239-241. <https://doi.org/https://doi.org/10.1089/ind.2021.29262.rme>
- Reuveni, M., Barbier, M., & Viti, A. J. (2020). Essential tea tree oil as a tool to combat black sigatoka in banana. *Outlooks on Pest Management*, 31(4), 180-186. https://doi.org/10.1564/v31_aug_08
- Shoda, M. (2000). Bacterial control of plant diseases. In *Journal of Bioscience and Bioengineering* (Vol. 89, Issue 6, pp. 515-521). Society of Fermentation and Bioengineering. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)80049-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)80049-3)
- SIPSA. (2014). El cultivo del plátano (Musa paradisiaca), un importante alimento para el mundo. *Boletín Mensual Insumos Y Factores Asociados a La Producción Agropecuaria*, 22, 52. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_abr_2014.pdf
- TOTAL. (2020). *Banole | Total República Dominicana*. <https://www.total.com.do/lubricantes-y-fluidos-especiales/nuestros-productos/coadyuvante-agricola>
- Ugarte Fajardo, J., Bayona Andrade, O., Criollo Bonilla, R., Cevallos-Cevallos, J., Mariduená-Zavala, M., Ochoa Donoso, D., & Vicente Villardón, J. L. (2020). Early detection of black Sigatoka in banana leaves using hyperspectral images. *Applications in Plant Sciences*, 8(8), 1-11. <https://doi.org/10.1002/aps3.11383>

7. DESCRIPCIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DEL MICROBIOMA DEL PLÁTANO Y EXPLORACIÓN DE ANTAGONISTAS PARA EL MANEJO DE LA ENFERMEDAD DEL MOKO

Autores: Harold Alexander Vargas Hoyos, Cristhian David Grisales, María Alejandra Villamizar Monsalve, Luz Edith Argel-Roldán, Juan Esteban Pérez Jaramillo.

Resumen

La utilización de herramientas alternativas para el control biológico *Ralstonia solanacearum* causante de la enfermedad del Moko, como son el estudio de comunidades microbianas presentes en los suelos que son afectados por esta bacteria, la prospección, validación y caracterización de bacteriófagos líticos para su control, así como la utilización de técnicas como el secuenciamiento genómico (NGS, en inglés) y la exploración de la biodiversidad de dichos micro hábitats, como fuente de potenciales antagonistas, particularmente del filo Actinobacteria contra dicha enfermedad, es sin duda una estrategia novedosa y que tiene el potencial de impactar directamente la cadena productiva de los cultivos de banano y plátano. Es por ello que en esta investigación se evaluó el efecto de los bacteriófagos líticos en las comunidades microbianas de la rizosfera de plantas de plátano, encontrando que éstos no afectaban la estructura de dichas comunidades. De igual forma se realizó el aislamiento, purificación y evaluación de actinobacterias que tuvo como resultado la conformación de una colección de dichos microorganismos; a partir de los cuales se pudo identificar y seleccionar algunos aislamientos con capacidad antagónica contra *Ralstonia solanacearum* y se exploró el potencial metabólico que conllevó a la selección de los aislamientos con actividad destacada. Al mismo tiempo, dichos aislamientos seleccionados fueron caracterizados genéticamente con el fin de conocer su estado filogenético, lo que conllevó a encontrar un aislamiento candidato a especie nueva del género *Streptomyces* y a obtener resultados inéditos de alta relevancia para este sector agrícola del país. Estos resultados podrán ser utilizadas en campo como parte de los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades, sostenible ambientalmente y costo-efectiva.

Palabras clave: Control biológico, Actinobacterias, Bioprospección, Ecología Microbiana, Rizosfera.

5.7.1. Introducción

El moko ocasionado por *Ralstonia solanacearum*, es una enfermedad que limita enormemente la capacidad de producción de los predios con focos de la enfermedad, impactando la productividad en las zonas donde se cultiva banano y plátano. (Álvarez et al., 2013; Belalcazar et al., 2004). Dentro de los patógenos bacterianos es

considerado el segundo de mayor impacto económico a nivel mundial, así como el patógeno más agresivo de las musáceas en regiones tropicales y subtropicales, debido a su letalidad, amplia distribución geográfica y a su amplia variedad de hospederos, que incluyen; tomate, papa, tabaco, pimenta, banano y plátano (Blomme et al., 2017; Ombiro et al., 2018)

El control de la enfermedad que normalmente se emplea en la región de Urabá requiere la eliminación de plantas sanas alrededor del foco de infección, así como de prolongados periodos de cuarentena de la zona afectada. La principal razón para que esta sea la alternativa de manejo más comúnmente utilizada es la ausencia de productos de origen químico o biológico, que muestren una eficacia sostenible en el tiempo controlando la enfermedad.

Dentro de las alternativas de control sostenibles y costo-efectivas, los bacteriófagos han sido propuestos como una herramienta con gran potencial para el control de *R. solanacearum* por su alta especificidad de hospedero y compatibilidad con otros métodos de control (Yamada, 2012). Los bacteriófagos, o fagos, son virus que parasitan bacterias y arqueas con una alta especificidad y que dependen de los mecanismos de la célula huésped para su multiplicación. Los bacteriófagos líticos pueden ser pues también una excelente alternativa de biocontrol para *R. solanacearum* (Svircev A, Roach D & Castle A., 2018).

En Colombia, no existen estudios que describan la composición y funcionalidad de la comunidad microbiana asociada a las plantas de plátano y banano. De igual forma se desconoce el efecto en dichas comunidades con la utilización de algunos de los productos biológicos que han sido evaluados para las enfermedades presentes en estos cultivos y dada la creciente demanda de tecnologías alternativas con relevante costo/beneficio como el uso del control biológico, el cual posee una gran potencial de innovación por cuenta que permite explorar herramientas alternativas para confrontar la enfermedad y complementar las estrategias de manejo de los cultivos. Con la implementación de este tipo de tecnologías, se podría disminuir el uso de enormes cantidades de agroquímicos actualmente empleados y sus efectos adversos a nivel económico, ambiental y de bioseguridad. La exploración periódica de comunidades microbianas en los suelos empleados para el cultivo de plátano, permitirá acceder a posibles antagonistas con efectos destacados contra la enfermedad del Moko. La integración de técnicas de microbiología clásica, (meta)- genómica y transcriptómica, permitirá entender la estructura microbiológica, así como, la función de sus miembros y de esta manera incorporar soluciones que favorezcan la interacción microbioma, planta y ambiente.

5.7.2. Materiales y métodos

5.7.2.1. Análisis de la funcionalidad de comunidades microbianas presentes en la rizosfera de plantas de plátano tratadas con bacteriófagos líticos. A modo ilustrativo se esquematiza la distribución de los tratamientos, para esto, se sembraron 288 plantas de plátano de la variedad Dominico Hartón en un esquema de alta densidad en una parcela experimental de 1000 m² ubicada en Carepa, Antioquia. Para el diseño experimental (Actividad 1.1) se tuvo en cuenta las características de la parcela experimental y se establecieron los siguientes tratamientos: Tratamiento 1: Control negativo, consistente en aplicación de agua; Tratamiento 2: Control con la bacteria, consistente en la aplicación de una solución con concentración conocida de *Ralstonia solanacearum*; Tratamiento 3: Tratamiento preventivo con los fagos, consistente en aplicaciones previas de fagos 96h, 72h, 48h y 24h antes de la aplicación de la bacteria; y finalmente el Tratamiento 4: Tratamiento curativo con los fagos, consistente en aplicaciones de fagos después de la aplicación de la bacteria a las 24h, 48h, 72h y 96h (**Figura 1**).

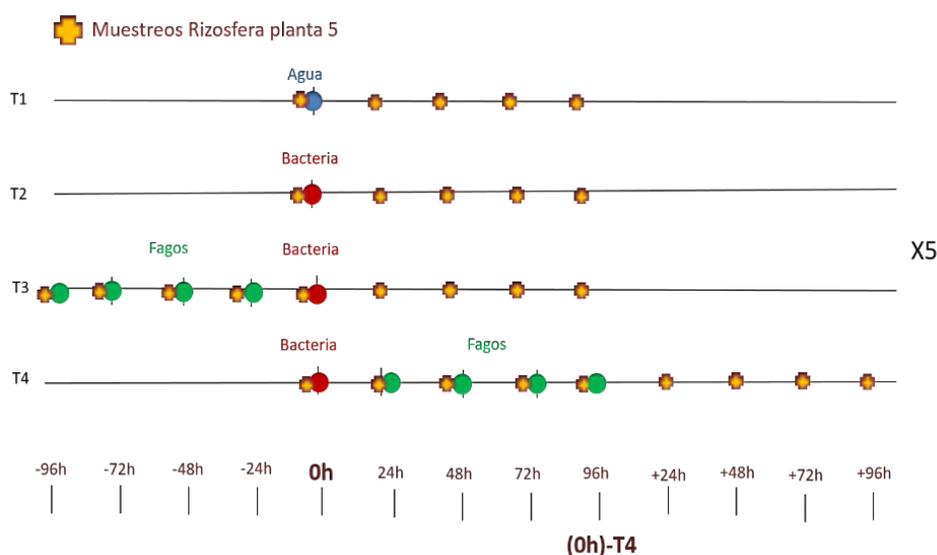


Figura 1. Esquema para la inoculación de la bacteria y los fagos en parcela experimental.

Posteriormente, 80 muestras de suelo obtenidas fueron procesadas en el laboratorio de Cenibanano, usando el kit de extracción DNeasy® Power soil, a fin de obtener el material genético representativo de las comunidades microbianas allí presentes.

Para el análisis de los datos obtenidos del secuenciamiento, se realizó una nomenclatura que permitiera identificar y analizar las diferentes condiciones (tratamientos) descritos anteriormente, así como, relacionarlos a los diferentes tiempos de muestreo.

5.7.2.2. Extracción y secuenciación shotgun del ADN genómico del suelo de la rizósfera del plátano. Se extrajo el ADN de las 80 muestras seleccionadas de suelo de la rizósfera del plátano, con el kit de extracción DNeasy Powersoil Pro Kit (QIAGEN, Germany), siguiendo las instrucciones del fabricante con una modificación. Previo a cada extracción, se sometió cada muestra (0.250 g suelo rizósfera) a un baño seco en un termobloque (Termofisher, Germany), por 10 minutos en la solución CD1, para luego continuar el protocolo de extracción. Posteriormente, se evaluó la integridad, calidad y concentración del ADN extraído por medio de electroforesis en gel de agarosa y espectrofotómetro nanodrop (ThermoScientific, Waltham, MA) y fluorímetro Qubit (Life Technologies Corporation) respectivamente. La preparación de la librería y la secuenciación shotgun del ADN extraído se realizó en las instalaciones de la corporación BGI (Shenzhen, China), por medio de la plataforma DNB-Seq (2x150pb).

5.7.2.3. Pre-procesamiento de las secuencias del metagenoma. La mayoría de los análisis se hizo a través del pipeline bioinformático Metabiome (<https://github.com/Nesper94/Metabiome>) desarrollado por integrantes de la línea de investigación en microbiomas, liderado por el Prof. Juan Esteban Pérez, pertenecientes al grupo PECET. Este pipeline consiste en varios softwares “bioinformáticos” para el análisis de datos metagenómicos. Asimismo, se realizaron la mayoría de los análisis en el cluster de computación científica APOLO de la Universidad EAFIT, gracias al Prof. Javier Correa. Inicialmente, se analizó la calidad de las secuencias con el software FastQC (Andrews 2010) y MultiQC (Ewels et al. 2016). Luego, se eliminaron las secuencias de baja calidad (valor Phred <25) y las secuencias de los adaptadores con Trimmomatic (Bolger et al. 2014). Adicionalmente, se eliminaron secuencias de baja complejidad (entropy <0.3) por medio de BBDuk en el software BMap (Bushnell 2014). Por último, fueron eliminadas las contaminaciones de posibles hospedadores en las secuencias de alta calidad, por medio de alineamientos con Bowtie2 (Langmead and Salzberg 2012). Estos alineamientos se hicieron contra a los genomas de referencia del humano hg19 con enmascaramientos (<https://zenodo.org/record/4116107/>), el fago PhiX (NC_001422.1) y el banano (*Musa acuminata* pahang v4, <https://banana-genome-hub.southgreen.fr>). Además, se analizaron constantemente la calidad de las secuencias para monitorear el cambio en el porcentaje de duplicaciones, valores Phred y tamaño de las lecturas en cada paso.

5.7.2.4. Análisis taxonómico de las secuencias extraídas del 16S ADNr de los metagenomas del suelo de la rizósfera del plátano. Para el análisis taxonómico del 16S ADNr de los metagenomas, se extrajeron dichas secuencias por medio de un método basado en kmers con BBDuk en el pipeline Metabiome. Para ello, alineamos las secuencias preprocesadas de los metagenomas a los kmers de la base de datos SILVA del 16S ADNr (SSU 138.1, <https://www.arb-silva.de/download/archive/>). Seguido al alineamiento, se generó la tabla de OTUs al 97% con la función *q2-vsearch* y el método *de novo clustering* en el pipeline QIIME2 (Bolyen et al. 2019). Los análisis posteriores de la tabla de OTUs se hicieron a través del software R (Chambers 2008) y Rstudio

(Allaire 2012). La tabla de OTUs fue preprocesada con el paquete phyloseq (McMurdie y Holmes 2013); se eliminaron OTUs que no tenían asignación taxonómica a nivel de filo, así como singletons y doubletons (OTUs presentes en solo una o dos muestras). Posterior a esto, se realizó la rarefacción de la tabla de OTUs a un nivel de cobertura de lecturas mínima (420 lecturas). Con esta tabla de OTUs procesada, se realizó el análisis de composición, riqueza, alfa (índice de Shannon y Chao1) y beta diversidad (distancia Unifrac con abundancias relativas) con los paquetes phyloseq y microbiomeutilities (<https://microsud.github.io/microbiomeutilities/>). Fueron realizadas comparaciones por medio de la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon con el fin de encontrar diferencias significativas (valor $p < 0.05$) entre los índices de alfa diversidad y riqueza entre los diferentes tratamientos. Por otro lado, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en las distancias Unifrac con las abundancias relativas, con la función *ordinate* del paquete phyloseq. En búsqueda de diferencias significativas (valor $p < 0.05$) entre las distancias Unifrac de los tratamientos, se llevó a cabo un análisis de PERMANOVA a través de la función *adonis* del paquete vegan (Oksanen et al. 2007).

5.7.2.5. Análisis taxonómico y funcional del metagenoma del suelo de la rizosfera del plátano. El análisis taxonómico y funcional del metagenoma del suelo de la rizosfera del plátano está basado en las secuencias preprocesadas y los OTUs y en los re-ensamblajes a partir de contigs (Metagenome-assembled genomes, MAGs).

5.7.2.6. Predicción taxonómica y funcional a partir de las secuencias preprocesadas y los OTUs. Se realizó la predicción funcional a partir de las secuencias preprocesadas de muestras representativas con el software Humann3 (Beghini et al. 2021). Las muestras representativas consistieron en una réplica aleatoria de cada uno de los tratamientos. Los resultados de abundancias relativas de Humann3 fueron normalizados con la función *renorm-table* y estandarizados en Rstudio. Por otro lado, la predicción funcional de los OTUs se hizo a partir de PICRUST2 (Douglas et al. 2020) en el pipeline QIIME2. Estos conteos fueron transformados a abundancias relativas con phyloseq y estandarizados en Rstudio. Visualizamos ambas abundancias relativas estandarizadas con los paquetes ggplot2 (Wickham et al. 2016) y pheatmap (Kolde y Kolde 2015).

5.7.2.7. Predicción taxonómica a partir de los re-ensamblajes *de novo* de los genomas. Para realizar la predicción taxonómica y funcional a partir de los re-ensamblajes *de novo* de los genomas, se normalizaron las secuencias preprocesadas con base en la cobertura de kmers únicos, con BBNorm del software BMap. Luego, se generaron los contigs o ensamblajes a partir de las secuencias normalizadas con MEGAHIT (Li et al. 2015) con la configuración por defecto. A partir de estos contigs, se realizaron los re-ensamblajes (Metagenome-assembled genomes, MAGs) con MetaBAT2 (Kang et al. 2019) y MaxBin2 (Wu et al. 2016) con la configuración por defecto. Posteriormente, se utilizó el software DAS Tool (Sieber et al. 2018) con el fin de escoger los mejores re-ensamblajes o MAGs basados en métricas intrínsecas del

re-ensamblaje (uniqueBacSCGs, binScore, SCG_completeness). Por último, se analizó la calidad y la predicción taxonómica dada por la contaminación e integridad de cada re-ensamblaje o MAG con CheckM (Parks et al. 2015), con la opción *lineage workflow*.

5.7.2.8. Anotación de re-ensamblajes de genomas o MAGs seleccionados con antiSMASH. Se realizó la anotación de re-ensamblajes de los genomas o MAGs en la plataforma antiSMASH (Blin et al. 2021), basándose en métricas importantes de calidad de los metagenomas: integridad (completeness) y contaminación (contamination), y en su importancia en el microbioma de la rizósfera (Lei et al. 2019, Yue et al. 2020). De acuerdo a lo anterior, se seleccionaron los MAGs *magnus.001* (Rhizobiales) y *magnus.18* (Bacillales), por su importancia en procesos como la fijación de nitrógeno y sus porcentajes de integridad y contaminación, respectivamente. Posteriormente, realizamos la anotación de los clusters biosintéticos de estos MAGs con antiSMASH (<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>), con el parámetro *relaxed* y las bases de datos BLAST (Johnson et al. 2008), MIBiG (Kautsar et al. 2020), RREFinder (Kloosterman et al. 2020), PFAM (Bateman et al. 2004) y TIGRFAM (Selengut et al. 2007).

5.7.2.9. Análisis de redes de co-ocurrencia. Fueron construidas las redes de co-ocurrencia a partir de la tabla de OTUs preprocesada en el tiempo final de cada tratamiento: W96 (agua al tiempo 96hr), C0 (cóctel de fagos M5, M8 al tiempo 0hr), B96 (inóculo de *R. solanacearum* UA1591 al tiempo 96hr), BC+96 (inóculo de *R. solanacearum* UA1591 + cóctel de fagos al tiempo +96hr) y CB96 (cóctel de fagos M5, M8 + inóculo de *R. solanacearum* UA1591 al tiempo 96hr). Para ello, fueron calculadas las correlaciones por el método de SPIEC-EASI con el paquete SpiecEasi (Kurtz et al. 2015) con un umbral de correlación mayor a 0.5. A partir de estas correlaciones, construimos la matriz de adyacencia a nivel de filo y las redes de co-ocurrencia con el paquete igraph (Csardi y Nepusz 2006). Finalmente, visualizamos las redes en Cytoscape (Shannon et al. 2003).

Tratamiento	Replicas	Descripción del tratamiento
W (0hr)	W10, W20, W30, W40, W50	Aplicación de agua destilada en el tiempo 0.
W (48hr)	W148, W248, W348, W448, W548	48hrs después de la aplicación de agua destilada.
W (96hr)	W196, W296, W396, W496, W596	96hrs después de la aplicación de agua destilada.
B (0hr)	B10, B20, B30, B40, B50	Aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> UA1591 en el tiempo 0.
B (48hr)	B148, B248, B348, B448, B548	48hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> UA1591
B (96hr)	B196, B296, B396, B496, B596	96hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> UA1591
C+B (-96hr)	CB1-96, CB2-96, CB3-96, CB4-96, CB5-96	Aplicación del cóctel de fagos (M5, M8), 96 horas antes de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> en el tiempo 0
C+B (-48hr)	CB1-48, CB2-48, CB3-48, CB4-48, CB5-48	48hrs después de la aplicación del cóctel de fagos (M5, M8).
C+B (0hr)	CB10, CB20, CB30, CB40, CB50	96hrs después de la aplicación del cóctel de fagos (M5, M8). Aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> en el tiempo 0.
C+B (48hr)	CB148, CB248, CB348, CB448, CB548	48 hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> con la previa aplicación del cóctel de fagos.
C+B (96hr)	CB196, CB296, CB396, CB496, CB596	96 hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> con la previa aplicación del cóctel de fagos.
B+C (0hr)	BC10, BC20, BC30, BC40, BC50	Aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> en el tiempo 0.
B+C (48hr)	BC148, BC248, BC348, BC448, BC548	48 hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> .
B+C (96hr)	BC196, BC296, BC396, BC496, BC596	96 hrs después de la aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> . Aplicación del cóctel de fagos (M5, M8).
B+C (+48hr)	BC1+48, BC2+48, BC3+48, BC4+48, BC5+48	48hrs después de la aplicación del cóctel de fagos (M5, M8) con la previa aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> UA1591
B+C (+96hr)	BC1+96, BC2+96, BC3+96, BC4+96, BC5+96	96hrs después de la aplicación del cóctel de fagos (M5, M8) con la previa aplicación del inóculo de <i>R. solanacearum</i> UA1591

Tabla 1. Nomenclatura y descripción de tratamientos para el análisis de microbioma.

5.7.2.10. Toma de muestras (actinobacterias). Las muestras de suelo se recolectaron en la región de Urabá en el departamento de Antioquia, entre diciembre de 2019 y octubre de 2020. se realizaron tres muestreos de rizosfera de plantas de plátano en tres fincas productoras de la región (San Judas, La Reina y Algarrobo).

5.7.2.11. Aislamiento y Purificación de actinobacterias. Se pesó 1 g de la muestra de suelo rizosférico, se transfirió a un falcon y se homogeneizó con 9mL de agua destilada estéril. Se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} . Se tomó 100 μ L de las diluciones $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$ realizadas anteriormente y se sembraron por triplicado en cajas de Petri con medio Agar Caseína Almidón (ACA), suplementado con ácido nalidíxico (25 μ g/ml) y cicloheximida (25 μ g/ml). Se incubaron a 28°C durante 15 días. Las colonias con morfología característica de actinobacterias se repicaron en el medio sólido *International Streptomyces Project-2* y 3 (ISP2 e ISP3), dichos medios se suplementaron con ácido nalidíxico (25 μ g/ml) Se incubaron 15 días a 28°C. A continuación, se sembraron en cajas de petri individuales y se almacenaron a 4°C.

5.7.2.12. Caracterización morfológica de los actinobacterias. Las colonias puras de actinobacterias se analizaron de acuerdo con sus características macroscópicas de

crecimiento, como textura, forma, color de esporas y micelio, así como, la producción de pigmentos en el medio.

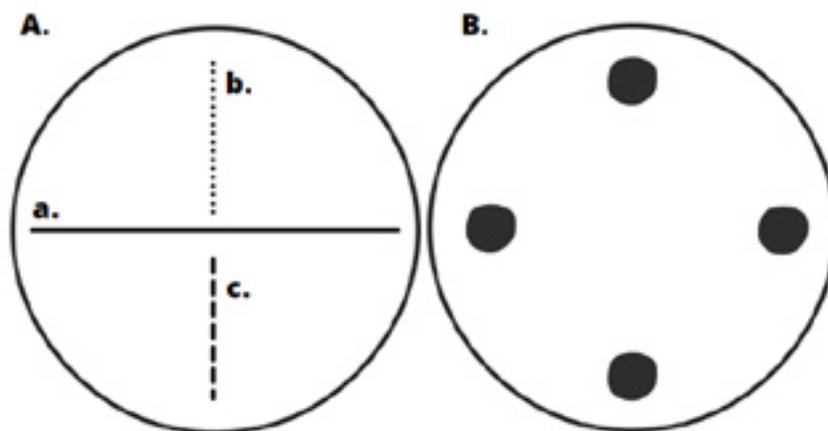


Figura 13. Montaje para realizar pruebas de antagonismo. **A.** Montaje para pruebas preliminares de antagonismo (screening), de las cuales: **a.** es la colonia de actinobacterias, **b.** el inóculo de la cepa UA1591 *R. solanacearum* **c.** el inóculo de *Ralstonia sp.* **B.** Corresponde al montaje de Antagonismo cuantitativo.

5.7.2.13. Evaluación de la capacidad antagónica in vitro de Actinobacterias contra *R. Solanacearum*. Las actinobacterias aisladas fueron inoculadas en caja de petri con medio ISP2. de forma transversal en el medio de la caja. (**Figura 1A**). Posteriormente se incubaron a 28°C por 8 días. Las cepas UA1591 de *Ralstonia solanacearum* y RS 047 *Ralstonia sp.*, fueron usadas para los ensayos de actividad. Dichas cepas fueron activadas y replicadas en medio de cultivo Triptona soya Agar (TSA) e incubadas a 28°C durante 48 horas. Posteriormente, se obtuvo un inóculo tanto de *R. solanacearum* como de *Ralstonia sp.* en agua destilada estéril a una absorbancia de 0.1 (OD600), lo cual equivale a 1×10^8 UFC/mL aproximadamente. Luego de evidenciar el crecimiento de cada actinobacteria, se agregó 5 μ L de ambos inóculos en sentido perpendicular y en extremos opuestos al actino sembrado inicialmente (**Ver figura 1A**). Las cajas se incubaron a 28°C, y se revisó la presencia de inhibición de crecimiento entre las 48 y 96 horas. Se seleccionaron los aislamientos con las mejores actividades.

5.7.2.14. Selección de los mejores aislamientos con capacidad antagónica. De las actinobacterias seleccionadas previamente (18), se inocularon 4 en cada caja de Petri con medio ISP-2, a 4 cm de distancia entre ellas y de forma perpendicular (Figura 1B), luego de esto, se incubaron a 28°C por 8 días. Posteriormente, se agregó a la caja con las 4 actinobacterias, 100 μ L de inóculo fresco de *R. solanacearum* UA1591 y *Ralstonia sp.* RS 047. en una concentración de 1×10^8 UFC/mL. Con el fin de garantizar el crecimiento bacteriano, se usó un asa Digrafsky de Vidrio evitando para favorecer la formación del tapete bacteriano. Las cajas se incubaron a 28°C, y se revisó la

formación de un halo entre las 48 y 96 horas. Los halos producidos se midieron manualmente y utilizando el software IMAGE J.

5.7.2.15. Evaluación y selección de extractos acuosos de Actinobacterias. Las colonias con mayor actividad contra *R. solanacearum* UA1591 y *Ralstonia sp.* RS 047 se sembraron en medio líquido de Caldo de Papa y Dextrosa (PDB) y en ISP2. Se incubaron a 28°C con una agitación de 170 rpm durante 3 semanas. Posteriormente, se realizó la separación de la biomasa y el extracto acuoso, primero por centrifugación 10 min a 12.000 rpm y luego filtrando el sobrenadante obtenido con papel filtro Whatman No. 1. Los extractos obtenidos se evaluaron por la metodología difusión en pozos de agar, para esto, se inocularon 100 µL de *R. solanacearum* a una concentración de 1×10^8 UFC/mL con el fin de obtener el crecimiento bacteriano, se repitió el procedimiento anteriormente descrito, luego, con la ayuda de un sacabocados (6mm) se realizó un pozo en el agar, en los cuales se depositaron 100 µL del extracto acuoso. Los halos producidos se midieron utilizando el software IMAGE J.

5.7.2.16. Evaluación y caracterización del extracto orgánico de Actinobacteria. El extracto acuoso (2L) de la actinobacteria obtenido por la fermentación del aislamiento con mayor actividad antagonista (U-P.5.6.3) se concentró por medio de liofilización (Lyovapor-200 BUCHI®). Posteriormente, dicho extracto se resuspendió en 400 mL de agua destilada estéril. Se realizaron 4 extracciones usando el solvente orgánico Acetato de Etilo (AppliChem) en proporción 3:1. El extracto orgánico se secó usando Rota-evaporador (Heidolph Instruments), y se obtuvo la masa total del extracto de 119 mg. A continuación, se preparó una solución a 10, 5 y 2.5 mg/mL usando Dimetil sulfoxido (DMSO) para confirmar su actividad. Para ello, se utilizó la metodología difusión en pozo (Ling et al., 2020), como control se empleó un sensidisco de cloranfenicol (30mg). Con el fin de obtener crecimiento bacteriano, se tomó 100 µL de inóculo de *R. solanacearum* a una concentración de 1×10^8 UFC/mL y se inoculó en la superficie de la caja de Petri que contenía medio TSA, este inóculo se distribuyó en toda la superficie con el fin de garantizar la formación del tapete bacteriano. Los halos evidenciados, producto de la actividad antibiótica de los extractos se midieron utilizando el software IMAGE J.

5.7.2.17. Fraccionamiento de extracto bruto de actinobacteria. El extracto orgánico del aislamiento U-P.5.6.3 (100mg) fue solubilizado en 10 mL de acetato de etilo y se realizó una cromatografía en capa fina (TLC) para determinar preliminarmente el corrido de la muestra en una fase móvil compuesta por hexano/acetato de etilo (2:1). La suspensión fue sometida a fraccionamiento a través de cromatografía flash, empleando el sistema de purificación Isolera Biotage®; Un cartucho de fase normal Biotage KP-SIL de 10g permitió realizar la separación con una buena resolución. La mezcla de gradiente de éter de petróleo/acetato de etilo inicio con una proporción 90-10 en 5 volúmenes de columna, se mantuvo isocrático durante 1 volumen de columna en proporción 84-16, posteriormente se aumentó la proporción del solvente con mayor poder de elución de manera progresiva de 16 a 70 por ciento durante 3.1 volúmenes de columna, de 70 a 78 en 0.4 volúmenes de columna y de 78 a 80 en 1.3, finalmente dicho solvente fue aumentado de 80 a 100 por ciento en 2.5 volúmenes de columna, con 100 por ciento del solvente con mayor poder de elución (acetato de etilo) con el fin de eluir las moléculas más polares del extracto separado. El flujo de corrido fue de 15 mL/min; la detección de DAD del extracto mostró una longitud de onda de absorción máxima entre 210 y 265 nm, por lo cual se seleccionó

la detección a 254 nm para evitar interferencias de ruido de la absorción UV de los disolventes a longitudes de onda bajas. Las primeras fracciones obtenidas fueron unidas con base en el perfil cromatográfico y concentradas a presión reducida hasta obtener un sólido, para un total de 5 fracciones diferenciadas. Al finalizar el corrido de la muestra, el cartucho quedó teñido completamente de rojo, indicando la presencia de compuestos altamente polares. Para recuperar la totalidad de la fracción se usó metanol y se concentró hasta sequedad total (fracción 6).

5.7.2.18. Análisis de la fracción seleccionada y obtención del perfil químico. Para esto, se seleccionó una alícuota de 2,5 mg de la masa de la fracción 5 obtenida del extracto orgánico de U-P 5.6.3, se adicionó 500 μ L de metanol a la muestra, posteriormente se filtró con filtros de nailon de 0.22 μ m, depositándolos en viales para HPLC. Para realizar el análisis cromatográfico se utilizaron los reactivos Metanol (MetOH) y Ácido Trifluoroacético (TFA) (Grado HPLC-Gradiente) y Agua tipo I. Se utilizó un equipo HPLC Chromaster (Hitachi®) equipado con un detector DAD con el cual se hizo un barrido PDA (200-900 nm) para determinar las mejores longitudes de absorción de la muestra. Se utilizó la columna Synergi 4 μ m Hydro-RP 80^a (4.6 x 150 mm) con una precolumna KJO-4282 con cartuchos C-18 (Phenomenex®).

Las fases móviles fueron A: Agua tipo I (más 0.1% de TFA) y B: MeOH, a 30°C de temperatura. Se inyectó 5 μ L de muestra y el método desarrollado fue el siguiente: Con un flujo de 0.5mL/min, inicia isocráticamente con 80% fase A durante 15 minutos, luego inicia un gradiente del 80% de fase A hasta 10% en 5 minutos, durante este tiempo también hay un gradiente de flujo hasta 0.75mL/min; esta condición (10% fase A, 0.75mL) se mantiene durante 5 minutos. El método finaliza volviendo a la condición inicial en 3 minutos y manteniéndola durante 2 minutos más, para un total de 30 minutos.

Inicialmente, se estableció la longitud de onda en la cual los compuestos presentes en la fracción analizada eran más adecuadamente detectados, para esto se realizó un análisis de "barrido" con longitud de onda desde 200 hasta 350nm. Posteriormente, se obtuvieron las señales principales detectadas por el equipo que pueden estar asociadas con la actividad antibiótica de la fracción analizada.

5.7.3. Resultados y Discusión

5.7.3.1 Metagenomas. Para la evaluación de calidad de las secuencias y anotación de los metagenomas, se usó la prueba de FastQC y MultiQC donde se espera obtener resultados con puntaje Phred por encima de 25, lo cual indica una adecuada calidad de las secuencias obtenidas que permitan su posterior análisis. Para todas las muestras del experimento realizado, los valores Phred fueron entre 27 y 38, lo cual evidenció la calidad de las secuencias obtenidas (**Figura 1A**). De igual forma, fue realizado un análisis de porcentaje de bases nitrogenadas particularmente Guanina-Citosina con el fin de confirmar la homogeneidad de las muestras, considerando se ha reportado que, para muestras de microbiomas de suelo, los valores se encuentran usualmente entre 60 y 80%, para el caso particular de las muestras empleadas en este experimento, el valor medio obtenido fue de 68% (**Figura 1B**).

Adicionalmente, fue realizado una evaluación de porcentaje de duplicación de las secuencias y el tamaño de las mismas, esto con, se pretende evitar que las informaciones puedan llevar a conclusiones erróneas y al mismo tiempo, conocer si los tamaños de secuencias son adecuados para el análisis de microbiomas.

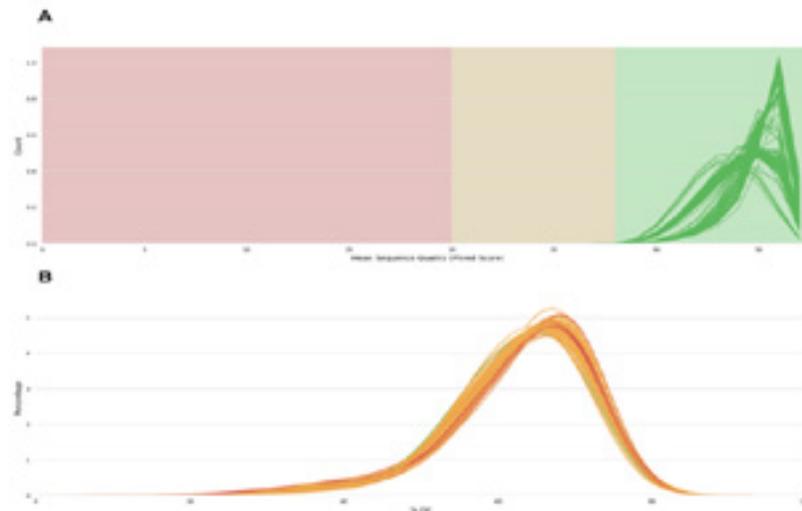


Figura 1. Evaluación de la calidad de las secuencias preprocesadas del microbioma de la rizósfera del plátano bajo los diferentes tratamientos. (A) Distribución de valores Phred (>25) de las secuencias preprocesadas de las 80 muestras. **(B)** Porcentaje de Guanina-Citosina (60-80%) de las secuencias preprocesadas de las 80 muestras.

Como lo muestra la **Figura 2A**, el porcentaje de posibles secuencias duplicadas fue menor al 2%, lo cual garantiza una adecuada integridad de las secuencias obtenidas. Al mismo tiempo, en la **Figura 2B** se muestra que el tamaño promedio para las 80 muestras estuvo entre 130 a 150 pb, valores que son adecuados para realizar los análisis de las secuencias.

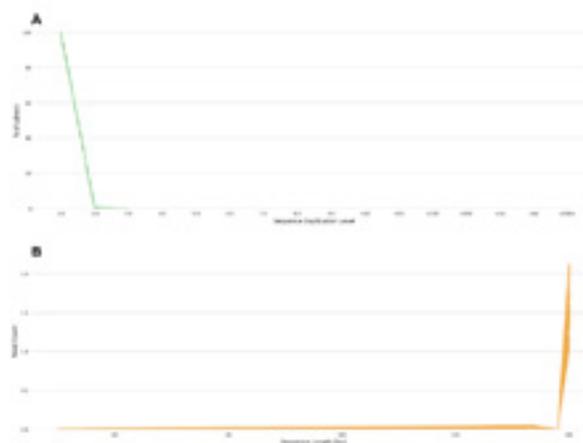


Figura 2. Porcentaje de duplicación y tamaño de lectura de las secuencias preprocesadas. (A) Nivel de duplicación (<2) de las secuencias preprocesadas. **(B)** Distribución del tamaño de las secuencias (130-150 pb) en los datos preprocesados.

Con base en estas evaluaciones se puede concluir que los datos de las secuencias obtenidas presentan unos parámetros de tamaño, calidad e integridad adecuados para su uso en los análisis de taxonomía y funcionalidad del microbioma.

Para el análisis taxonómico de rRNA16S, se realizó un análisis de rarefacción a partir de las Unidades Taxonómicas Operacionales (en inglés OTU) con el fin de relacionar la cantidad presente en los diferentes tratamientos con número total de secuencias. Para este indicador, se espera que entre más alto sea el número de lecturas (reads) por muestra, no varíe el número de OTUs asociados a la muestra, lo cual indica que la profundidad seleccionada inicialmente es adecuada para lograr la mejor cobertura de los posibles datos obtenidos, como lo muestra la **Figura 3**. Se pudo evidenciar que, en las muestras con una baja complejidad, como es el tratamiento W (solo agua), presentaron menos OTUs en relación a las muestras donde se inoculó bacteria y fagos (B+C, C+B).

Del mismo modo, se realizó una validación del nivel de cobertura para cada muestra (**Figura 4A**) de las OTU's obtenidas, buscando mejorar el índice de rarefacción (**Figura 4B**). Con esto se puede concluir que el número mínimo de lecturas (reads) para obtener la mejor cobertura de las muestras analizadas es de 420, lo que sería cuatro veces a más del valor mínimo requerido para realizar este tipo de análisis.

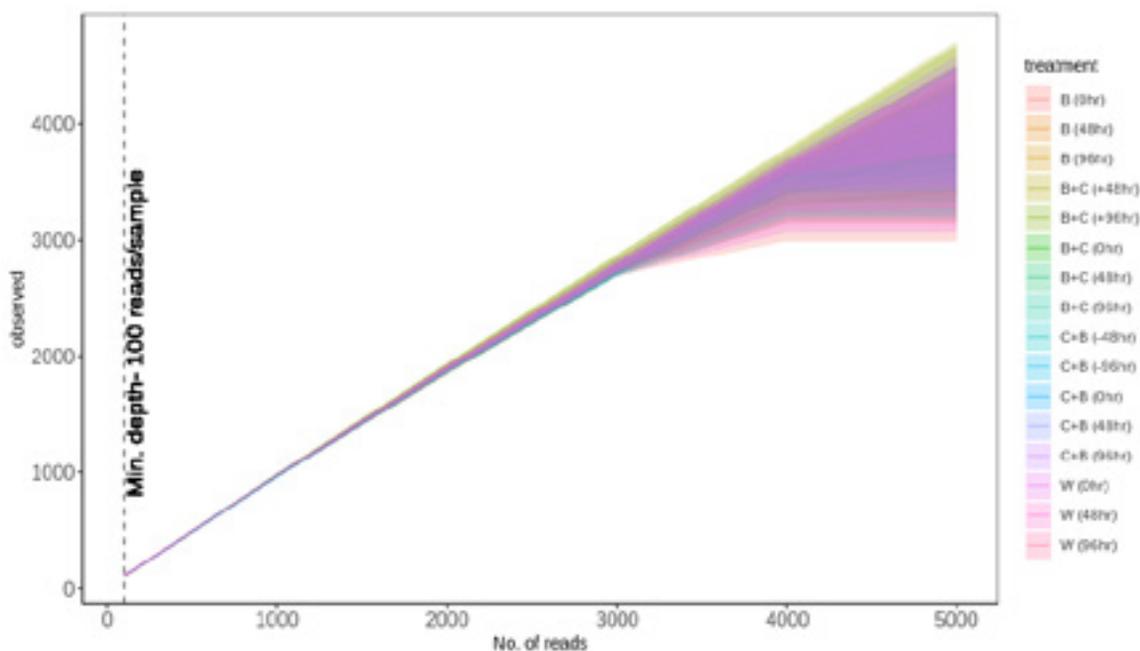


Figura 3. Curva de rarefacción de la tabla de OTU's. Relación entre el número de OTU's observados con respecto a la cobertura (número de lecturas) en todos los tratamientos. W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

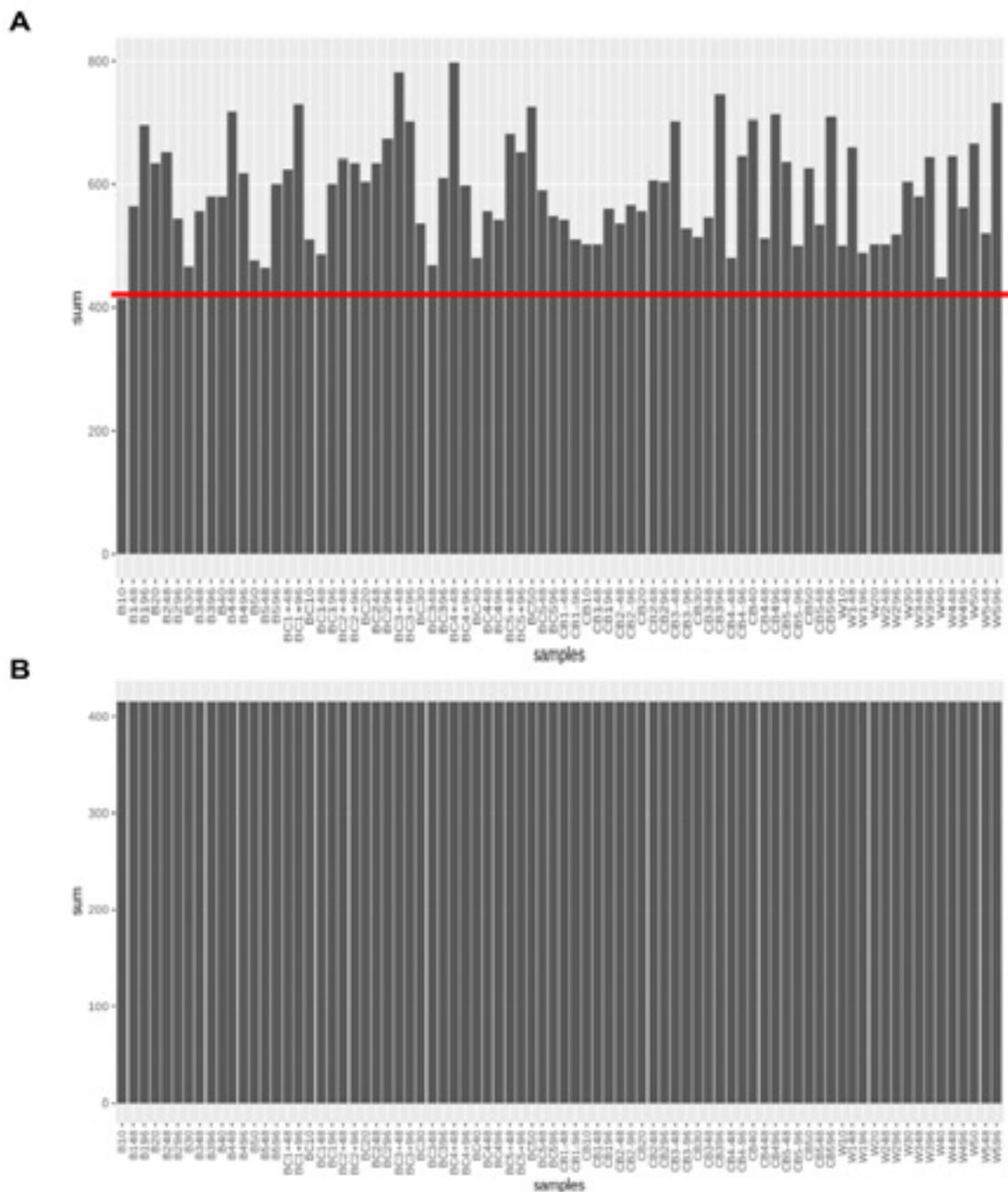


Figura 4. Rarefacción a un nivel de cobertura de 420 lecturas por muestra de la tabla de OTU´s. (A) Nivel de cobertura mínima (línea roja: 420 lecturas) para la rarefacción, (B) cobertura por muestra después de la rarefacción.

Al realizar el análisis de la prevalencia y abundancia de los principales filos bacterianos a partir de los OTU´s obtenidos, se encontró que, en las muestras de suelo obtenidas en este experimento, se evidenció una abundancia mayor de los filos Actinobacteriota, Firmicutes, Proteobacteria y Verrucomicrobiota (**Figura 5**).

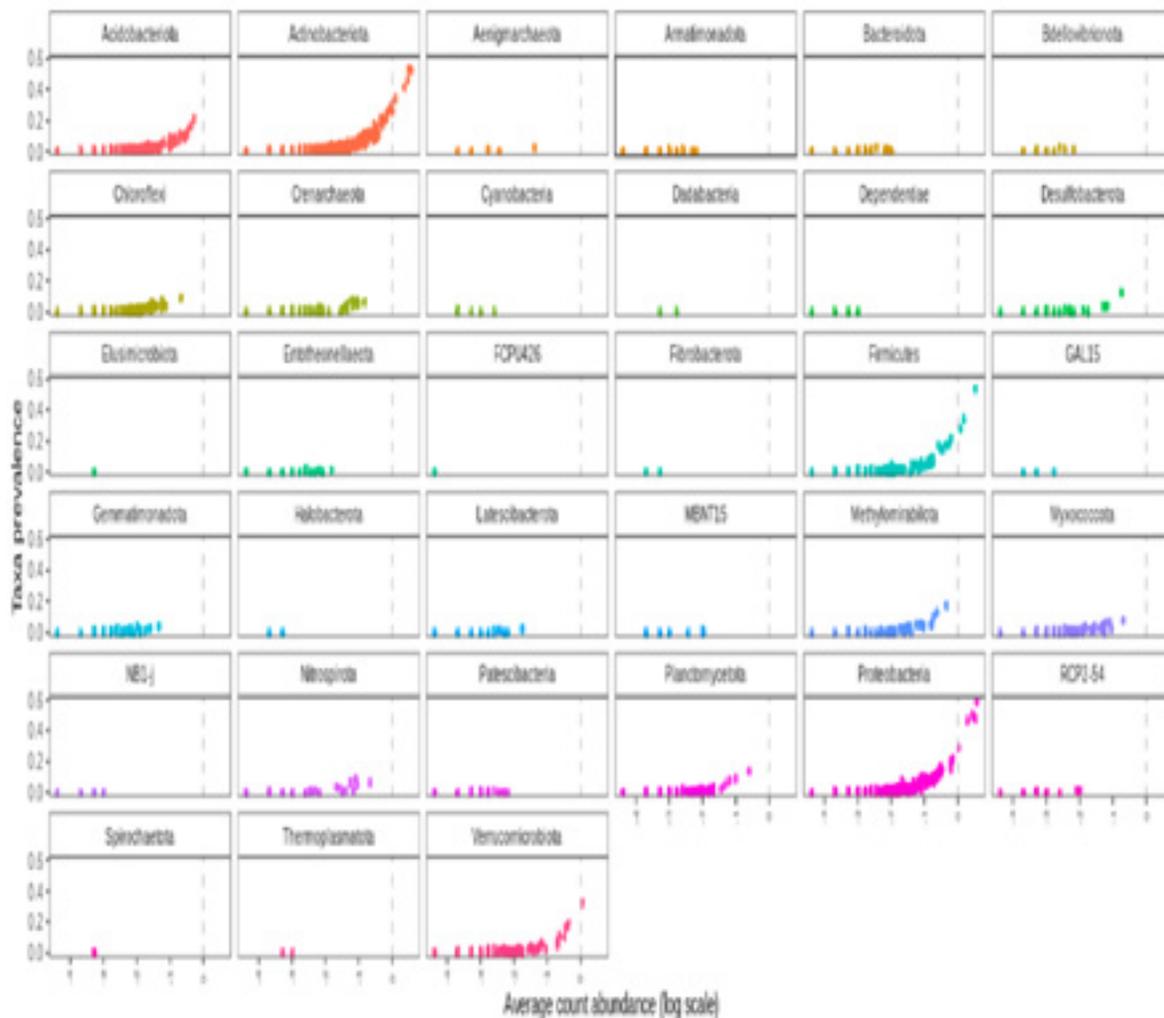


Figura 5. Relación entre la prevalencia y la abundancia de los filos bacterianos del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Prevalencia de los filos bacterianos de la tabla de OTUs preprocesada respecto al promedio de sus abundancias (conteos) en escala logarítmica. La línea gris punteada indica el logaritmo del promedio de las abundancias con un valor de cero.

En cuanto a la abundancia relativa de las 80 muestras analizadas de plátano, se destaca los filos Acidobacteriota, Actinobacteriota y Proteobacteria como los más abundantes (**Figura 6**), esto coincide con lo reportado por Suhaimi et al., 2017, quienes analizaron muestras de suelo de banano y encontraron los filos Proteobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobiota y Actinobacteriota como los más abundantes, esto podría sugerir un núcleo bacteriano común entre las musáceas. Al comparar los tratamientos en los cuales se empleó el coctel de fagos, se evidencia una homogeneidad en la composición de los filos presentes en las muestras analizadas, sugiriendo, que los fagos no tuvieron efecto evidente en la alteración de composición bacteriana del microbioma de plátano.

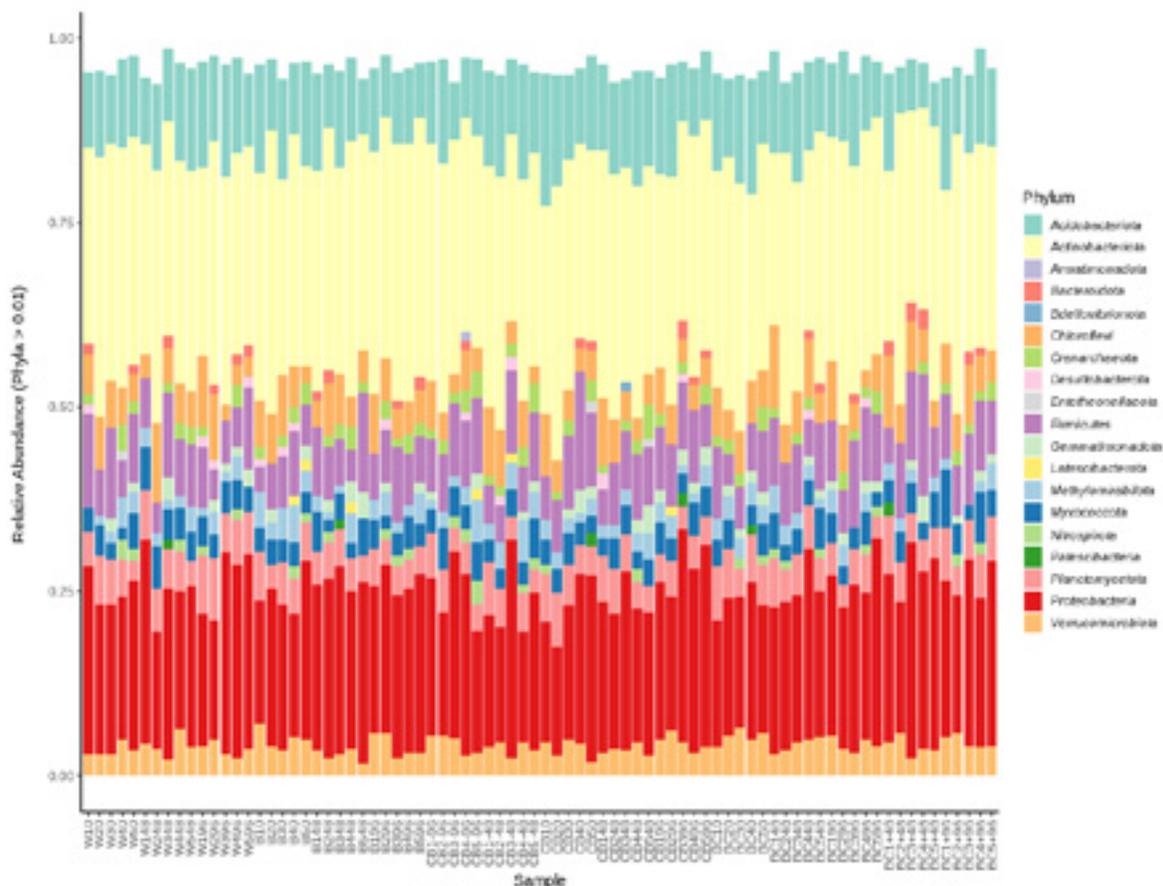


Figura 6. Abundancia relativa de los filos bacterianos del microbioma de la rizósfera del plátano bajo los diferentes tratamientos. Cada color representa la abundancia relativa por filo bacteriano de la tabla de OTU´s preprocesada. Únicamente se visualizan los filos con una abundancia relativa mayor a 0.01 en todas las muestras. W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

Posteriormente, fue seleccionado el filo Proteobacteria al cual pertenece el genero *Ralstonia*, para realizar un análisis específico de abundancia relativa de los géneros pertenecientes a dicho filo. Se encontró mayor abundancia relativa del genero *Ralstonia* a las 48 horas en el tratamiento (B) donde fue aplicado únicamente dicho fitopatógeno (**Figura 7**). En el tratamiento donde se adicionó el coctel de fagos después de aplicar *Ralstonia* (B+C) se evidenció aumento en la abundancia de la bacteria patógena a las 96 horas, lo que representa una diferencia cuando comparado con el tratamiento de control positivo (B) en el cual se evidenció un aumento a las 48 horas. El tratamiento donde se adicionó el coctel de fagos antes de aplicar *Ralstonia* (C+B), mantuvo las abundancias en niveles indetectables hasta las 0 hrs, momento en el cual se aplicaron constantemente inóculos del coctel de fagos cada 24 hrs. Luego de esto, se evidenció un leve aumento en la prevalencia de dicho genero a las 48 y 96 hrs después de la ultima aplicación del coctel, lo que sugiere que la aplicación de los fagos debería ser en periodos mas extensos con el fin de mantener la abundancia de

Ralstonia en niveles que no alteren la comunidad bacteriana favoreciendo su entrada en la planta.

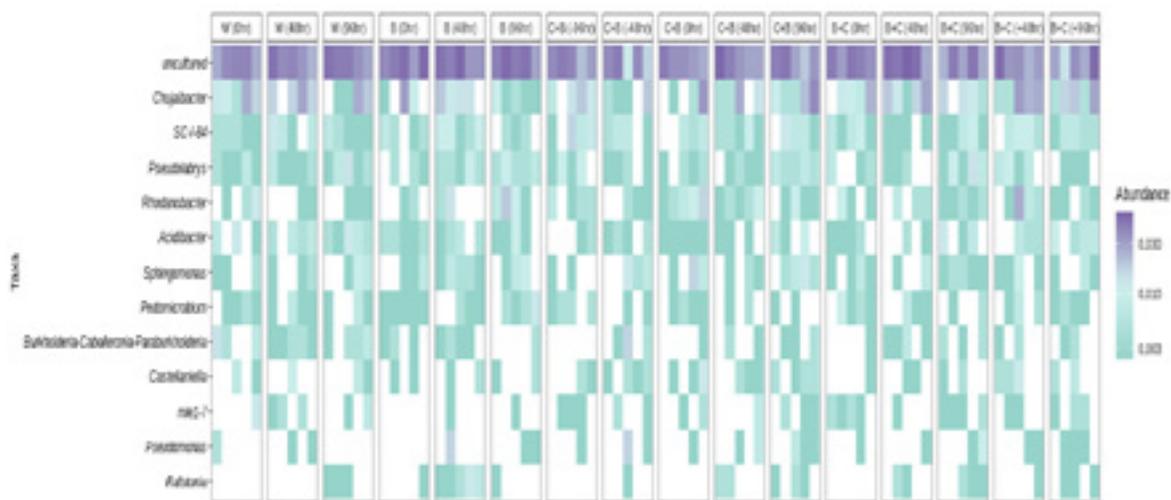


Figura. 7. Abundancias relativas de los géneros del filo Proteobacteria del microbioma de la rizósfera del plátano bajo los diferentes tratamientos. Taxones de la tabla de OTUs preprocesada, pertenecientes a géneros del filo Proteobacteria con una abundancia relativa y prevalencia mayor a 0.01. W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

La riqueza y diversidad alfa de los OTUs obtenidas en los diferentes tratamientos no presentaron diferencias significativas entre los índices de los mismos ($p < 0,05$) (**Figura 8**), de igual forma, el análisis de beta diversidad a partir de los OTUs, basado en las distancias Unifrac y las abundancias relativas mediante un análisis de coordenadas principales (PCoA), así como el análisis de PERMANOVA revelaron que no existen diferencias significativas entre las distancias Unifrac de cada tratamiento ($p < 0,05$) (**Figura 9**). Esto puede ser debido a que el coctel de fagos no alteró la estructura bacteriana de la rizosfera, y del mismo modo, cuando fueron aplicados conjuntamente con la bacteria patógena, no permitió que *Ralstonia* tuviera un efecto negativo alterando la comunidad bacteriana.

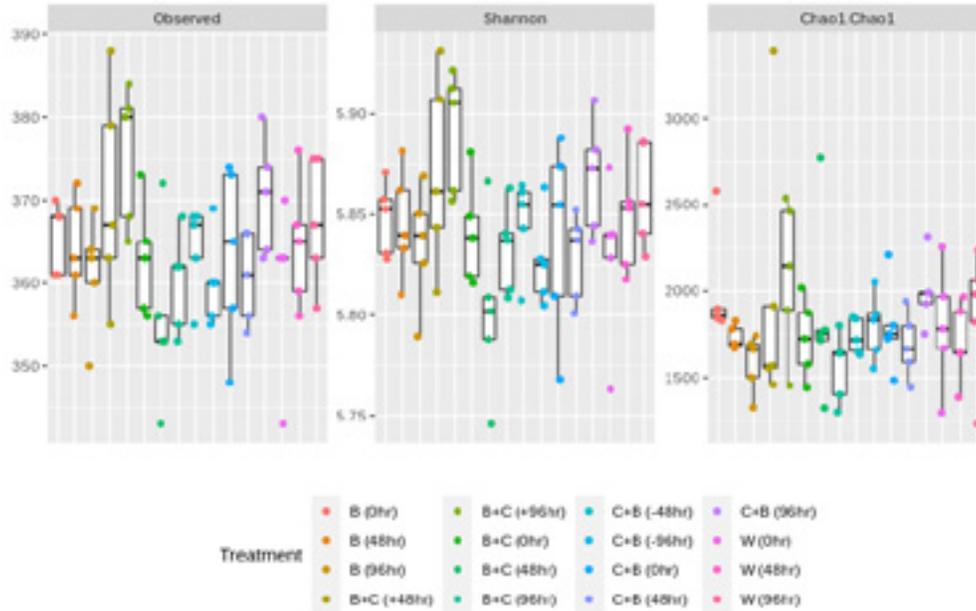


Figura 8. Análisis de riqueza y diversidad alfa del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Índices de riqueza (observada) y diversidad alfa (Shannon y Chao) de la tabla de OTUs preprocesada, bajo los diferentes tratamientos. Pruebas de Mann-Whitney-Wilcoxon revelaron que no existen diferencias significativas entre estos índices en los diferentes tratamientos ($p < 0.05$). W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

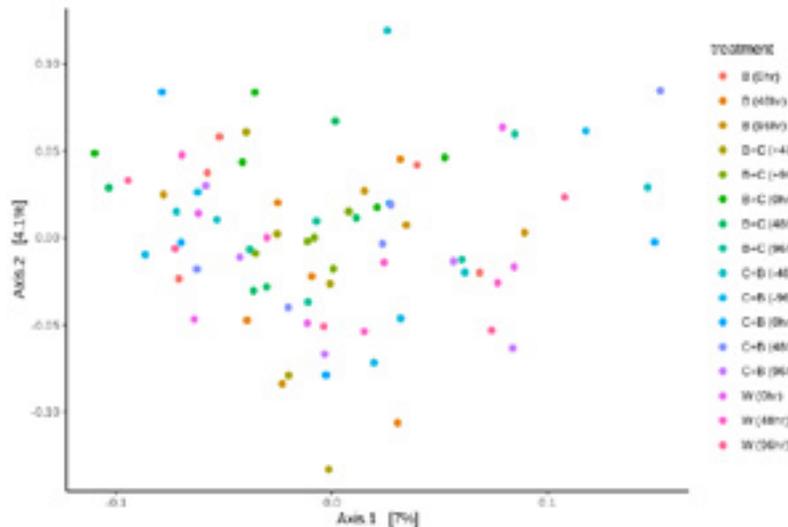


Figura 9. Análisis de diversidad beta basado en las distancias Unifrac y abundancias relativas de los OTU's preprocesados del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Análisis de beta diversidad de la tabla de OTUs preprocesada, basado en las distancias Unifrac y las abundancias relativas mediante un análisis de coordenadas principales (PCoA). En paréntesis se encuentra

el porcentaje de la variación total explicada por cada componente. Análisis de PERMANOVA revelaron que no existen diferencias significativas entre las distancias Unifrac de cada tratamiento ($p < 0.05$). W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

La obtención de genomas por medio de re-ensamblaje a partir del metagenoma (MAG's) arrojó la obtención de 20 resultados que presentaron un binScore mayor al 0,5 y una integridad de genes de una sola copia (SCG) mayor al 60%, siendo estos, los mejores genomas obtenidos y los utilizados para los subsiguientes análisis de CheckM.

Tabla 2. Métricas de calidad de los re-ensamblajes de los contigs del microbioma de la rizósfera del plátano.

bin	uniqueBacSCGs	size	contigs	N50	binScore	SCG_completeness	SCG_redundancy
magnus.34	50	1325481	35	79039	0.9804	98.04	0
magnus.031	51	2614455	454	7326	0.9794	100	5.26
magnus.072	49	4403619	256	47982	0.9387	96.08	1.96
magnus.18	51	3677962	328	21773	0.9209	100	7.84
magnus.4	45	745494	48	24429	0.8563	90.2	3.92
magnus.005_sub	17	2223886	200	24782	0.8562	97.37	10.53
magnus.113	25	3577403	1757	2088	0.7588	94.74	13.16
magnus.049	39	2534551	206	34178	0.7395	76.47	5.26
magnus.004	49	2695053	301	26050	0.7305	96.08	19.61
magnus.020	44	4691418	1254	5256	0.7221	86.27	13.16
magnus.050	40	2090251	445	7864	0.6603	78.43	9.8
magnus.097	45	3229555	1339	2773	0.6506	90.2	21.57
magnus.038	49	3640715	546	23762	0.6423	96.08	27.45
magnus.022_sub	16	2547923	490	15600	0.6396	89.47	18.42
magnus.001	39	2377380	526	6497	0.6136	76.47	11.76
magnus.11_sub	35	4048630	652	6861	0.5735	70.59	9.8
magnus.094_sub	50	5421188	736	21534	0.5585	98.04	35.29
magnus.046	50	2536603	561	5674	0.5531	98.04	31.37
magnus.016_sub	47	6216195	1345	15398	0.5242	92.16	29.41
magnus.057_sub	38	4399042	801	16151	0.505	74.51	17.65
magnus.042	34	5468853	1554	4450	0.502	66.67	11.76

Para el análisis taxonómico y funcional del microbioma de la rizósfera del plátano bajo los diferentes tratamientos, se tuvo como punto de partida los 20 diferentes genomas obtenidos a partir del metagenoma de la rizósfera de plátano. Los 20 MAGs, provenientes de todas las muestras, fueron identificados con una integridad mayor al 60, contaminación con valores entre 0.19 y 45.91, y una máxima heterogeneidad de 80. Se identificaron MAGs en diferentes niveles taxonómicos, Dominio (Archea, Bacteria), Filo (Actinobacteria y Bacteroidetes), Clase (Betaproteobacteria y Gammaproteobacteria), Orden (Rhizobiales) y Familia (Comamonadaceae).

Tabla 3. Evaluación de integridad, contaminación y heterogeneidad de los re-ensamblajes de genomas a partir de metagenomas (MAGs) del microbioma de la rizósfera del plátano.

Bin id	Marker lineage	Completeness	Contamination	Strain heterogeneity
magnus.001	Rhizobiales (UID3447)	79.47	8.71	22.73
magnus.004	Bacteria (UID1453)	92.99	14.68	30.77
magnus.006_sub	Archaea (UID2)	96.6	7.77	11.11
magnus.016_sub	Bacteria (UID203)	96.24	31.9	26.92
magnus.020	Bacteria (UID3187)	65.4	31.67	20
magnus.022_sub	Archaea (UID2)	92.23	18.28	18.6
magnus.031	Bacteria (UID1453)	91.17	3.42	25
magnus.036	Bacteria (UID203)	97.76	14.66	0
magnus.042	Bacteria (UID3187)	67.84	16.36	9.68
magnus.046	Bacteria (UID203)	83.62	31.68	30.58
magnus.049	Comamonadaceae (UID4119)	91.79	3.35	4.76
magnus.057_sub	Betaproteobacteria (UID3959)	96.68	10.26	11.11
magnus.059	Actinobacteria (UID1454)	52.73	33.16	14.29
magnus.072	Bacteroidetes (UID2591)	98.52	2.22	60
magnus.094_sub	Bacteria (UID203)	100	45.91	37.7
magnus.097	Bacteria (UID3187)	77.25	7.61	0
magnus.113	Archaea (UID2)	82.79	4.11	10
magnus.11_sub	Bacteria (UID1452)	74.26	3.3	20
magnus.18	Bacillales (UID828)	97.7	1.37	0
magnus.34	Gammaaproteobacteria (UID4266)	88.52	0.19	0
magnus.4	Bacteria (UID1452)	60.7	0.46	0

Tabla 4. Regiones de metabolitos secundarios del MAG *magnus.001* (Rhizobiales) con antiSMASH 6.0.2 regiones fueron identificadas asociadas a clusters de metabolitos secundarios: no sintetizadas de péptidos no ribosomales (NRPS), sintetas de policétidos tipo III (T3PKS), terpenos y péptidos con azolines lineares (LAP). Adicionalmente, la región 385.1 tuvo una similitud del 7% frente al cluster de la malleobactina (sideróforo NRP).

Identified secondary metabolite regions using strictness 'relaxed'						
Region	Type	From	To	Most similar known cluster		Similarity
Region 103.1	NRPS ☒	1	2,964			
Region 142.1	NRPS ☒	1	4,622			
Region 259.1	terpene ☒	1	4,145			
Region 385.1	terpene ☒	1	4,710	malleobactin A / malleobactin B / malleobactin C / malleobactin D ☒	NRP-NRP siderophore	7%
Region 386.1	LAP ☒	1	9,029			
Region 496.1	T3PKS ☒	1	10,762			

Tabla 5. Regiones de metabolitos secundarios del MAG *magnus.18* (Bacillales) con antiSMASH 6.0.2 regiones fueron encontradas asociadas a clusters de metabolitos secundarios: sintetas de policétidos tipo III (T3PKS), terpenos y sideróforos. Las regiones 142.1 y 188.1 presentaron una similitud de 8% y 50% a los clusters de surfactina y carotenoides, respectivamente.

Identified secondary metabolite regions using strictness 'relaxed'						
Region	Type	From	To	Most similar known cluster		Similarity
Region 108.1	terpene ☒	6,318	21,226			
Region 142.1	terpene ☒	1	7,809	surfactin ☒	NRP:Lipopeptide	8%
Region 173.1	T3PKS ☒	1	19,572			
Region 188.1	terpene ☒	1	17,038	carotenoid ☒	Terpene	50%
Region 319.1	T3PKS ☒	1	15,370			
Region 320.1	siderophore ☒	6,714	22,575			

De los 20 MAGs previamente descritos, fueron seleccionados dos; *magnus001* y *magnus18* para ser anotados usando la plataforma de AntiSmash, con el fin de buscar posibles secuencias con capacidad de codificar metabolitos de interés en el microbioma. Se encontró, para el caso de *magnus001* una coincidencia con clúster genético que codifica para la malleobactina (**Tabla 4**), el cual es un sideróforo principalmente asociado a especies de *Burkholderia* (Esmaeel et al., 2016; Valdez-Núñez et al., 2020). Para el caso de *magnus18*, se encontró similitud con dos clúster genéticos; surfactina y carotenoides (**Tabla 5**). La surfactina, es un lipopéptido con actividad antimicrobiana asociado a especies de *Bacillus* (Sen, 2010; Horng et al., 2019; Jacques et al.). Por otra parte, los carotenoides son pigmentos orgánicos con actividad antioxidante principalmente presentes en plantas. Resulta interesante explorar el posible grupo bacteriano asociado a la producción de dichos compuestos.

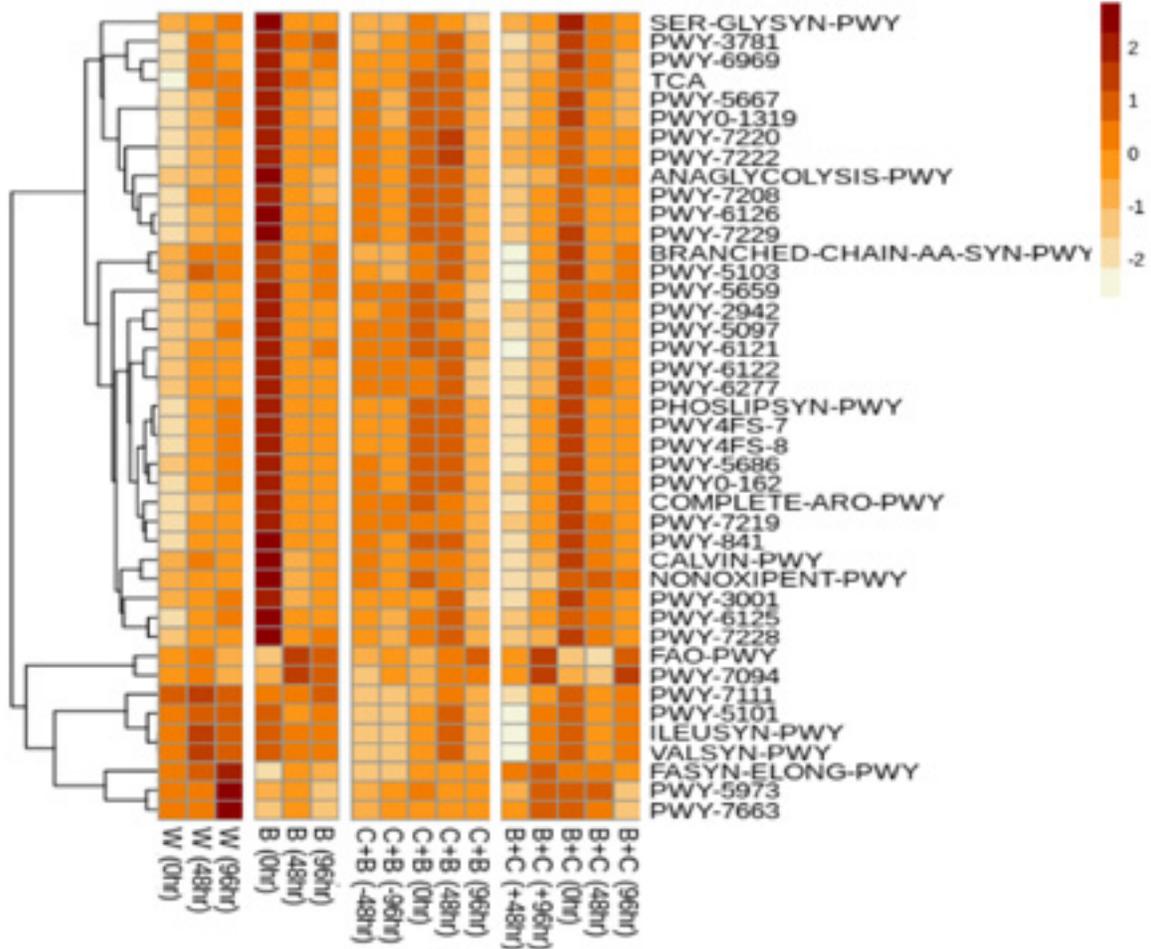


Figura 10. Predicción funcional a partir de los OTUs preprocesados del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Predicción funcional de los OTUs preprocesados con una abundancia relativa mayor a 0.1 con PICRUST2 (Douglas et al. 2020) en los diferentes tratamientos. Las abundancias fueron estandarizadas (valor z) y el naranja oscuro y claro indican alta y baja abundancia relativa, respectivamente. Las funciones predichas están representadas por los códigos de la base de datos de vías metabólicas (<https://metacyc.org/>). W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

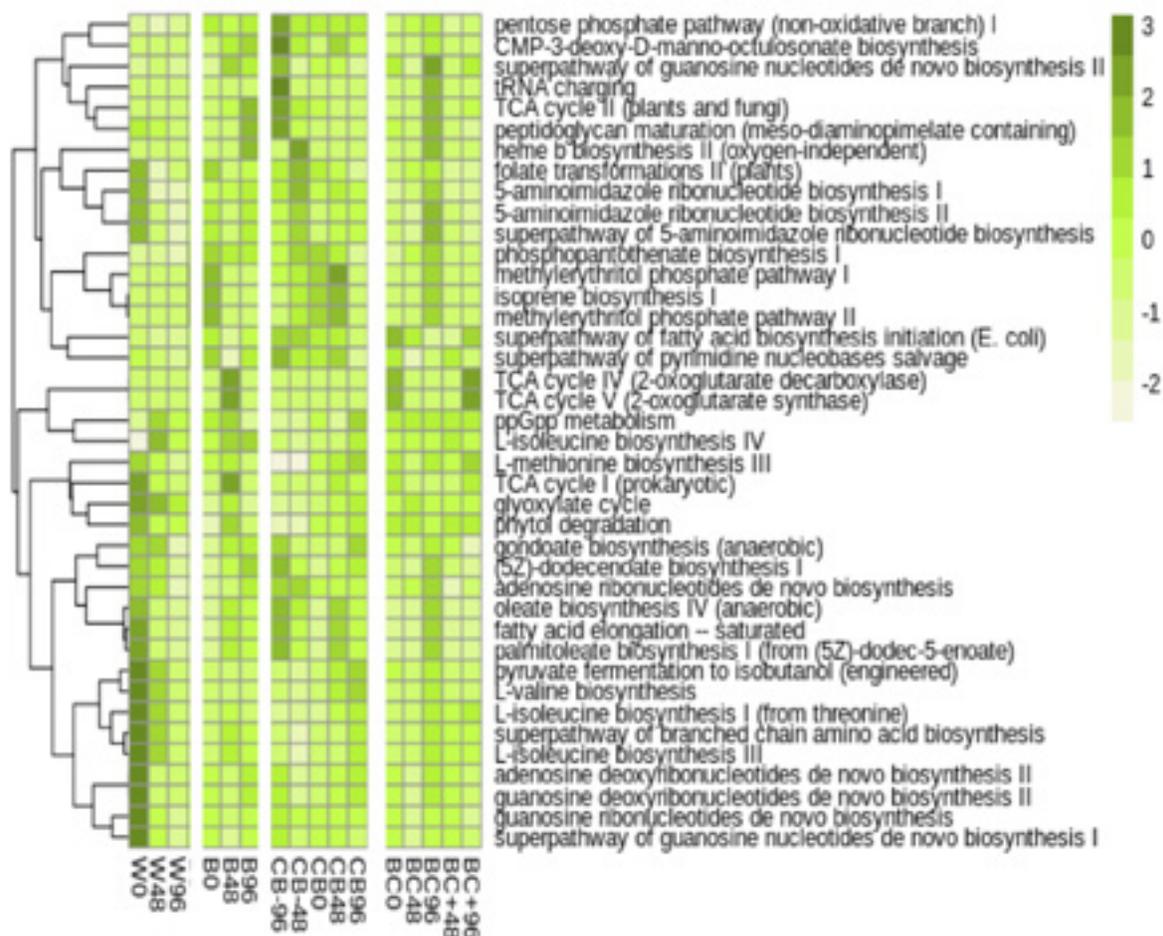


Figura 11. Predicción funcional de los metagenomas de muestras seleccionadas del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos.

Predicción funcional de una réplica representativa de cada tratamiento. Las abundancias fueron normalizadas previamente con Humann3 (Beghini et al. 2021) y estandarizadas (valor z). El heatmap muestra las funciones con un valor z mayor a 0.000002. Los valores z de color verde oscuro y claro indican alta y baja abundancia relativa, respectivamente. W: aplicación agua destilada, B: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591), B+C: aplicación bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y luego cóctel de fagos (M5, M8), y C+B: aplicación cóctel fagos (M5, M8) y luego bacteria (*R. solanacearum* UA1591).

En las abundancias relativas de las funciones a partir de la tabla de OTUs, se observó que no hay clusters diferenciables de funciones bajo los diferentes tratamientos (**Figura 10**). Es decir, se observa que, en su mayoría las funciones se mantienen con su abundancia constante hasta el final de cada tratamiento (W96hr, B96hr, CB0hr, CB96hr, BC+96hr). Sin embargo, cuando se evalúa las funciones a partir de las secuencias preprocesadas de los metagenomas (**Figura 11**), se evidenciaron dos funciones; maduración del peptidoglicano y la biosíntesis II del grupo hemo b (*peptidoglycan maturation*, *heme b biosynthesis II*) que aumentaron su abundancia al final del tratamiento cuando se inoculó *R. solanacearum* UA1591 (B96hr y B+C0hr). Por otro lado, al final del tratamiento de agua (W96hr) y del cóctel de fagos M5, M8 (CB0hr), la abundancia de estas dos funciones permaneció baja.

La maduración del peptidoglicano y la biosíntesis II del grupo hemo b son funciones importantes en la motilidad y la obtención de energía en bacterias, respectivamente (Choby et al. 2016, Torrens et al. 2018, Roure et al. 2012). A su vez, son primordiales para el proceso de infección en *R. solanacearum* (Tans-Kersten et al. 2001). Por lo tanto, estas funciones pueden estar asociadas a la abundancia de *R. solanacearum* UA1591 en el microbioma de plantas, permitiendo su movilización hacia los haces vasculares y la obtención de energía en condiciones de baja concentración de oxígeno características principales de estos tejidos (Dalsing et al. 2015). De tal forma, cuando se aplica el cóctel de fagos M5, M8 (CB96hr, BC+96hr), se disminuye la abundancia relativa de estas funciones probablemente por la disminución de las poblaciones de *R. solanacearum* UA1591 bajo la acción lítica de los fagos (Ramírez et al., 2020). Por ende, la sola aplicación de los fagos M5, M8 en la rizosfera del plátano, no presenta un efecto en estas funciones del microbioma.

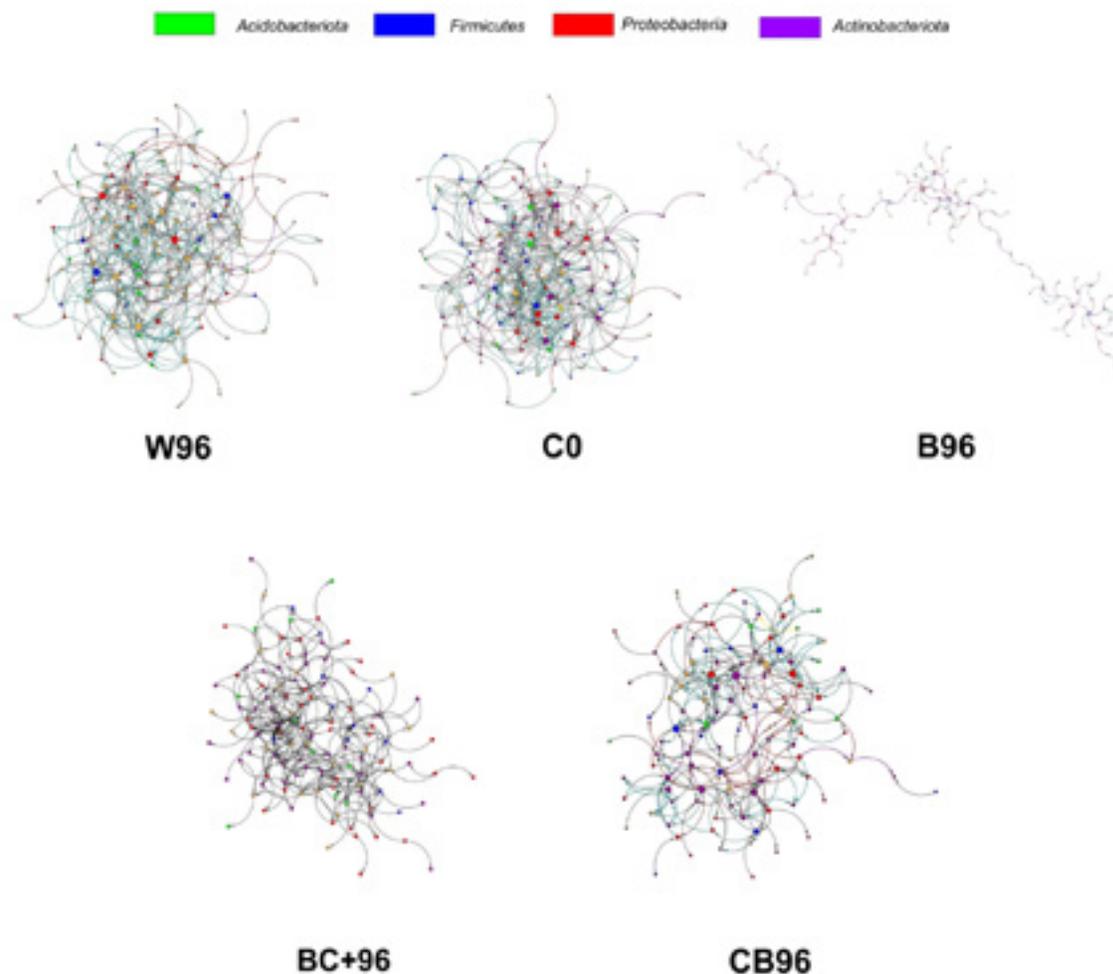


Figura 12. Redes de co-ocurrencia a nivel de filo del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Redes de co-ocurrencia basados en la correlación por el método de SPIEC-EASI (Kurtz et al. 2015) ($\text{cor} > 0.5$) de la tabla de OTUs preprocesadas en los siguientes tratamientos: W96 (agua al tiempo 96hr), C0

(cóctel de fagos M5, M8 al tiempo 0hr), B96 (inóculo de *R. solanacearum* UA1591 al tiempo 96hr), BC+96 (inóculo de *R. solanacearum* UA1591 + cóctel de fagos al tiempo +96hr) y CB96 (cóctel de fagos M5, M8 + inóculo de *R. solanacearum* UA1591 al tiempo 96hr). Los nodos tienen colores con respecto a su identidad taxonómica a nivel de filo (Acidobacteriota, Firmicutes, Proteobacteria y Actinobacteriota). Las conexiones entre los nodos representan la cercanía a otros nodos (azul: más cercano, rojo: más lejano). El tamaño del nodo indica también su grado de conectividad.

Tabla 6. Estadísticas de las redes de co-ocurrencia del microbioma de la rizósfera del plátano bajo diferentes tratamientos. Estadísticas de la estructura de las redes de co-ocurrencia bajo los tratamientos W96 (tratamiento aplicación de agua, tiempo 96hr), C0 (tratamiento aplicación del cóctel M5, M8, tiempo 0hr), B96 (tratamiento aplicación del inóculo de *R. solanacearum* UA1591, tiempo 96hr), BC96 (tratamiento aplicación inóculo de *R. solanacearum* UA1591 y cóctel M5, M8, tiempo 96hr) y CB96 (tratamiento aplicación del cóctel M5, M8 e inóculo de *R. solanacearum* UA1591, tiempo 96hr). Se muestran estadísticas de las redes como el número de nodos y conexiones (edges), cercanía de los nodos (avg. number of neighbors), el coeficiente de clusterización y la densidad de la red.

Network statistics	W96	C0	B96	BC96	CB96
Number of nodes	132	138	131	109	123
Number of edges	356	375	133	222	276
Avg.number of neighbors	5394	5435	2.242	4073	4488
Clustering coefficient	0.177	0.17	0.046	0.151	0.13
Network density	0.041	0.04	0.023	0.038	0.037

A partir de las estadísticas de las redes de co-ocurrencia y de la visualización de las redes, se observó que la aplicación del inóculo de *R. solanacearum* UA1591 en el tiempo 96hrs (B96) tuvo el mayor impacto en la estructura de la red (**Figura 12**). Adicionalmente, los tratamientos donde se aplicaron la bacteria (*R. solanacearum* UA1591) y el cóctel M5, M8 (BC96, CB96) tuvieron la menor cantidad de nodos (filos bacterianos) en sus redes (**Figura 12**). Sin embargo, su estructura y densidad fue similar a la red de los tratamientos de la aplicación del agua y el cóctel M5, M8 (W96, C0). En cambio, el tratamiento B96 a pesar de tener una cantidad parecida de nodos (131) al tratamiento de agua y cóctel M5, M8, obtuvo una menor cercanía, clusterización y densidad. Lo cual se corrobora con la visualización de las redes (**Figura 12**), siendo la red B96 la más dispersa y con menos cantidad de conexiones (133). Estos resultados concuerdan con lo reportado para *R. solanacearum* en la rizósfera del tomate, donde una alta abundancia de ésta, conlleva a una disminución en las conexiones, por ende, a una alteración de la estructura de la red (Wen et al. 2020). Asimismo, los filos más comunes en la red de co-ocurrencia del microbioma del plátano fueron Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria y Firmicutes, coincidiendo con lo reportado por Wen et al., 2020 en la rizósfera del tomate, siendo los filos Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria y Chloroflexi los más comunes. En general, la aplicación del inóculo de *R. solanacearum* UA1591 con el cóctel de fagos

M5, M8 tuvo un efecto similar al tratamiento agua (W96) en la estructura de las redes de co-ocurrencia. Esto puede indicar que, en las condiciones experimentales establecidas para el ensayo en la parcela experimental, los fagos M5 y M8 por sí solos, no presentaron un efecto diferencial en la estructura de las redes de co-ocurrencia del microbioma.

5.7.3.2. Actinobacterias. En total, se obtuvieron 37 aislamientos de actinobacterias. Estas fueron aisladas de muestras de suelo de Urabá y otras regiones del país. Inicialmente, en el ensayo preliminar (screening) de antagonismo se encontraron 14 (**Tabla 7**) con actividad contra *R. solanacearum* UA1591 y/o *Ralstonia sp.* RS 047, de estas, siete actinobacterias tuvieron actividad contra *R. solanacearum* UA1591 y 10 actividad antagonista frente a *Ralstonia sp.* RS 047, siendo que, tres aislamientos; U-P.5.6.3, U-P.2.2.3 y U-11 demostraron inhibición contra ambas cepas fitopatógenas. El aislamiento U-P.5.6.3 presentó la mayor actividad frente a *R. solanacearum* UA1591 y *Ralstonia sp.* RS 047, con un halo de 1.37 cm y 1.5 cm respectivamente (**Tabla 7**).

Tabla 7. Evaluación de la actividad antagónica *in vitro* de aislamientos de actinobacterias de la rizosfera de plátano

Aislamiento	Cualitativo		Cuantitativo	
	Screening RS047	Screening UA1591	Halo frente a RS047 (cm)	Halo frente a UA1591 (cm)
U-P.2.2.3	+	+	0.95	0.47
U-P.5.2.3	+	-	0.18	-
U-P.2.1.5	+	-	0.15	-
U-P.2.4.3	+	-	0.23	-
U-P.5.4.3	+	-	0.18	-
U-11	+	+	0.67	0.46
U-P.3.5.4	+	-	0.19	-
U-P.5.6.3	+	+	1.5	1.37
U-P.2.1.3	+	-	0.14	-
U-P.3.3.3	+	-	0.15	-
U-A.2.1	-	+	-	0.17
U-A.2.5	-	+	-	0.18
U-B.6.3	-	+	-	0.15
U-B.9.2	-	+	-	0.16

Abreviaciones: (+) Actividad positiva; (-) Actividad negativa

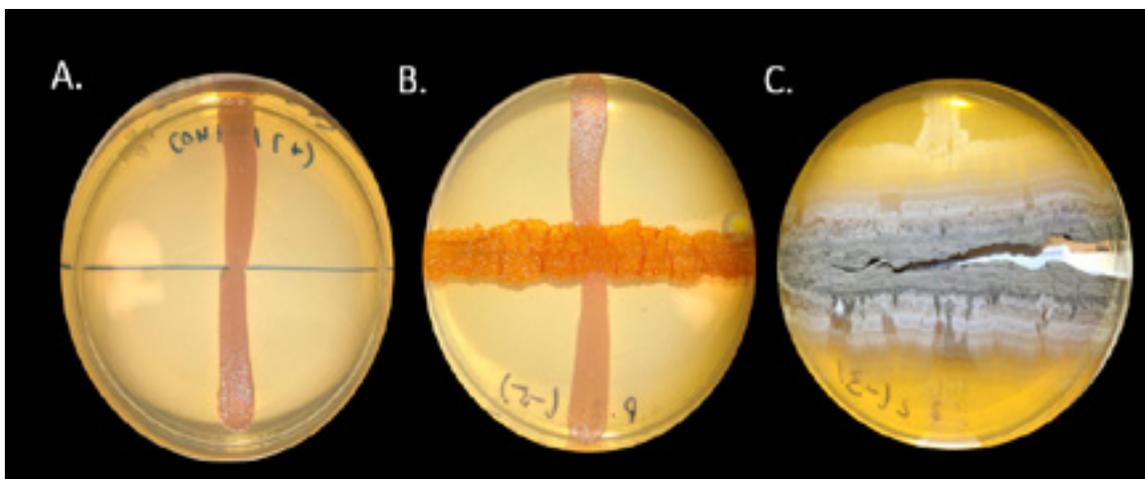


Figura 14: Prueba preliminar de antagonismo (Screening) con *Ralstonia* sp. **A.** Control positivo de *Ralstonia* sp. **B.** Actinobacteria negativa para actividad de antagonismo contra *Ralstonia* sp. **C.** Actinobacteria positiva para actividad antagonista contra *Ralstonia* sp. (U-P.2.2.3).

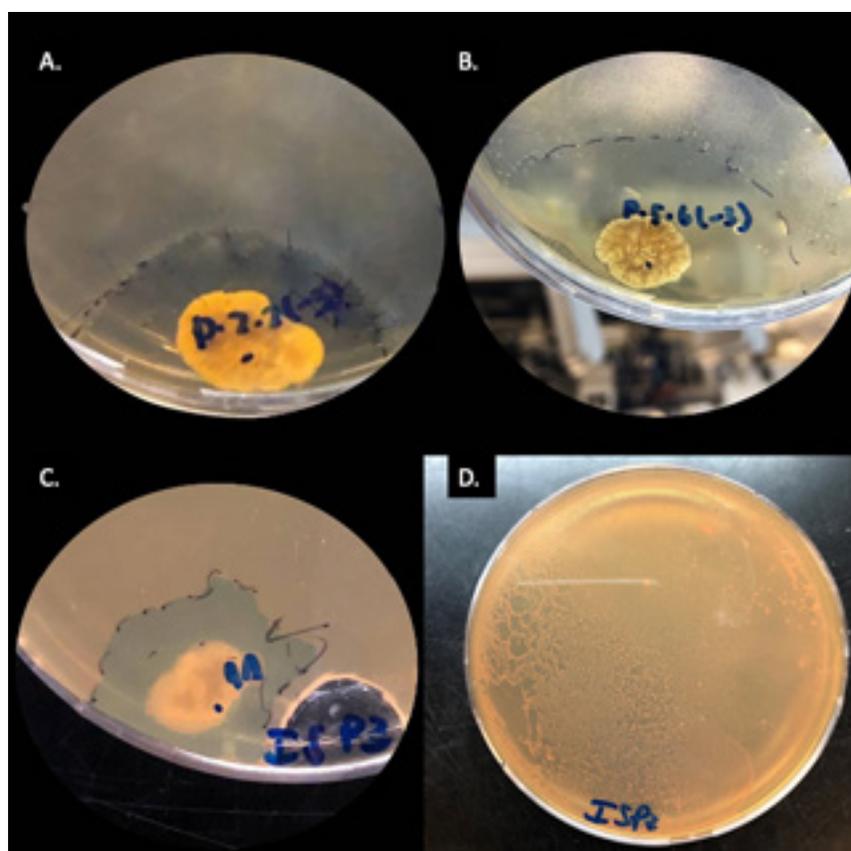


Figura 15 Prueba cuantitativa de antagonismo de actinobacteria contra *Ralstonia solanacearum* UA1591 **A.** Halo de Inhibición de U-A.2.2.3 **B.** Halo de Inhibición de U-P.5.6.3 **C.** Halo de Inhibición de U-11 **D.** Control positivo de *Ralstonia* sp.

Los tres aislamientos con mayor actividad presentaron micelio aéreo en tonalidades grises y blancas, así como la liberación de pigmentos en el medio (ISP2), de color rojo (U-P.5.6.3) y amarillo (U-P.2.2.3), el aislamiento (U-11) no produjo ningún pigmento visible en el medio. Respecto a la tinción de Gram, se evidenció los filamentos característicos de este grupo de bacterias, las tres fueron Gram positivas, Asimismo, se evidenció la formación de estructuras en forma de cadenas de esporas en espiral típicas del género *Streptomyces*.

5.7.3.3. Potencial bioactivo de actinobacterias contra *R. solanacearum*. El aislamiento U-P.5.6.3 mostró alta actividad contra *R. solanacearum* UA1591 y *Ralstonia* sp. RS 047. Esto se observó tanto en pruebas preliminares de antagonismo como con las pruebas con extractos acuosos y orgánicos (**Figura 17**). Con el extracto orgánico obtenido con acetato de etilo se obtuvo una masa total de 141 mg de extracto bruto. Inicialmente se evaluaron las concentraciones de 10, 5 y 2.5 mg/mL donde se evidenció actividad inhibitoria similar, demostrando que, este aislamiento produce metabolitos que presentan actividad contra *R. solanacearum* UA1591 y *Ralstonia* sp. RS 047. aún en bajas concentraciones.

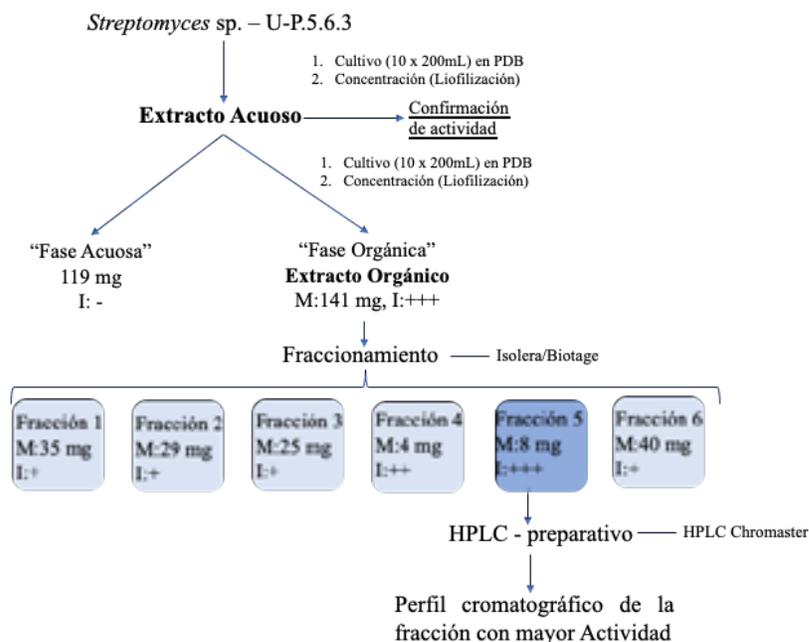


Figura 16. Flujograma del estudio químico del extracto orgánico de la actinobacteria *Streptomyces* sp. U-P.5.6.3. M: masa del extracto o fracción. I: Inhibición de *Ralstonia solanacearum* UA 1591.

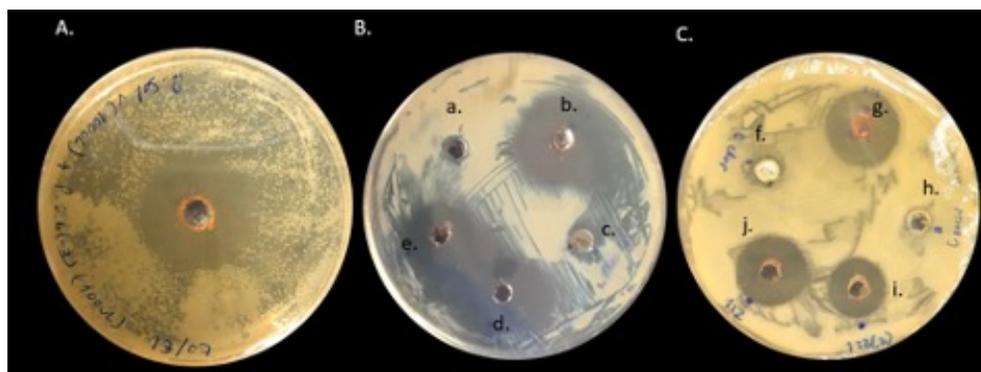


Figura 17 Resultado de los ensayos por método de difusión de pozos de agar del aislamiento U-P.5.6.3. **A.** Halo formado a partir de 100 μ L de extracto acuoso. **B.** Halos formados a partir del ensayo de difusión de pozos de agar de 24h, con 100 μ L de extracto orgánico **C.** Halos formados a partir de del ensayo de difusión de pozos de agar a las 48h, con 100 μ L de extracto orgánico. **a. y h.** Control DMSO, **b. y g.** Extracto orgánico a una concentración de 10mg/mL, **c. y f.** Control de cloranfenicol (sensidisco), **d. y j.** dilución extracto orgánico a una concentración de 5mg/mL, **e. e i.** dilución extracto orgánico a una concentración de 2.5mg/mL

Como se observa en la **Figura 18**, la mayoría de moléculas presentes en la muestra absorben a longitudes de onda menores a 250nm. En la **Figura 19**, se analiza la longitud de onda donde se presentó la mayor absorbancia para la fracción analizada, la cual fue 207nm, pero, considerando la posible interferencia con la fase móvil (Metanol) empleada, se optó por seleccionar la longitud de onda 224 en la cual aún son detectables las mismas señales del caso anterior y se elimina el “ruido” por el solvente orgánico.

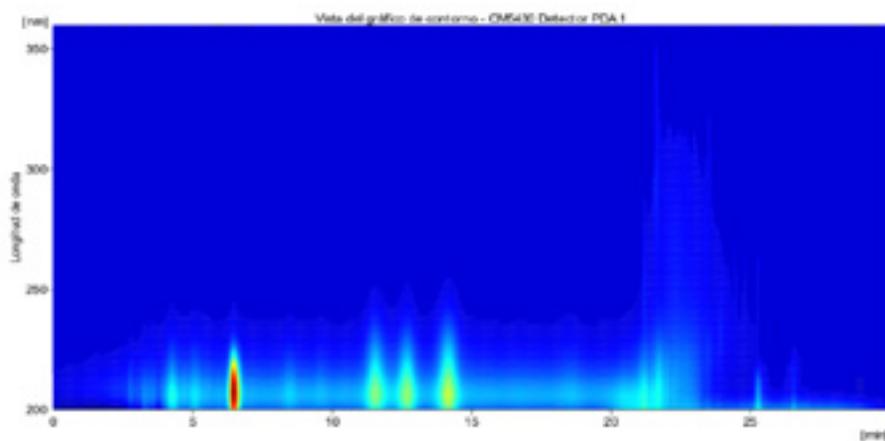


Figura 18. Análisis de señalización de diferentes longitudes de onda para la fracción 5 del extracto orgánico de U-P 5.6.3.

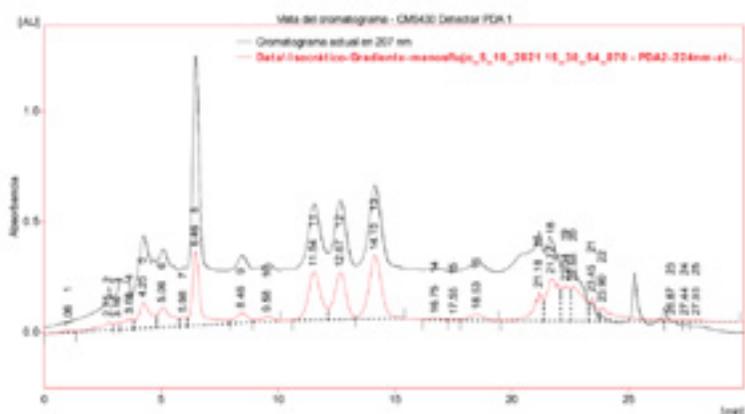


Figura 19. Comparación de diferentes longitudes de onda para la fracción 5 del extracto orgánico de U-P 5.6.3.

Tabla 8. Resumen de las principales señales detectadas en método diseñado para la fracción 5 del extracto orgánico de U-P5.6.3

Tabla de resultados (Sin cal. - Data)Isocrático-Gradiente-menosflujo_5_10_2021 15_30_54_070 - PDA2-224nm-at-Imm)

	Nombre compuesto	Tiempo Retenc. [min]	Área [mAU.s]	Altura [mAU]	Área [%]	Altura [%]	AOS [min]
1		1.060	161.782	3.449	0.2	0.1	0.58
2		2.753	1285.054	37.822	1.7	1.6	0.32
3		3.157	496.423	31.770	0.6	1.3	0.30
4		3.678	1294.275	45.117	1.7	1.9	0.58
5		4.250	4318.209	118.002	5.6	5.0	0.73
6		5.060	3493.956	89.772	4.6	3.8	0.81
7		5.985	745.813	38.529	1.0	1.6	0.34
8		6.465	8186.861	334.595	10.7	14.2	0.30
9		8.455	1635.741	46.426	2.1	2.0	0.51
10		9.577	840.204	22.284	1.1	0.9	0.47
11		11.543	8318.451	218.436	10.8	9.3	0.57
12		12.667	7544.490	214.155	9.8	9.1	0.54
13		14.155	11085.930	287.552	14.4	12.2	0.57
14		16.747	246.283	8.333	0.3	0.4	0.48
15		17.590	54.630	2.458	0.1	0.1	0.44
16		18.527	1130.837	27.627	1.5	1.2	0.66
17		21.182	3403.393	129.420	4.4	5.5	0.38
18		21.715	6855.381	190.872	8.9	8.1	0.70
19		22.337	3895.947	159.023	5.1	6.7	0.43
20		22.675	5725.482	158.856	7.5	6.7	0.77
21		23.452	2102.441	107.913	2.7	4.6	0.38
22		23.900	3279.215	63.794	4.3	2.7	0.55
23		26.872	273.198	7.692	0.4	0.3	0.70
24		27.440	87.084	6.893	0.1	0.3	0.25
25		27.928	265.615	7.051	0.3	0.3	0.37
		Total	76726.695	2357.841	100.0	100.0	

De las principales señales caracterizadas por el método diseñado, se destacan la señal número 8, con tiempo de retención (TR) de 6.46 min, la señal 11, con TR de 11.54min, la 12 con TR de 12.67min y la señal 14 con un TR de 13.15 min. Por la intensidad de la señal

que presentan, estos “picos” se pueden considerar priorizados en una eventual continuidad en la caracterización e identificación de los posibles compuestos activos responsables de la actividad de la fracción analizada contra *R. solanacearum* UA1591.

En el año 2013, otro aislamiento de esta especie *S. bungoensis* MJM2077 fue descrito como productor de “echinomycin” (en inglés) un potente antibiótico con efecto contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y *Enterococcus* resistente a vancomicina (Cheng et al., 2013), lo que confirma el potencial productor de metabolitos secundarios de aislamientos asociados a dicha especie de actinobacteria.

5.7.3.4. Diversidad genética de los aislamientos seleccionados. El secuenciamiento del gen 16S rRNA ha sido ampliamente usado como una herramienta básica para la identificación de microorganismos, de igual forma es una estrategia ampliamente usada para conocer la diversidad microbiana en diferentes ambientes naturales (Solanki et al., 2014). Los fragmentos obtenidos de los tres aislamientos seleccionados (tamaño entre 1.430-1.478 pb) permitieron realizar un alineamiento del gen casi completo (aproximadamente 1.500 pb) al ser comparados con secuencias de aislamientos “tipo” depositados en bases de datos especializadas en este tipo de genes como lo son Ezbiocloud (Kim et al., 2012). Dichas comparaciones mostraron que los tres secuencias consenso tienen alto porcentaje de similitud con especies del genero *Streptomyces*.

Tabla 9. Afiliación genética usando el gen 16S rRNA de los aislamientos de actinobacterias con mejor actividad antagonica contra *R. solanacearum*.

Aislamiento	Especie más próxima	Código de acceso	Similaridad (%)
U-P.5.6.3	<i>Streptomyces bungoensis</i> DSM 41781 ^(T)	KQ948892	98,30
U-P.2.2.3	<i>Streptomyces parvulus</i> NBRC 13193 ^(T)	AB184326	99,22
U-11	<i>Streptomyces shaanxiensis</i> CCNWHQ 0031 ^(T)	FJ465151	98,87

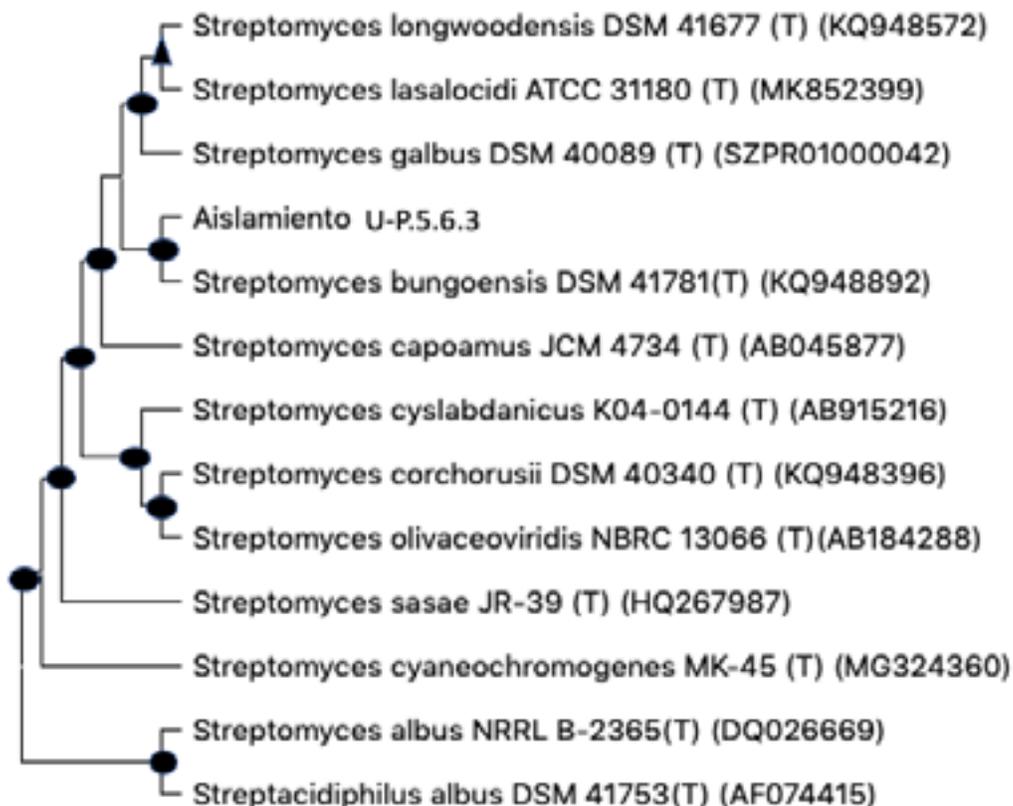


Figura 20. Árbol consenso de la secuencia parcial 16SrRNA del aislamiento U-P.5.6.3 y sus correspondientes especies tipo más próximas, usando el algoritmo evolutivo Maximum Likelihood, Neighbor-Joining y Maximum Parsimony. En cada caso, se usó el modelo Tamura Nei y se empleó el método estadístico de Bootstrap usando 1.000 réplicas. Los nodos que se presentaron en los tres arboles se referencian con el círculo negro, los nodos que se presentaron usando Maximum Likelihood y Maximum Parsimony se representan con triángulo negro.

El aislamiento U-P.5.6.3 presentó una similitud de 98,30% con la especie tipo *Streptomyces bungoensis* DSM41781^(T) (**Tabla 9**) esta especie, descrita por Eguchi et al., (1993) fue aislada de muestras de suelo de Japón. Dicho valor de similitud puede indicar que el aislamiento U-P.5.6.3 sea especie nueva de este genero, para confirmarlo, resulta primordial realizar evaluaciones adicionales de tipo quimiotaxonomicas, fisiológicas y genéticas con el fin de esclarecer el posicionamiento filogenético de dicho aislamiento dentro del genero *Streptomyces*.

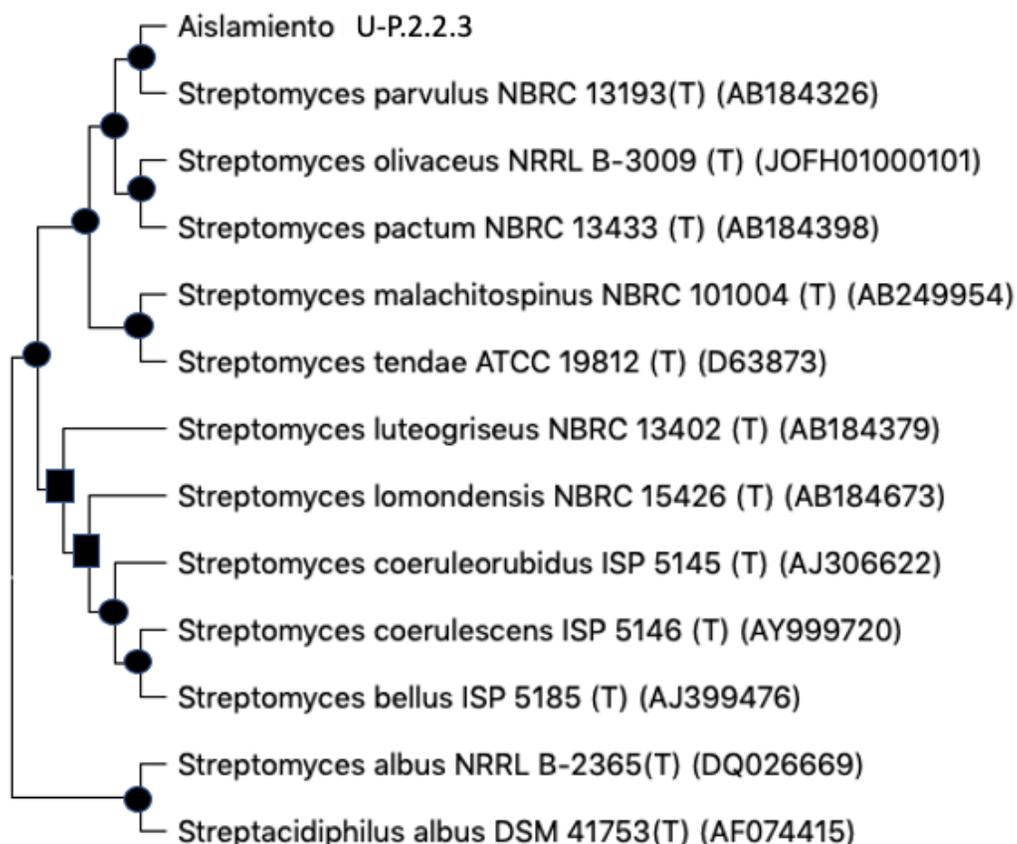


Figura 21. Árbol consenso de la secuencia parcial 16SrRNA del aislamiento U-P.2.2.3 y sus correspondientes especies tipo más próximas, usando el algoritmo evolutivo Maximum Likelihood, Neighbor-Joining y Maximum Parsimony. En cada caso, se usó el modelo Hasegawa Kishino Yono y se empleó el método estadístico de Bootstrap usando 1.000 réplicas. Los nodos que se presentaron en los tres árboles se referencian con el círculo negro, los nodos que se presentaron usando Neighbor-Joining y Maximum Parsimony se representan con cuadrado negro.

El aislamiento U-P.2.2.3 presentó similitud de 99,22% con la especie tipo *Streptomyces parvulus* NBRC 13193^(T) descrito inicialmente por Waksman y Gregory (1954). Linajes asociados a esta especie han sido descritos como destacados productores de productos antibióticos, como es el caso de *S. parvulus* RSPSN2 productor de actinomicina D con efecto contra algunas especies de *Pseudomonas* patogénicas (Shetty et al., 2014). El aislamiento de *S. parvulus* VITJS11 extraído de suelo marino en la costa este de la India, fue descrito como destacado productor de compuestos con capacidad antimicrobiana, antioxidantes y citotóxicas (Naine et al., 2015).

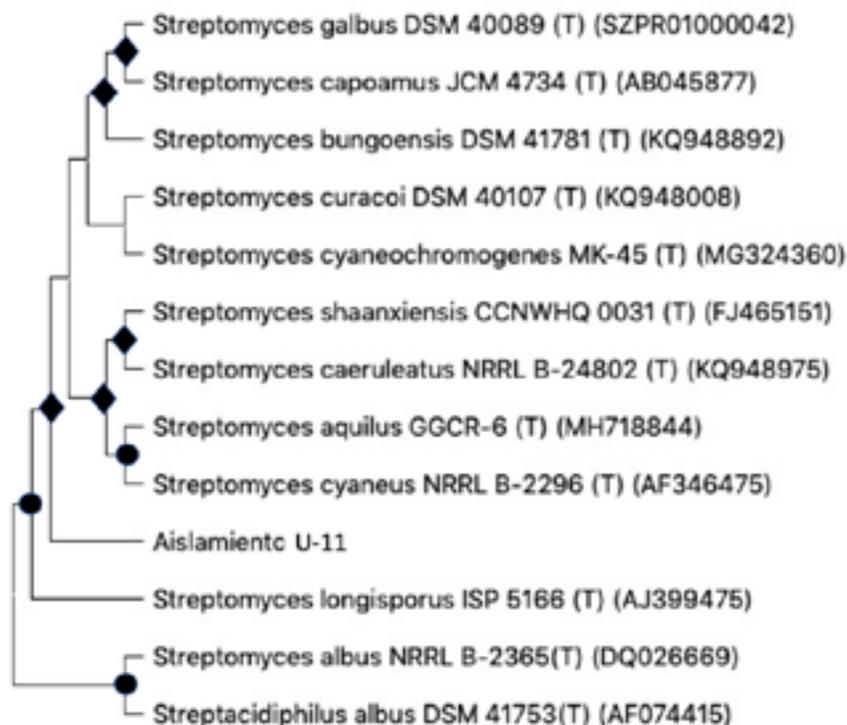


Figura 22. Árbol consenso de la secuencia parcial 16SrRNA del aislamiento U-P.2.2.3 y sus correspondientes especies tipo más próximas, usando el algoritmo evolutivo Maximum Likelihood, Neighbor-Joining y Maximum Parsimony. En cada caso, se usó el modelo Tamura Nei y se empleó el método estadístico de Bootstrap usando 1.000 réplicas. Los nodos que se presentaron en los tres árboles se referencian con el círculo negro, los nodos que se presentaron usando Maximum Likelihood y Neighbor-Joining se representan con rombo negro.

Por último, el aislamiento U-11 se relacionó más con la especie tipo *Streptomyces shaanxiensis* CCNWHQ 031^(T) con un porcentaje de similitud de 98,87%, esta especie, descrita por Lin et. al., (2012) a partir de muestras de suelo de un sistema de riego de aguas residuales de la provincia de Shaanxi, China., esta especie es conocida por la destacada producción de pigmentos extracelulares.

Considerando este panorama, resulta interesante conocer potencial metabólico y genético de microorganismos de la región de Urabá provenientes de ecosistemas netamente agrícolas, como nicho de interesantes microorganismos con potencial de ser usados como herramientas alternativas para el manejo de enfermedades graves para la industria de la subregión.

5.7.4. Conclusiones

- Con los análisis realizados se pudo evidenciar que la aplicación del coctel de fagos no afectó la estructura de la comunidad microbiana presente en la rizosfera de las plantas de plátano.
- La diversidad microbiana, así como la funcionalidad asociada al microbioma analizado, no fue alterada luego de la presencia de los fagos en el suelo de las plantas de plátano.
- Existen aislamientos de actinobacterias procedentes de la rizosfera de plantas de plátano de la región de Urabá, que poseen la capacidad de inhibir *Ralstonia solanacearum* en condiciones de laboratorio, resulta primordial evaluar estos aislamientos en condiciones de invernadero y campo experimental, con el fin de ratificar su potencial como posibles herramientas de control biológico.
- Se pudo identificar tres aislamientos con destacada antibiosis contra *Ralstonia solanacearum*, futuros estudios deberían ser encaminados a dilucidar las rutas metabólicas y sus subsecuentes subproductos, con el fin de identificar el(los) principio(s) activo(s) asociados al efecto inhibitorio de las actinobacterias que puedan constituir productos agrobiológicos de uso en la región de Urabá.
- Los muestreos sistemáticos de suelos de la región de Urabá, evidenciaron presencia significativa de géneros de actinobacterias asociados a capacidades destacadas de biocontrol y producción metabólica como lo es el género *Streptomyces*.
- Con la realización de este estudio, se pudo identificar uno de estos aislamientos como candidato a especie nueva del género *Streptomyces*, evaluaciones complementarias deben ser realizadas con la intención de confirmar su posicionamiento filogenético y ratificar su condición de especie nueva.
- La prospección de la estructura, diversidad y funcionalidad microbiana analizada con la realización de esta propuesta, arrojó resultados inéditos para el cultivo del plátano.
- Un considerable valor agregado adquirió la realización de esta propuesta de investigación, debido a que se exploraron estrategias no comunes que puedan ser integradas en el manejo de una enfermedad de alta relevancia para un importante sector agrícola del país.

7.5. Referencias bibliográficas

- Allaire, J. (2012). RStudio: integrated development environment for R. *Boston, MA*, 770(394), 165-171.
- Álvarez E, Pantoja A, Gañan L, Ceballo G.(2013). Estado del arte y opciones de manejo del moko y la sigatoka negra en América latina y el caribe. http://www.fao.org/a/c/f/i/l/e/m/e/d/i/a/p/u/b/s/2013/MOKO_Y_SIGATOKA_NEGRA_completo_sep2013.pdf. Andrews S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
- Bateman, A., Coin, L., Durbin, R., Finn, R. D., Hollich, V., Griffiths-Jones, S., ... & Eddy, S. R. (2004). The Pfam protein families database. *Nucleic acids research*, 32(suppl_1), D138-D141.
- Beghini, F., Mclver, L. J., Blanco-Míguez, A., Dubois, L., Asnicar, F., Maharjan, S., ... & Segata, N. (2021). Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3. *Elife*, 10, e65088.
- Beghini, F., Mclver, L. J., Blanco-Míguez, A., Dubois, L., Asnicar, F., Maharjan, S., ... & Segata, N. (2021). Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3. *Elife*, 10, e65088.
- Blin, K., Shaw, S., Kloosterman, A. M., Charlop-Powers, Z., van Wezel, G. P., Medema, M. H., & Weber, T. (2021). antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities. *Nucleic acids research*, 1.
- Blomme, G., Dita, M., Jacobsen, K.S., Pérez-Vicente, L., Molina, A., Ocimati, W., Poussier, S. & Prior, P. (2017). Bacterial diseases of bananas and enset: Current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management. *Frontiers in Plant Science*. 8:1290
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., ... & Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*, 37(8), 852-857.
- Bushnell, B. (2014). *BBMap: a fast, accurate, splice-aware aligner* (No. LBNL-7065E). Lawrence Berkeley National Lab.(LBNL), Berkeley, CA (United States).
- Chambers, J. M. (2008). *Software for data analysis: programming with R* (Vol. 2). New York: Springer.
- Cheng, J., Jin, YY., Yang, S.H. *et al.* Isolation and characterization of anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* / vancomycinresistant *Enterococcus* compound from *Streptomyces bungoensis* MJM 2077. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **56**, 107-111 (2013). <https://doi.org/10.1007/s13765-012-2227-x>
- Choby, J. E., & Skaar, E. P. (2016). Heme synthesis and acquisition in bacterial pathogens. *Journal of molecular biology*, 428(17), 3408-3428.

- Csardi, G., & Nepusz, T. (2006). The igraph software package for complex network research. *InterJournal, complex systems*, 1695(5), 1-9.
- Dalsing, B. L., Truchon, A. N., Gonzalez-Orta, E. T., Milling, A. S., & Allen, C. (2015). *Ralstonia solanacearum* uses inorganic nitrogen metabolism for virulence, ATP production, and detoxification in the oxygen-limited host xylem environment. *MBio*, 6(2), e02471-14.
- Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J. R., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., ... & Langille, M. G. (2020). PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature Biotechnology*, 38(6), 685-688.
- Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., ... & Langille, M. G. (2020). PICRUSt2: An improved and customizable approach for metagenome inference. *BioRxiv*, 672295.
- Eguchi T, Takada N, Nakamura S, Tanaka T, Makino T, Oshima Y (1993). *Streptomyces bungoensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **43**, 794-798.
- Esmaeel, Q., Pupin, M., Kieu, N. P., Chataigné, G., Béchet, M., Deravel, J., ... & Leclère, V. (2016). Burkholderia genome mining for nonribosomal peptide synthetases reveals a great potential for novel siderophores and lipopeptides synthesis. *MicrobiologyOpen*, 5(3), 512-526.
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., & Käller, M. (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, 32(19), 3047-3048.
- Horng, Y. B., Yu, Y. H., Dybus, A., Hsiao, F. S. H., & Cheng, Y. H. (2019). Antibacterial activity of Bacillus species-derived surfactin on *Brachyspira hyodysenteriae* and *Clostridium perfringens*. *AMB Express*, 9(1), 1-9.
- Jacques, P. (2011). Surfactin and other lipopeptides from *Bacillus* spp. In *Biosurfactants* (pp. 57-91). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezuk, Y., McGinnis, S., & Madden, T. L. (2008). NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*, 36(suppl_2), W5-W9.
- Juan, C., Torrens, G., Barceló, I. M., & Oliver, A. (2018). Interplay between peptidoglycan biology and virulence in Gram-negative pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 82(4), e00033-18.
- Kang, D. D., Li, F., Kirton, E., Thomas, A., Egan, R., An, H., & Wang, Z. (2019). MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ*, 7, e7359.
- Kautsar, S. A., Blin, K., Shaw, S., Navarro-Muñoz, J. C., Terlouw, B. R., van der Hooft, J. J., ... & Medema, M. H. (2020). MIBiG 2.0: a repository for biosynthetic gene clusters of known function. *Nucleic acids research*, 48(D1), D454-D458.
- Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, Park SC, Jeon YS, Lee JH, Yi H, Won S, Chun J, (2012) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International*

- Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 62, pt. 3, p. 716-721, 2012.
- Kloosterman, A. M., Shelton, K. E., van Wezel, G. P., Medema, M. H., & Mitchell, D. A. (2020). RRE-Finder: a genome-mining tool for class-independent RiPP discovery. *Msystems*, 5(5), e00267-20.
- Kolde, R., & Kolde, M. R. (2015). Package 'pheatmap'. *R package*, 1(7), 790.
- Kurtz, Z. D., Müller, C. L., Miraldi, E. R., Littman, D. R., Blaser, M. J., & Bonneau, R. A. (2015). Sparse and compositionally robust inference of microbial ecological networks. *PLoS computational biology*, 11(5), e1004226.
- Kurtz, Z. D., Müller, C. L., Miraldi, E. R., Littman, D. R., Blaser, M. J., & Bonneau, R. A. (2015). Sparse and compositionally robust inference of microbial ecological networks. *PLoS computational biology*, 11(5), e1004226.
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods*, 9(4), 357-359.
- Lei, S., Xu, X., Cheng, Z., Xiong, J., Ma, R., Zhang, L., ... & Tian, B. (2019). Analysis of the community composition and bacterial diversity of the rhizosphere microbiome across different plant taxa. *MicrobiologyOpen*, 8(6), e00762.
- Li, D., Liu, C. M., Luo, R., Sadakane, K., & Lam, T. W. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 31(10), 1674-1676.
- Ling, L.; Han, X.; Li, X.; Zhang, X.; Wang, H.; Zhang, L.; Cao, P.; Wu, Y.; Wang, X.; Zhao, J.; Xiang, W. A *Streptomyces* sp. NEAU-HV9: Isolation, Identification, and Potential as a Biocontrol Agent against *Ralstonia solanacearum* of Tomato Plants. *Microorganisms* **2020**, 8, 351. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030351>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.
- Ombiro, G.S., Sawai, T., Noutoshi, Y., Nishina, Y., Matsui, H., Yamamoto, M., Toyoda, K., Ichinose, Y. (2018). Specific growth inhibitors of *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *X. campestris* pv. *campestris*, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Microbiological Research*, 215: 29-35, ISSN 0944-5013, <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.06.005>.
- Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., & Tyson, G. W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome research*, 25(7), 1043-1055.
- Roure, S., Bonis, M., Chaput, C., Ecobichon, C., Mattox, A., Barrière, C., ... & Boneca, I. G. (2012). Peptidoglycan maturation enzymes affect flagellar functionality in bacteria. *Molecular microbiology*, 86(4), 845-856.
- Selengut JD, Haft DH, Davidsen T, Ganapathy A, Gwinn-Giglio M, Nelson WC, et al. TIGRFAMs and Genome Properties: tools for the assignment of molecular

- function and biological process in prokaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.* 2007;35: D260-4.
- Sen, R. (2010). Surfactin: biosynthesis, genetics and potential applications. *Biosurfactants*, 316-323.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., ... & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, 13(11), 2498-2504.
- Shetty, P. R., Buddana, S.K., Tatipamula, V.B., Naga, Y. V. V., Ahmad. J. Production of polypeptide antibiotic from *Streptomyces parvulus* and its antibacterial activity. *Brazilian Journal of Microbiology* 45, 1, 303-312 (2014).
- Sieber, C. M., Probst, A. J., Sharrar, A., Thomas, B. C., Hess, M., Tringe, S. G., & Banfield, J. F. (2018). Recovery of genomes from metagenomes via a dereplication, aggregation and scoring strategy. *Nature microbiology*, 3(7), 836-843.
- Solanki MK, Singh RK, Srivastava S, Kumar S, Kashyap PL, Srivastava AK, Arora DK, (2014) Isolation and characterization of siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*. *J. Basic Microbiol.* 54:6;585-597
- Suhaimi, N. S. M., Goh, S. Y., Ajam, N., Othman, R. Y., Chan, K. G., & Thong, K. L. (2017). Diversity of microbiota associated with symptomatic and non-symptomatic bacterial wilt-diseased banana plants determined using 16S rRNA metagenome sequencing. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(9), 1-10.
- Tans-Kersten, J., Huang, H., & Allen, C. (2001). *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of bacteriology*, 183(12), 3597-3605.
- Valdez-Nunez, R. A., Ríos-Ruiz, W. F., Ormeno-Orrillo, E., Torres-Chávez, E. E., & Torres-Delgado, J. (2020). Caracterización genética de bacterias endofíticas de arroz (*Oryza sativa* L.) con actividad antimicrobiana contra *Burkholderia glumae*. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(4), 315-327.
- Waksman, S.A., and Gregory, F.J. "Actinomycin. II. Classification of organisms producing different forms of actinomycin." *Antibiot. Chemother.* (1954) 4:1050-1056.
- Wen, T., Zhao, M., Liu, T., Huang, Q., Yuan, J., & Shen, Q. (2020). High abundance of *Ralstonia solanacearum* changed tomato rhizosphere microbiome and metabolome. *BMC plant biology*, 20(1), 1-11.
- Wickham, H., Chang, W., & Wickham, M. H. (2016). Package 'ggplot2'. *Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics. Version, 2(1)*, 1-189.
- Wu, Y. W., Simmons, B. A., & Singer, S. W. (2016). MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 32(4), 605-607.
- Yue, Y., Huang, H., Qi, Z., Dou, H. M., Liu, X. Y., Han, T. F., ... & Tu, J. (2020). Evaluating metagenomics tools for genome binning with real metagenomic datasets and CAMI datasets. *BMC bioinformatics*, 21(1), 1-15.

8. ESTANDARIZACIÓN DE UNA PCR CONVENCIONAL PARA EL DIAGNÓSTICO DE *Dickeya* sp., EN CULTIVOS DE BANANO

Autores: Daniel Osorio Giraldo, Luz Edith Argel Roldán, Mónica Patricia David González, Andrés Mauricio Pinzón Núñez, Juan Esteban Pérez Jaramillo y Sebastián Zapata Henao.

Resumen

El banano es uno de los cultivos más importantes de Colombia junto al café, la caña, y el cacao; con zonas de producción en distintas regiones del país, como el Urabá del departamento de Antioquia, en el norte del departamento del Magdalena y en el departamento de la Guajira. La pudrición acuosa del pseudotallo es una enfermedad que afecta en gran medida los cultivos de banano, y se han reportado distintos agentes causales como las bacterias *Dickeya* sp., *Pectobacterium carotovorum* y *Klebsiella variicola*. La identificación precisa del agente o los agentes causales es necesaria para asegurar un manejo adecuado de la enfermedad. Este estudio tiene como objetivo diseñar un protocolo para el diagnóstico de *Dickeya* sp., en cultivos de banano mediante PCR convencional, por lo que propone un protocolo de PCR para el diagnóstico de la enfermedad en cultivos de banano. Se realizaron aislamientos de bacterias asociadas a la enfermedad, y se realizó una caracterización morfológica de los aislados. Los primers para la reacción de PCR se diseñaron a partir de un segmento del gen *dnaJ* con secuencias de ADN de especies del género *Dickeya* disponibles en la base de datos del NCBI. Los resultados de amplificación por PCR del ADN genómico de 37 cepas aisladas confirmaron que los primers PFD-PRD tienen la capacidad de detectar bacterias asociadas a daños en los cultivos de banano. El ensayo propuesto se desarrolló originalmente como una PCR convencional para la detección del género *Dickeya* sp., pero posteriormente se encontró, con base en la identificación molecular mediante ARNr 16S, que los primers pueden amplificar regiones de las bacterias *Klebsiella variicola*, *Kosakonia oryzendophytica*, *Ochrobactrum pseudogrignonense*, y *Pectobacterium carotovorum*, por lo cual se concluye que el protocolo desarrollado podría ser útil para el diagnóstico oportuno de la pudrición acuosa del pseudotallo.

Palabras Clave: *Musa* sp., Pudrición de pseudotallo, *Dickeya* sp., Diagnóstico molecular, Reacción en cadena de la polimerasa.

5.8.1. Introducción.

El cultivo de banano es uno de los más importantes en Colombia, con más de 50000 ha sembradas en 2019, con un valor de exportaciones cercano a los 850 millones de dólares en el 2019 (Unidad de Planificación Rural Agropecuaria - UPRA, 2020), y más de 900 millones en el 2020 (Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA), 2020). Este fruto brinda, además, un gran dinamismo a la economía del país, con numerosos puestos de trabajo, y con aportes al PIB de las regiones, principalmente en la región bananera del departamento de Antioquia, con un aporte de más del 85% (Sánchez, 2021). Entre las enfermedades más limitantes de la producción en el cultivo del banano en Colombia se encuentran la marchitez por *Fusarium* Raza 4 Tropical, ocasionada por el hongo del suelo, *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense, el cual causa

la muerte a la planta e inhabilita el suelo para posteriores siembras. La Sigatoka negra generada por el hongo *Pseudocercospora Fijiensis*, que produce daño en las hojas y requiere de un intensivo trabajo de control. En cuanto a enfermedades bacterianas, el "Moko, patología causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum*, que además de matar las plantas, hace necesaria la erradicación del cultivo para evitar su propagación al resto de las plantaciones (Red Agrícola, 2020).

Entre las enfermedades bacterianas responsable de pérdidas de rendimiento y de baja productividad en los cultivos, se encuentra la pudrición acuosa del pseudotallo, enfermedad que al parecer es causada por la bacteria *Dickeya* sp, según los reportes de Ramírez et al., en 2014. Esta enfermedad en banano se caracteriza por una descomposición blanda de mal olor en el rizoma y por el avance hacia el pseudotallo, y posteriormente al fruto, lo que provoca la destrucción del punto de crecimiento y la podredumbre interna que suele ir acompañada de una decoloración vascular (Premabati & De Mandal, 2020). Además de esto, diferentes especies del género *Dickeya* sp, han sido catalogadas como algunas de las bacterias de mayor importancia que limitan el rendimiento y la calidad de los cultivos (Mansfield et al., 2012).

Dickeya sp. es una bacteria patógena aerobia, Gram negativa, no esporulada, con flagelos peritricos, que aparece sola o en pares. Las colonias en agar nutritivo después de 48 h son de color blanco a gris claro, tienen bordes irregulares, crecimiento granular fino y después de 4 días muestran un centro ascendente bien definido (Romero et al., 2020). Sin embargo, debido a la diversidad genética que presenta, la clasificación de este género ha sido objeto de una amplia investigación taxonómica y de muchas revisiones a lo largo de los años (Zhang et al., 2016), lo cual limita el diseño de métodos de detección específicos que permitan detectar e identificar la bacteria de manera oportuna. En consecuencia, se hace necesario el desarrollo de métodos específicos para la correcta identificación del agente causal de la enfermedad en muestras vegetales de la planta (Nakayama et al., 2021). En ese contexto, el presente trabajo plantea la caracterización morfológica y molecular de bacterias asociadas a la pudrición de pseudotallo, y la estandarización de una PCR convencional, sensible y específica, para el diagnóstico de *Dickeya* sp. en cultivos de banano.

5.8.2. Metodología

5.8.2.1. Localización. El trabajo se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigaciones del Banano (CENIBANANO), y del laboratorio del Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia.

5.8.2.2. Colecta de Muestras. Se realizó un muestreo de tejidos de banano con presencia de síntomas asociados a la pudrición acuosa del pseudotallo en distintas fincas con plantaciones de banano. Además, se realizó un muestreo de otros tejidos de la planta con síntomas presentes, realizando un registro de la fecha de muestreo, parte de la planta muestreada, y las coordenadas del sitio de muestreo. Los tejidos colectados en campo se conservaron a 4°C hasta su procesamiento.

5.8.2.3. Aislamiento y caracterización de las bacterias. El aislamiento de las cepas bacterianas, así como su caracterización morfológica se realizó a partir de tejidos sintomáticos para la enfermedad, siguiendo la metodología descrita por Ramírez et al., (2014). Se tomaron trozos del tejido y se realizaron desinfecciones con hipoclorito [3%]

y con agua destilada estéril. Los trozos se llevaron a medio TSA (Agar tripticasa de soya) y se incubaron a 28°C hasta que se observó crecimiento de colonias bacterianas (Aproximadamente 48 h). Los repiques se realizaron en medios limpios de TSA, realizando siembras por agotamiento e incubando a 28°C por 48 h. Para la caracterización morfológica de los aislados, se realizaron siembras en medio TSA y en el medio selectivo NGM (Agar nutritivo + Glicerol [1%] + MnCl₂ [2 mM]), realizando una descripción macro y microscópica de las colonias aisladas.

5.8.2.4. Extracción de material genético. La extracción de ADN de las cepas aisladas se realizó siguiendo el protocolo descrito en el kit EZ-10 Spin Column Plant Genomic DNA Miniprep Kit (BioBasic) y en el kit DNeasy UltraClean/NoviPure Microbial Kit (Qiagen), a partir de colonias jóvenes de las bacterias. La cuantificación y evaluación de pureza del material genético se realizó usando un espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific).

5.8.2.5. Diseño de primers. Los primers para detectar *Dickeya* sp. fueron diseñados sobre el gen *dnaJ*, que codifica para una chaperona molecular, tomando como cepa de referencia a *Dickeya paradisiaca* Ech703 (NC_012880.1), cuyo genoma sirvió de referencia para la clasificación del aislado NCPPB 2511, obtenido de una planta de plátano en Colombia (Pritchard et al., 2013). Para el diseño se utilizó la herramienta Primer-BLAST del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Ye et al., 2012). El análisis termodinámico se realizó con el programa Oligoanalyzer de IDT (Integrated DNA Technologies), con el fin de analizar y prevenir la formación de estructuras secundarias en los primers.

La especificidad de los primers diseñados se evaluó computacionalmente con la herramienta BLAST, realizando alineamientos frente a otras especies del género, otros microorganismos patógenos reportados en el suelo y en la planta, y frente a las plantas hospederas: banano y plátano (*Musa* sp.).

5.8.2.6. PCR Convencional. Las condiciones de PCR se evaluaron con la amplificación de cepas aisladas compatibles con la morfología reportada para *Dickeya* sp. (Romero et al., 2020). La reacción se llevó a cabo con un volumen final de 25 µL, con los primers diseñados a una concentración de 0,1 µM (Macrogen) cada uno, 0,2 µM de los dNTP's (SMOBIO), 1X del buffer, 2 mM de MgCl₂ (Thermo), 1 U/µL de la Taq polimerasa (Thermo) y 3 µL del ADN. La amplificación se realizó en un equipo SimpliAmp Thermal Cycler de Applied Biosystems. El producto de PCR se verificó mediante una corrida en gel de agarosa a una concentración de 2% (TBE), llevando a cabo una electroforesis por 50 min a 90 V. El colorante utilizado fue Fluorostain DNA staining Dye (10000 X) (SMOBIO), y el marcador de peso fue DNA ladder 100 bp + 3k (SMOBIO).

5.8.2.7. Colony PCR. Con el fin de evaluar la posibilidad de realizar una amplificación sin necesidad de extracción de material genético, se realizó una reacción de PCR a partir de colonia directa (Colony PCR), para esto se llevó a cabo una reacción con las mismas condiciones establecidas en la PCR convencional, sustituyendo el volumen de material genético extraído con kit, por un volumen de lisado bacteriano. Para el lisado se tomó una colonia joven (24 h aproximadamente) de cada cepa, y se llevaron a un vial con 300 µL de agua destilada estéril, la suspensión bacteriana se llevó a un termobloque y se realizó un choque térmico por 10 min a 99°C.

5.8.2.8. Identificación molecular. La identificación se realizó por secuenciación del fragmento 16S ARNr, con los juegos de primers 27F-1492R y 518F-800R. Las secuencias fueron analizadas con la herramienta BLAST del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Altschul et al., 1990; Morgulis et al., 2008), para determinar el porcentaje de homología. La construcción de los árboles filogenéticos se realizó con la herramienta MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versión 11 (Tamura et al., 2021). La selección de cepas para la identificación molecular se realizó con base en la compatibilidad morfológica con *Dickeya* sp. y en las bandas obtenidas en la amplificación con los primers diseñados.

5.8.3. Resultados y discusión

5.8.3.1. Aislamiento y caracterización de las bacterias. Se obtuvo una colección de 37 cepas bacterianas aisladas de cormo (CB-DC 0001 - 0003), fruta (CB-DC 0004 - 0023), y tejidos de pseudotallo de banano (CB-DC 0024 - 0037) (**Tabla 1**). De los cuales 5 aislados presentaron una morfología similar a lo reportado para *Dickeya* sp. (Ramírez et al., 2014). Las características morfológicas corresponden a colonias de color crema, con una forma circular y convexa, el borde de las colonias es regular, y con una consistencia cremosa (Romero et al., 2020). Respecto a las características microscópicas, se observaron bacilos pequeños con una tinción Gram negativa. Además, se obtuvo un resultado positivo para la reacción catalasa. La descripción morfológica de todo el cepario se encuentra en el **Anexo 1**.

Tabla 1. Aislados bacterianos obtenidos a partir de cada tejido, y número de aislados compatibles morfológicamente con *Dickeya* sp. para cada tejido. La compatibilidad incluye características macroscópicas, microscópicas y prueba bioquímica Catalasa.

Tejido	Numero de aislados	Aislados compatibles con <i>Dickeya</i> sp.
Cormo	3	2
Fruta	20	1
Pseudotallo	14	2

5.8.3.2. Extracción de ADN. La extracción de ADN fue más eficiente utilizando el kit DNeasy UltraClean/NoviPure Microbial Kit (Qiagen), obteniendo mayores concentraciones de ADN, y valores de pureza más altos. Esto en comparación con los resultados obtenidos con el kit EZ-10 Spin Column Plant Genomic DNA Miniprep Kit (BioBasic) (**Figura 1**).

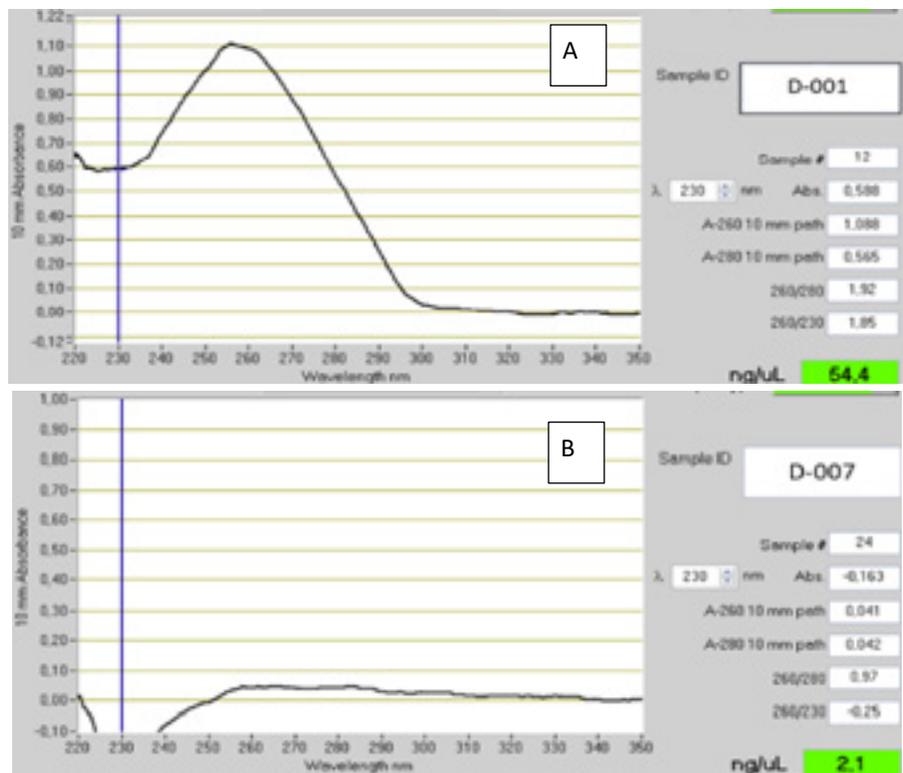


Figura 1. Concentración de ADN obtenida y parámetros de pureza (260/280) obtenida con los diferentes kits de extracción evaluados. A) Resultados con el kit DNeasy UltraClean/NoviPure Microbial Kit (Qiagen). B) Resultados con el kit EZ-10 Spin Column Plant Genomic DNA Miniprep Kit (BioBasic).

5.8.3.3. Diseño de primers. El análisis in silico de los *primers* diseñados, arrojó que el par más idóneo para la amplificación de *Dickeya* sp., es el descrito en la **Tabla 2**. Esto con base en los análisis termodinámicos que se realizaron para prevenir la formación de estructuras secundarias como homodímeros y heterodímeros, además de los alineamientos que se realizaron contra los demás organismos evaluados en la herramienta BLAST.

Tabla 2. Secuencias y características de los primers diseñados para detección de *Dickeya* sp.

Primer	Secuencia (5' - 3')	Tamaño	TM (°C)	%GC	Bases Producto
Forward (PFD)	TCACGGTAATGGACAGGTGC	20	64	55	193
Reverse (PRD)	CAGACGGATACGGTCACCAG	20	63.5	60	

5.8.3.4. PCR Convencional. De las 37 cepas evaluadas, 22 de ellas presentaron un resultado positivo en la amplificación, con fragmentos entre las 190 y 900 pb (**Tabla 3**). Respecto a las 3 cepas aisladas de corno, todas presentaron amplificación; de las cepas aisladas a partir de fruta, 9 presentaron amplificación, y de las cepas aisladas de

pseudotallo, 10 presentaron amplificación positiva. El perfil térmico utilizado para la reacción de PCR se detalla en la **Tabla 4**.

Tabla 3. Fragmentos obtenidos en la reacción de PCR con los primers diseñados PFD y PRD. Se muestran con ● las cepas que fueron identificadas molecularmente, y con ▲ las cepas con identificación pendiente.

Fragmento	Total	Cepas
900	2	CB-DC 0009 CB-DC 0030▲
650	9	CB-DC 0001● CB-DC 0002● CB-DC 0024● CB-DC 0027▲ CB-DC 0031▲ CB-DC 0034▲ CB-DC 0035▲ CB-DC 0036▲ CB-DC 0037▲
350	4	CB-DC 0004 CB-DC 0005 CB-DC 0010 CB-DC 0011
320	2	CB-DC 0013 CB-DC 0018●
300	2	CB-DC 0020 CB-DC 0021
250	1	CB-DC 0033▲
200	1	CB-DC0003●
190	1	CB-DC 0025●

Tabla 4. Perfil térmico de PCR para la amplificación de *Dickeya* sp., con los primers PFD y PRD.

Paso	Condiciones	# de Ciclos
Desnaturalización inicial	95°C / 2 min	1
Desnaturalización	95°C / 30 s	
Alineamiento	58°C / 30 s	35
Extensión	72°C / 30 s	
Extensión Final	72°C / 5 min	1

5.8.3.5. Identificación molecular. La identificación molecular realizada a las cepas seleccionadas según criterios morfológicos y amplificación positiva con los primers PFD-PRD, arrojó la presencia de 3 cepas de *Klebsiella variicola*, 1 cepa de *Kosakonia oryzendophytica*, 1 cepa de *Ochrobactrum pseudogrignonense*, y 1 cepa de *Pectobacterium carotovorum* (**Tabla 5**), de las cuales 3 cepas fueron aisladas a partir de tejido de cormo (CB-DC 0001, CB-DC 0002 y CB-DC 0003), 2 cepas de tejido de pseudotallo (CB-DC 0024 y CB-DC 0025), y 1 cepa de tejido de fruta (CB-DC 0018).

Tabla 5. Identificación molecular mediante secuenciación del fragmento 16S ARNr de las cepas seleccionadas.

Cepa	Identidad	% Identidad
CB-DC 0001	<i>Klebsiella variicola</i>	99,15
CB-DC 0002	<i>Klebsiella variicola</i>	97,39
CB-DC 0003	<i>Kosakonia oryzendophytica</i>	97,10
CB-DC 0018	<i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i>	96,92
CB-DC 0024	<i>Klebsiella variicola</i>	99,65
CB-DC 0025	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	96,98

5.8.3.6. Filogenias. Se construyó una filogenia para cada secuencia obtenida del 16S con el método estadístico Neigbor-Joining. Los árboles se elaboraron con 12 secuencias de referencias del ARNr 16s, reportadas para especies de *Dickeya* sp. Los árboles obtenidos de cada cepa se encuentran en el Anexo 2.

Este estudio presenta una metodología sencilla y rápida para la detección mediante PCR convencional de cepas bacterianas asociadas a la pudrición de pseudotallo en banano. Preliminarmente se encontró que los primers diseñados para la amplificación del gen *dnaJ*, presentaban alineamientos para el género *Dickeya* sp., este gen ha sido reportado como un blanco molecular para la clasificación y construcción de filogenias de especies reconocidas de este género (Marrero et al., 2013; Wei et al., 2021). Sin embargo, los resultados de la caracterización morfológica, sumados a los resultados de la reacción de PCR con los primers diseñados para el gen *dnaJ*, muestran que hay presencia de otras bacterias con morfologías distintas a lo reportado para *Dickeya* sp., y con bandeos de amplificación distintos a lo esperado para esta bacteria.

La amplificación y secuenciación del fragmento 16S, arrojó la presencia de otros géneros bacterianos (**Tabla 5**), lo que sugiere que la enfermedad podría estar siendo causada por distintos agentes, y no solo por bacterias del género *Dickeya* sp., como se había reportado anteriormente (Ramírez et al., 2014; Ruíz Ponce, 2015), esto confirma lo que se había observado en los resultados de caracterización y de amplificación mediante PCR convencional. Respecto a las bacterias identificadas, anteriormente se ha reportado a *K. variicola* como agente causal de pudrición en cultivos de banano (Fan et al., 2015; Loganathan et al., 2021), *K. oryzendophytica*, ha sido reportada como una bacteria endofítica de cultivos de banano y plátano, y se han reportado casos de marchitez bacteriana en banano (Mohd Suhaimi et al., 2014). Por su parte, *P. carotovorum*, se ha reportado como el agente causal de la pudrición blanda en

cultivos de banano en Turquía y en India (Basim et al., 2019; Gokul et al., 2019). Adicional a estas bacterias, se encontró la presencia del género *Ochrobactrum*, en trabajos previos se identificó a esta bacteria como endofítica de cultivos de banano, definiéndola como una bacteria de fácil cultivo y aislamiento (Ragavi et al., 2019; Thomas et al., 2008).

Estos resultados reflejan la hipótesis de que la enfermedad es causada por un consorcio bacteriano, indicando que el conocimiento que se tiene de esta, y en especial del agente o los agentes causales, es casi nula. La amplificación con los primers diseñados para *Dickeya* sp., arrojó resultados positivos para aislados de estas bacterias, esto posiblemente se deba a que todas presentan regiones conservadas para el gen *dnaJ*, el blanco molecular de los primers diseñados, esto se apoyaría en la taxonomía de las bacterias, ya que, todos los géneros identificados, a excepción de *Ochrobactrum*, pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, a la cual también pertenece el género *Dickeya* sp., (Schoch et al., 2020). Esto sugiere que el protocolo aquí estandarizado, podría ser utilizado no solo para la detección de *Dickeya* sp., sino también de otros géneros asociados a la enfermedad. Para esto se hace necesario evaluar la amplificación de los aislados bajo distintas condiciones de reacción de PCR, y realizar pruebas de sensibilidad y especificidad.

Con este trabajo se expone entonces la necesidad de caracterizar e identificar mejor las bacterias aisladas, teniendo así un mejor conocimiento de la fisiología y de la identidad molecular de las posibles bacterias causantes de la pudrición de pseudotallo en banano. Esto permitiría obtener información específica de la enfermedad, que puede ser usada para establecer medidas de prevención y limitar su diseminación, además de aportar a un manejo adecuado de la enfermedad, tal como lo describen Premabati & De Mandal, (2020).

5.8.4. Conclusiones

- La diversidad de bacterias asociadas a las plantas de banano, y las técnicas dependientes de cultivo, limitan la identificación de los agentes causales de la pudrición de pseudotallo en banano. Es por esto por lo que es necesario desarrollar métodos de aislamiento acoplados a técnicas moleculares para la identificación y caracterización de las bacterias, lo que daría información útil para el desarrollo de métodos de diagnóstico y de estrategias de control de la enfermedad.
- La prueba de diagnóstico mediante PCR que se estandarizó mostró potencial para ser utilizada en la detección de distintos géneros de bacterias asociadas a la pudrición de pseudotallo, logrando amplificar fragmentos de 190, 200 y 650 pb, en las bacterias *P. carotovorum*, *Kosakonia oryzendophytica* y *Klebsiella variicola*, respectivamente.
- Para verificar la patogenicidad de las bacterias identificadas, se recomienda la evaluación de los postulados de Koch, determinando las posibles causas de la enfermedad y la identidad del o los agentes patógenos.
- Evaluar la amplificación de los aislados bajo distintas condiciones de reacción de PCR, y realizar pruebas de sensibilidad y especificidad.

8.5. Referencias bibliográficas

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA). (2020). *Coyuntura Bananera 2020*.
- Basim, H., Basim, E., Bakı, D., & Turgut, A. (2019). Wet rot disease of banana (*Musa* sp.) caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Turkey. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41(2), 174–187. <https://doi.org/10.1080/07060661.2019.1577302>
- Fan, H. C., Zeng, L., Yang, P. W., Guo, Z. X., & Bai, T. T. (2015). First Report of Banana Soft Rot Caused by *Klebsiella variicola* in China. *DISEASE NOTES*, 100(2), 517. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0586-PDN>
- Gokul, G. G., Louis, V., Namitha, P. M., Mathew, D., Girija, D., Shylaja, M. R., & Abida, P. S. (2019). Variability of *Pectobacterium carotovorum* causing rhizome rot in banana. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17(November 2018), 60–81. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.001>
- Loganathan, M., Thangavelu, R., Pushpakanth, P., Muthubharathi, K., Ramesh, R., Selvarajan, R., & Uma, S. (2021). First Report of Rhizome Rot of Banana Caused by *Klebsiella variicola* in India. *Diseases Caused by Bacteria and Phytoplasmas*.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A., Toth, I., Salmond, G., & Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6), 614–629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
- Marrero, G., Schneider, K. L., Jenkins, D. M., & Alvarez, A. M. (2013). Phylogeny and classification of *Dickeya* based on multilocus sequence analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART9), 3524–3539. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.046490-0>
- Mohd Suhaimi, N. S., Yap, K. P., Ajam, N., & Thong, K. L. (2014). Genome sequence of *Kosakonia radicincitans* UMent01/12, a bacterium associated with bacterial wilt diseased banana plant. *FEMS Microbiology Letters*, 358(1), 11–13. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12537>
- Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T. L., Agarwala, R., & Schäffer, A. A. (2008). Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16), 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- Nakayama, T., Yasuoka, S., Ozawa, T., Aono, Y., Ushio, Y., Fujimoto, T., Ohki, T., & Maoka, T. (2021). Genetic diversity of potato blackleg pathogens, *Pectobacterium wasabiae*, *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* and *Dickeya dianthicola* in Japan by rep-PCR fingerprinting. *European Journal of Plant Pathology*, 159(4), 917–939. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02216-9>
- Premabati, T., & De Mandal, S. (2020). Bacterial diseases of banana: detection, characterization, and control management. In *Recent Advancements in Microbial Diversity*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821265-3.00004-9>
- Pritchard, L., Humphris, S., Saddler, G. S., Elphinstone, J. G., Pirhonen, M., & Toth, I. K. (2013). Draft genome sequences of 17 isolates of the plant pathogenic bacterium *Dickeya*. *Genome Announcements*, 1(6), 6–7. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00978-13>
- Ragavi, G., Muthamilan, M., Nakkeeran, S., Kumaravadivel, N., Sivakumar, U., &

- Suganthi, A. (2019). Phenotypic and Molecular Characterization of Endophytic Bacteria Isolated from Banana. *Current Journal of Applied Science and Technology*, December, 1–10. <https://doi.org/10.9734/cjast/2019/v38i630402>
- Ramírez, J. G., Jaraba, A. B., & Buriticá, P. E. (2014). Manejo de la pudrición acuosa del pseudo-tallo (*Dickeya* sp.) en banano (*Musa* sp.) bajo condiciones de invernadero. *Agronomía Costarricense*, 38(2), 83–92. <https://doi.org/10.15517/rac.v38i2.17277>
- Red Agrícola. (2020). Principales plagas y enfermedades del banano. <https://www.redagricola.com/co/principales-plagas-y-enfermedades-del-banano/>
- Romero, L. M., Lidcay, F., Isla, H., De, M., & Folgueras, C. (2020). Enfermedad bacteriana en plátanos (*Dickeya paradisiaca*): síntomas, epidemiología y elementos de manejo. *Agrisost*, 26(3), 1–8. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/agrisost/article/view/e3262>
- Ruíz Ponce, W. R. (2015). *Identificación del agente causal y descripción sintomatológica de la pudrición acuosa en el cultivo de banano orgánico, Valle del Chira- Sullana- Piura*.
- Sánchez, A. M. (2021). *El banano representa 85% del total de la economía del eje bananero en Antioquia*. <https://www.agronegocios.co/agricultura/el-banano-representa-85-del-total-de-la-economia-del-eje-bananero-en-antioquia-3154267>
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hottton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 1–21. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Thomas, P., Swarna, G. K., Roy, P. K., & Patil, P. (2008). Identification of culturable and originally non-culturable endophytic bacteria isolated from shoot tip cultures of banana cv. Grand Naine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 93(1), 55–63. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9341-9>
- Unidad de Planificación Rural Agropecuaria - UPR. (2020). *Mapa revela el potencial de la industria del banano de exportación*. https://www.upra.gov.co/sala-de-prensa/noticias/-/asset_publisher/GEKyUuxHYSXZ/content/mapa-revela-el-potencial-de-la-industria-del-banano-de-exportacion
- Wei, X. Y., Deng, W. L., & Chu, C. C. (2021). Phylogenetic and phenotypic analyses on *Dickeya* spp. isolated from different host plants in Taiwan. *Journal of Phytopathology*, 169(11–12), 678–691. <https://doi.org/10.1111/jph.13038>
- Ye, J., Coulouris, G., Zaretskaya, I., Cutcutache, I., Rozen, S., & Madden, T. L. (2012). Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, 13(134). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-134>
- Zhang, Y., Fan, Q., & Loria, R. (2016). A re-evaluation of the taxonomy of phytopathogenic genera *Dickeya* and *Pectobacterium* using whole-genome sequencing data. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(4), 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2016.04.001>

9. DETECCIÓN TEMPRANA DE LA MARCHITEZ BACTERIANA CAUSADA POR *Ralstonia solanacearum* USANDO ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL VIS/NIR

Autores: Juan Carlos Marín-Ortiz, Verónica Botero-Fernández, Sebastián Zapata-Henao, Lilliana María Hoyos-Carvajal.

Resumen

La aparición de enfermedades depende de factores ambientales específicas y a menudo presentan una distribución irregular en los cultivos, por lo cual las técnicas de teledetección podrían ser útiles en la identificación de los focos primarios y las áreas que difieren en severidad de la enfermedad. Tras la infección, una planta desarrolla síntomas que aparecen en diferentes partes de las plantas, sin embargo, en el momento en que estos síntomas son visibles, la planta ya puede verse afectada negativamente. Después de la aparición de los síntomas de la enfermedad, esta es verificada usando técnicas de detección, como la Prueba de Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA), Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), Inmunofluorescencia (IF), Citometría de Flujo, Fluorescencia in situ y Perfiles de Metabolitos Gaseosos, entre otros. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad de estas técnicas, un sistema de detección temprana de la enfermedad basado en técnicas de espectrometría puede ayudar a disminuir las pérdidas causadas en los cultivos y evitar una mayor propagación de la enfermedad, con más rapidez, sensibilidad, selectividad y sin requerir la destrucción de muestras requeridas para el análisis. Para implementar estos sensores dentro de las tecnologías de protección vegetal de precisión, tienen que ser robustos, de bajo costo, y preferiblemente que ofrezcan detección en tiempo real. Por estas razones, en este proyecto se evaluó el potencial de la espectrometría bajo condiciones de invernadero para la detección temprana e identificación de la marchitez bacteriana del banano. Para cumplir este objetivo, los datos de reflectancia se recopilarán mediante un espectrómetro portátil a partir de hojas de plantas sometidas a cuatro tratamientos con sus respectivos controles: 1) 30 plantas control var. Gros Michel, 2) 30 plantas var. Gros Michel inoculadas con *R. solanacearum*, 3) 30 plantas var. Gros Michel sometidas a estrés hídrico, 4) 30 plantas control var. Williams, 5) 30 plantas var. Williams inoculadas con *R. solanacearum*, y 6) 30 plantas var. Williams sometidas a estrés hídrico. En este estudio se logró caracterizar la variación espectral en hojas de banano infectadas con *R. solanacearum* durante el periodo de incubación de la enfermedad. También fue posible identificar las longitudes de onda específicas relevantes en el rango de 380 a 1000 nm que pueden usarse como firmas espectrales para la detección y discriminación del marchitamiento bacteriano en clones de banano Williams y Gros Michel. Se observó que las plantas de banano de ambos clones no variaron marcadamente su reflectancia en el rango Vis durante el periodo de incubación de la enfermedad (las plantas Williams aumentaron su reflectancia en el rango 550 nm-700 nm solo al final de este periodo). Sin embargo, ambos tipos de clones disminuyen rápidamente la reflectancia desde el 70% a 0 dpi

hasta el 25% a los 12 dpi en el rango del NIR medido (700 nm), mostrando diferencias con las plantas sometidas a estrés hídrico en el Vis/NIR. Además, se encontraron tres rangos promisorios en el espectro relacionados con la infección por *R. solanacearum*, alrededor de los 710, 770 y 965 nm. Los modelos discriminantes sobre datos de reflectancia espectral fueron capaces de diferenciar los clones de banano inoculadas con *R. solanacearum* de las sanas con precisiones superiores al 96% después de los 6 días después de la inoculación. Los resultados mostraron el potencial de la espectroscopia de reflectancia para discriminar las plantas inoculadas con *R. solanacearum* de las sanas en el período de incubación de la enfermedad, es decir, cuando los síntomas aún no son visibles.

Palabras clave: Marchitez bacteriana, *R. solanacearum*, espectroscopia, detección temprana

5.9.1. Introducción

El moko del banano, también conocido como marchitez bacteriana del banano, es causado por la bacteria Gram-negativa *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith raza 2. Pertenece a las β -proteobacterias, que forman patógenos bacterianos de plantas y una seria amenaza para la producción de muchas plantas de cultivo en todo el mundo (Agris, 2008). Esta bacteria es aeróbica y es transmitida por el suelo gracias a la movilidad otorgada por un penacho flagelar polar. En la planta ataca el sistema vascular causando la obstrucción de los haces vasculares, lo cual genera deshidratación, desnutrición y finalmente la muerte (REF).

El moko es la enfermedad bacteriana más importante en los cultivos de banano a nivel mundial, generando pérdidas que pueden llegar al 80 y 100 % del rendimiento total del cultivo (Yuliar et al., 2015) en algunos cultivos de los países productores. Estas pérdidas se deben principalmente a la facilidad de dispersión, alta virulencia, cantidad de hospederos, falta de prácticas de manejo efectivas, y necesidad de largos períodos de tiempo sin cultivo después de su erradicación (Ramírez et al., 2015). La principal estrategia de control de la marchitez bacteriana en banano implica la detección temprana de las plantas infectadas, para así proceder a la eliminación de las plantas sembradas en un radio de 5 m y la generación de una cuarentena de al menos 6 meses de duración (Alvarez et al., 2008). Para el éxito de estas medidas de control es necesario un sistema de detección de la enfermedad antes que los síntomas sean visibles en la planta, ya que el monitoreo permanente de la bacteria en suelo y fuentes de agua es un proceso poco eficiente, por las bajas densidades del patógeno y distribución espacial irregular en el campo (Pradhanang et al., 2000).

Teniendo en cuenta que en el manejo de enfermedades de plantas su detección oportuna es fundamental, los métodos no destructivos de unidades productivas son deseables. Dentro de las anteriores, está la detección por técnicas espectrométricas, usadas en etapas iniciales de propagación del material vegetal por lectura directa de

unidades de siembra, siendo útiles en la identificación de los focos primarios de la enfermedad (Franke & Menz, 2007; Franke et al., 2009).

Para que estas técnicas basadas en espectrometría puedan ser aplicables, es necesario que en los patosistemas específicos planta/patógeno se genere información sobre huellas espectrales propias de procesos infectivos, como insumo primario de conocimiento que alimente librerías espectrales usadas para identificación de enfermedades. Este estudio se realizó en banano debido a su importancia económica, a que es una planta de características agronómicas ampliamente conocidas y susceptible a un rango de patógenos que permite contrastar su respuesta espectral cuando es afectada por diferentes tipos de estrés (bióticos y abióticos). Es así como el objetivo principal de este proyecto de investigación fue caracterizar la respuesta espectral desde plantas sanas, infectadas con *R. solanacearum* y sometidas a estrés hídrico en dos cultivares de banano mediante espectroscopia de reflectancia durante el periodo de incubación de la enfermedad.

5.9.2. Materiales y métodos

5.9.2.1. Material vegetal y ubicación. Las plantas de banano var. Gros Michel y Williams fueron propagadas *in vitro* en un vivero comercial. Se iniciaron los tratamientos cuando las plantas tenían tres meses de edad en el estadio fenológico 1030 de la escala BBCH. El ensayo fue realizado bajo condiciones de invernadero en las instalaciones de la Asociación de Bananeros de Colombia (Carepa, Antioquia). Las plantas se sembraron en bolsas con capacidad para 2 Kg de turba. Las condiciones ambientales internas en el invernadero durante el tiempo de experimentación se encontraron bajo las siguientes condiciones: temperatura promedio de 26 °C y humedad relativa de 90%. Las plantas fueron regadas tres veces por semana.

5.9.2.2. Microorganismo empleado. Para el desarrollo de la investigación se empleó una cepa de *R. solanacearum* Raza 2, la cual fue proporcionada por el Centro Nacional de Investigaciones del Banano (CENIBANANO). La determinación de la patogenicidad de esta cepa se realizó sobre los clones de Gros Michel y Williams, referenciada previamente (Ramírez et al 2020) y siguiendo los protocolos descritos para pruebas de patogenicidad en este patosistema (Obregón et al. 2008).

5.9.2.3. Inoculación de las plantas. Las cepas fueron sembradas en medio semi selectivo líquido SMSA y crecidas en agitación constante durante 24 h. La concentración del inóculo se estimó por espectrofotometría, tomando como referencia que a una densidad óptica de +0,1 a 650 nm se obtiene una solución de 1×10^8 ufc·ml⁻¹. Las pruebas de patogenicidad se efectuaron mediante cortes en raíces e inoculación del sustrato con inmersión del bisturí de corte en el inóculo. Para la infección de las plantas se utilizó como base la metodología propuesta por Jie *et al.*, (2009), en la cual, cuando las plantas llegaron al estado de desarrollo 1030 según la escala BBCH, con ayuda de un bisturí, se realizaron cortes en la base de la raíz de cada

planta con inmersión del bisturí de corte en el inóculo e inoculación del sustrato con 15 mL de la suspensión del inóculo preparado previamente.

5.9.2.4. Espectroscopía. Los espectros de reflectancia se obtuvieron con un espectroscopio portátil USB2000+ (Ocean Optics, FL, EE. UU.) con rango espectral entre 400-1100 nm, en el cual se determinaron diferentes parámetros necesarios para la calibración según el protocolo realizado por Marín y colaboradores (2021). Se realizó un diseño experimental completamente al azar, en el cual se recolectaron tres pseudo-repeticiones desde la hoja tres de cada planta cada 48 horas durante el periodo de incubación de la enfermedad. Se realizaron las mediciones espectrales en plantas sometidas a cuatro tratamientos con sus respectivos controles (900 espectros/día de muestreo): 1) 30 plantas control var. Gros Michel, 2) 30 plantas var. Gros Michel inoculadas con *R. solanacearum*, 3) 30 plantas var. Gros Michel sometidas a estrés hídrico, 4) 30 plantas control var. Williams, 5) 30 plantas var. Williams inoculadas con *R. solanacearum*, y 6) 30 plantas var. Williams sometidas a estrés hídrico.

5.9.3. Resultados y discusión

1. Caracterización de la respuesta espectral de dos variedades de banano durante el periodo de incubación de la marchitez bacteriana. En este apartado se presentan los espectros de reflectancia desde hojas de plantas de banano inoculadas con *R. solanacearum*, sometidas a estrés hídrico y sanas, durante el periodo de incubación de la marchitez bacteriana (**Figura 1**). Los clones Williams inoculados con *R. solanacearum* y sometidos a estrés hídrico no mostraron variación en la reflectancia en el rango visible durante los primeros 10 dpi (**Figura 1A, 1B, 1C**), pero ambos tratamientos generaron respuesta espectral opuesta a los 12 dpi aproximadamente (**Figura 1D**). Por un lado, en las plantas inoculadas con el patógeno una vez se hacen visibles los síntomas de la enfermedad, es decir, superado el periodo de incubación, la reflectancia aumentó en el rango de 550nm-700nm (Verde, amarillo y rojo) desde 0% hasta ~12%, mientras que las sometidas a estrés hídrico presentaron una disminución hasta el 5% de su reflectancia en el pico del verde (550 nm). En cuanto al rango infrarrojo medido (700nm-1000nm), los clones Williams presentaron una rápida disminución en la reflectancia desde el 75% a los 0 dpi, hasta el 25% y 12% a los 12 dpi, para las plantas infectadas y sometidas a estrés hídrico respectivamente. Los clones Gros Michel no presentaron variación significativa en el rango Vis en los tratamientos realizados, pero mostraron una disminución más lenta en el Nir medido, desde el 62% (0 dpi) hasta el 25% a los 12 dpi; sin embargo, es importante destacar que las plantas sometidas a estrés hídrico en este clon no variaron significativamente su espectro de reflectancia promedio en el rango NIR medido con respecto a las plantas sanas (**Figura 1E, 1F, 1G, 1H**).

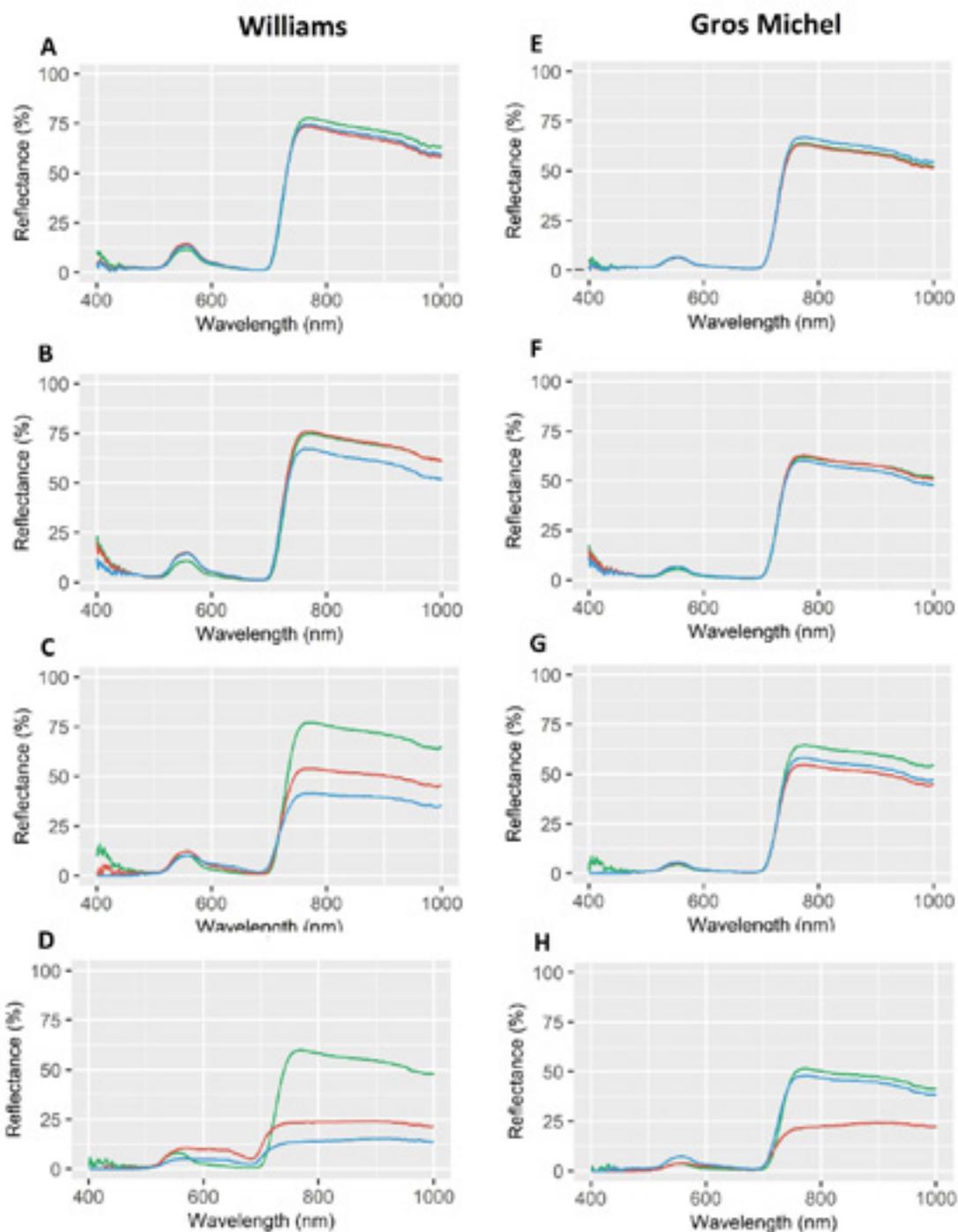


Figura 1. Respuesta espectral desde hojas de plantas sanas (línea verde), infectadas con *R. solanacearum* (línea roja) y sometidas a estrés hídrico (línea azul) de los cultivares de banano Gros Michel (A-D) y Williams (E-H) durante el periodo de incubación de la marchitez bacteriana del banano.

Dado que la marchitez bacteriana es una enfermedad sistémica en el banano, se realizó una clasificación binaria de hojas sanas y plantas enfermas para probar la detección y posterior clasificación de la enfermedad a partir de la identificación de longitudes de onda específicas relevantes. Para reducir la información del espectro medido y obtener estas longitudes de onda se utilizó el algoritmo RELIEF para separar plantas enfermas y sanas. En el día 0 los pesos para las longitudes de onda fueron cercanos a "0" para los dos tipos de estrés evaluados en el rango medido en ambos clones, sin resaltar ninguna longitud de onda específica relevante relevante (**Figura 2**). Las longitudes de onda específicas relevantes para la infección por *R. solanacearum* (estrés biótico) fueron 525 nm, 595 nm, 710 nm y 770nm, aclarando que los rangos de 510–700 nm, 700–750 y 770 nm fueron especialmente relevantes después de los 4 dpi en el clon Williams (**Figura 2A**). En los clones Gros Michel, el algoritmo RELIEF dio mayores pesos a las longitudes de onda a 430 nm, 605nm, 705nm, 765nm y 965nm, con mayor relevancia también desde los 4 dpi.

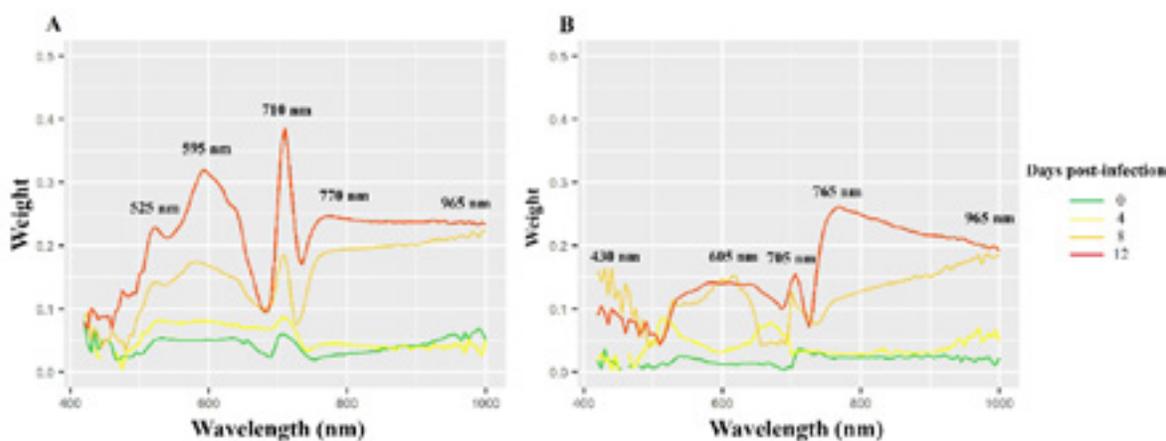


Figura 2. Longitudes de onda específicas relevantes para los clones de banano Williams (A) y Gros Michel (B) durante el período de incubación de la marchitez bacteriana por *R. solanacearum*.

Finalmente, se realizaron análisis de componentes principales para identificar cuáles de las variables clasificadas con el algoritmo RELIEF presentaban mayor contribución a la variación total de los datos durante todo el periodo de incubación de la enfermedad (resultados no mostrados). Después de este análisis, se encontró que las longitudes de onda alrededor de los 710 nm, 770 nm y 965 nm permiten discriminar plantas inoculadas con *R. Solanacearum* de las sanas con altos porcentajes de clasificación correcta, mientras que no separan plantas enfermas de sanas a 0 dpi. Estas longitudes de onda permitieron discriminar correctamente los clones Williams infectados con *R. solanacearum* de las plantas sanas con un porcentaje del 96% a los 8dpi y con 100% a los 12 dpi (**Figura 3A, 3B**). Siguiendo el mismo patrón, los clones

Gros Michel con marchitez bacteriana pudieron ser discriminados de las plantas sanas con un porcentaje del 98% a los 8dpi y 100% a los 12 dpi (**Figura 3C, 3D**).

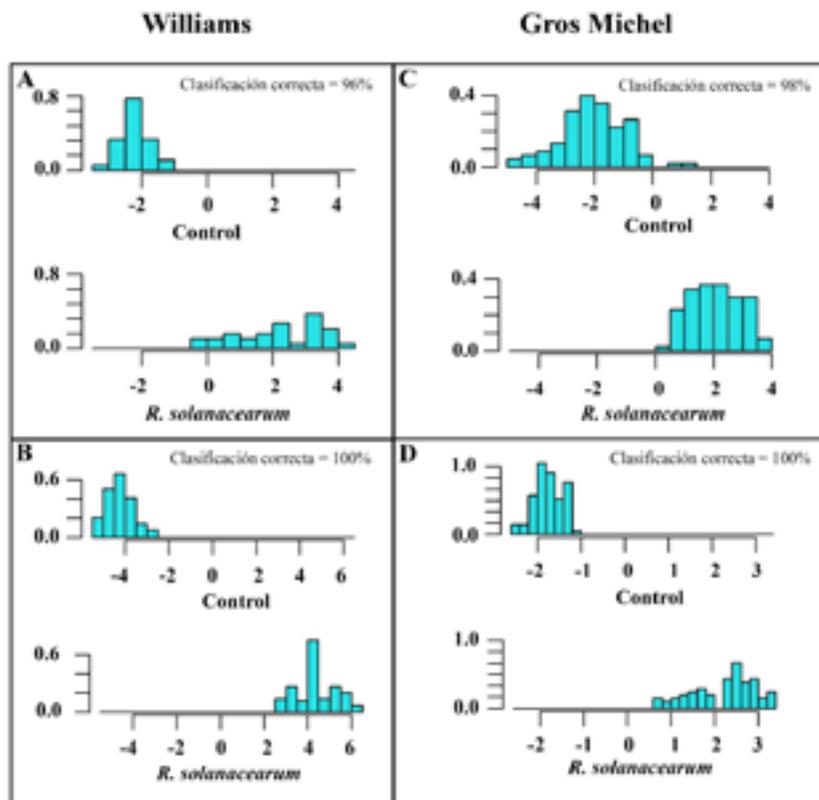


Figura 3. Histogramas para la primera dimensión discriminante lineal de los clones de banano Williams (A, B) y Gros Michel infectados con *R. solanacearum* y sus respectivos controles, a los 8 dpi (A, C) y 12 dpi (B, D). Las longitudes de onda seleccionadas para realizar los análisis discriminantes fueron 710 nm y 770 nm para los clones Williams, y 705 nm, 765 nm y 965 nm para los clones Gros Michel)

4. Conclusiones

Se probó un método para detectar y discriminar la respuesta espectral de clones de banano Williams y Gros Michel infectados con *R. solanacearum* usando espectroscopia de reflectancia durante el periodo de incubación de la enfermedad, es decir, cuando los síntomas aun no son visibles. Los resultados obtenidos muestran que la espectroscopia Vis-NIR, en combinación con métodos apropiados de pre procesamiento y análisis multivariado de datos constituyen herramientas eficaces

para detectar y discriminar de forma temprana las plantas con marchitez bacteriana de las sanas.

Los clones de banano infectados con *R. solanacearum* presentaron diferencias marcadas en la respuesta espectral en comparación con sus respectivos controles. En general, ambos clones infectados con *R. solanacearum* disminuyen la reflectancia rápidamente en el NiR medido (700-100nm), pero solo los clones Williams mostraron variación en la reflectancia en el Vis en la etapa final de la patogénesis. La variación de la reflectancia en los clones sometidos a estrés hídrico también es diferente en ambos clones, mientras Williams la disminuye en la etapa tardía de la infección en el Vis y durante todo el periodo de incubación en el NIR, los clones Grosh Michel no modificaron marcadamente sus espectros de reflectancia en comparación con sus respectivos controles.

Las longitudes de onda específicas relevantes relacionados con la infección por *R. solanacearum* en el rango Vis se encontraron aproximadamente a los 525 nm, 595 nm, y 710 nm, mientras que en el rango NIR se identificaron a los 770 nm y 965 nm. Sin embargo, es importante resaltar la importancia de realizar estudios comparativos con índices específicos desarrollados a partir longitudes específicas relevantes para diferentes enfermedades y otros índices propuestos en la literatura actual, con el fin de evaluar la especificidad y sensibilidad de las longitudes de onda encontradas en cada tipo de infección.

Los modelos discriminantes lineales sobre datos de reflectancia espectral pudieron clasificar las plantas infectadas con *R. solanacearum* de las sanas con alta precisión después de 6 dpi (> 96% de clasificación correcta), debido a cambios menores en la reflectancia de las hojas enfermas en esta etapa de la patogénesis. Este estudio mostró que la discriminación de enfermedades sistémicas en etapas tempranas de infección es posible, pero sigue siendo un desafío. Por lo tanto, se requiere investigación futura para proporcionar información adicional sobre los factores que afectan la respuesta espectral en las plantas, como las diferencias entre las variedades de plantas, las respuestas a diversas condiciones ambientales y consideraciones nutricionales.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento del proyecto de investigación a la Asociación de Bananeros de Colombia (Augura) y la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín en marco de la "convocatoria nacional para el fomento de alianzas interdisciplinarias que articulen investigación, creación, extensión y formación en la universidad nacional de Colombia 2019-2021".



Fusarium

6. LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE Foc R4T

Autores: Mónica Patricia David González, Luz Edith Argel Roldán y Sebastián Zapata Henao.

Resumen

La presencia del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T) en Colombia detectado en 2019 según lo descrito en la Resolución 11912, ha acelerado el desarrollo e implementación de métodos de diagnóstico para la marchitez por *Fusarium*. Pese a que la prueba se realiza actualmente en el Laboratorio de Cuarentena Vegetal del ICA ubicado en Mosquera y en el Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario seccional Antioquia, se ha optado por fortalecer la capacidad de diagnóstico en la región de Urabá con el fin de reducir el tiempo de respuesta y favorecer así la implementación de medidas en campo que contribuyen a disminuir la diseminación de la enfermedad.

Debido a la necesidad de contener la dispersión del microorganismo en una de las principales zonas productoras de banano del país, se ha planteado como estrategia de mitigación y control el procesamiento de muestras vegetales sospechosas en el laboratorio de CENIBANANO, AUGURA. Para esto es indispensable registrar la prueba diagnóstica de Foc R4T ante el ente regulador, ICA y cumplir con los requisitos determinados en la resolución vigente establecida. Con base a esto, se han realizado diferentes actividades relacionadas con el diagnóstico de Foc R4T que contribuyen al desarrollo de la prueba.

6.1. Introducción

La Asociación de Bananeros de Colombia, AUGURA y el Centro de Investigaciones del Banano, CENIBANANO en pro del crecimiento y desarrollo de la organización han centrado sus esfuerzos en aumentar el nivel de competitividad a nivel científico y técnico. Esto incluye la implementación de la prueba diagnóstica de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Raza 4 Tropical (Foc R4T) lo cual requiere además el cumplimiento de los requisitos establecidos por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en la Resolución 093858 del 6/03/2021 y con esta a su vez la NTC-ISO/IEC 17025 de 2017.

Para el diagnóstico oportuno de la enfermedad se procesarán muestras de tejido vegetal sospechosas de Foc R4T, esto sugiere la necesidad de realizar adecuaciones locativas en la infraestructura del laboratorio, principalmente, con el fin de contener y evitar la dispersión del fitopatógeno; seguido a esto, la adquisición de equipos e insumos, además de la formación recibida mediante cursos, visitas y talleres, han sido el eje preliminar para el desarrollo de la prueba.

Asimismo, se han elaborado algunos documentos asociados a la NTC 17025 de 2017 con el apoyo de funcionarios del ICA por medio de la participación en los convenios

recientemente ejecutados, de igual forma realizaron visitas al laboratorio de CENIBANANO con enfoques técnicos y analíticos asociados a la prueba diagnóstica de *Foc R4T*. No obstante, con el fin de abordar la prueba en relación a la gestión de la calidad, desde AUGURA, CENIBANANO se visitó el laboratorio del ICA sede Mosquera y el laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario ICA-CEISA, este último congrega el Grupo de Gestión de Calidad Analítica, Buenas Prácticas de Laboratorio y Registro de Laboratorios (GGCA-BPL), quienes son apoyo primordial en este proceso. A continuación, se describen los avances de gestión relacionados con la prueba diagnóstica.

6.2. Descripción de actividades

Las actividades presentadas en este informe fueron agrupadas en dos numerales, en el primero de estos se describen los procedimientos asociados al registro y posteriormente las actividades realizadas durante las visitas.

1.Registro de la prueba

1.1.Adecuaciones laboratorio. Con el fin de registrar la prueba fue necesario realizar modificaciones en la infraestructura al laboratorio de CENIBANANO, esto debido al estricto control y manejo de las muestras posiblemente sospechosas de *Foc R4T*. Para lo cual se crearon áreas exclusivas de trabajo (Figura 1).

1.2.Área de recepción de muestras. Esta área es la primera donde entra en contacto la muestra con el laboratorio, allí las muestras son entregadas por una ventana, desinfectadas externamente y codificadas por el personal encargado.

1.3.Área de contención. Esta es el área más importante del proceso de diagnóstico, razón por la cual se construyó un sistema de esclusa para el ingreso de personal. Aquí las muestras son ingresadas por medio de un "*Pass through*", sistema de cabina hermético con doble puerta. Al interior de esta área se creó un espacio separado físicamente en donde las muestras serán procesadas y verificadas dentro de la cabina de bioseguridad. Esta área en general requiere manejo especial para evitar la dispersión de propágulos de *Foc R4T*, para esto se debe contar con un plan integrado de desinfección y aseo riguroso.

1.4.Área de extracción. Una vez las muestras son procesadas y dispuestas en tubos se inicia el proceso de adición de buffers dentro de la cabina de bioseguridad (contención), los tubos pasan por el *Pass through* al área de extracción. Allí se continúa con el proceso de extracción de ADN mediante el seguimiento del protocolo. Es de vital importancia cumplir a cabalidad el protocolo, dado que de esto dependen

las siguientes etapas del proceso de diagnóstico. El ADN extraído es conservado a -20°C .

1.5. Área de PCR y mezclas maestras. Esta área fue dividida en dos con el fin de garantizar un espacio libre de contaminación cruzada. En la primera se prepara la solución madre necesaria para llevar a cabo la técnica de Reacción en Cadena de la Polimersa (PCR). Una vez dispensada la solución madre a los tubos de PCR, estos pasan por el *Pass through* a la siguiente área en donde se adiciona únicamente el ADN previamente extraído, antes de esto la calidad y concentración del ADN debe ser verificada. Finalmente, las mezclas de reacción son sometidas a diferentes temperaturas durante varios ciclos, obteniendo los denominados productos de PCR.

1.6. Electroforesis. El proceso termina cuando los productos de PCR son revelados por medio de electroforesis en gel de agarosa utilizando un fotodocumentador. Con este proceso es posible determinar mediante la presencia - ausencia y tamaño de bandas según el fragmento amplificado cuál de las muestras es positiva o negativa para *Foc R4T*. Adicionalmente, se debe validar que los resultados sean consistentes con los síntomas y el crecimiento de micelio observado de manera preliminar.

1.7. Preparación de medios. Si bien esta área no está directamente relacionada con el diagnóstico de *Foc R4T*, es considerada el área más limpia con respecto a las demás. En esta se elabora el medio de cultivo para el crecimiento del fitopatógeno y soluciones patrón requeridas en el proceso.



Figura 1. Plano actual del laboratorio de CENIBANANO.

Siguiendo con las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los laboratorios se clasifican de la siguiente forma: laboratorio básico – nivel de bioseguridad 1; laboratorio básico – nivel de bioseguridad 2; laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3, y laboratorio de contención máxima – nivel de bioseguridad 4. Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en una combinación de las características de diseño, construcción, medios de contención, equipo, prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo.

Sin embargo, la OMS clasifica los microorganismos por grupos de riesgo para la salud, como; Grupo de riesgo 1: riesgo individual y poblacional escaso o nulo, grupo de riesgo 2: riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo, grupo de riesgo 3: riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo, y grupo de riesgo 4: riesgo individual y poblacional elevado.

Teniendo en cuenta esto, *Foc R4T* no es considerado como un patógeno que represente riesgo para los humanos (ICA 2019), no obstante, en el diseño del laboratorio de CENIBANANO se tomaron las medidas de contención para evitar la dispersión del hongo lo cual es un riesgo para la Región y los productores. Siendo así, el laboratorio está categorizado con nivel de bioseguridad 3, aclarando que este nivel de contención exige fortalecer los programas de trabajo y de seguridad correspondientes a los laboratorios básicos – niveles de bioseguridad 1 y 2 y que además se exceptúa lo estipulado en el manual de la OMS *“El laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3 está concebido e instalado para trabajar con microorganismos del grupo de riesgo 3, así como con grandes volúmenes o concentraciones de microorganismos del grupo de riesgo 2, por entrañar un mayor riesgo de difusión de aerosoles.”*

2.Documentos asociados a la norma. La resolución 093858 del 6/03/2021 *“Por medio de la cual se establecen los requisitos y el procedimiento para el registro de laboratorios que realicen pruebas de análisis y/o diagnóstico a terceros en el sector agropecuario”* del ICA, aplica a todos los laboratorios que presten el servicio de pruebas de análisis y diagnóstico a terceros en el sector agropecuario, en el caso de los laboratorios agrícolas objeto de registro son aquellos que realizan pruebas de análisis y diagnóstico de plagas y enfermedades en plantas y material vegetal: pruebas de entomología y fitopatología, entre otros.

Para el registro de la prueba diagnóstica ante el ICA es indispensable el cumplimiento de los numerales allí descritos, de estos el Artículo 8 agrupa los requisitos para el registro, donde se hace mención al diligenciamiento del formato y pago en plataforma, además de dar cumplimiento de los requisitos de la norma NTC-ISO/IEC 17025 versión vigente, presentar un manual de bioseguridad acorde con los requisitos del manual de la OMS y finalmente cumplir con la normativa legal vigente en materia de ambiente, salud, desarrollo territorial y ejercicio de las profesiones, a nivel nacional e internacional.

La NTC-ISO/IEC 17025 de 2017 contempla los *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*, este documento contiene requisitos que permiten a los laboratorios demostrar que operan de forma competente y que tienen la capacidad de generar resultados válidos promoviendo la confianza en la operación de los laboratorios. La norma incluye ocho numerales, los tres primeros relacionados con el objetivo, referencias y términos, los demás agrupados así:

4. Requisitos generales: Imparcialidad, confidencialidad

5. Requisitos relativos a la estructura: Constitución legal, alcance, organigrama

6. Requisitos relativos a los recursos: Personal, instalaciones y condiciones ambientales, equipamiento, trazabilidad metrológica, productos y servicios suministrados externamente.

7. Requisitos del proceso: Revisión de solicitudes, ofertas y contratos, selección, verificación y validación de métodos, muestreo, manipulación de los ítems de ensayo y calibración, registros técnicos, evaluación de la incertidumbre de la medición, aseguramiento de la validez de los resultados, informe de resultados, quejas, trabajo no conforme, control de datos y gestión de la información.

8. Requisitos del sistema de gestión: Opciones, documentación del sistema de gestión, control de documentos del sistema de gestión, control de registros, acciones para abordar riesgos y oportunidades, mejora, acciones correctivas, auditorías internas y revisión por la dirección.

Con base a esto se han creado documentos acordes a los numerales de la norma y tratando de abordar todos los ítems se considera un avance del 70% teniendo en cuenta la falta de conocimiento de la normatividad inicialmente (Tabla 1). Sin embargo, el numeral 8 (Requisitos del sistema de gestión) es quizá el que requiere más hincapié debido a que AUGURA, CENIBANANO no está certificada bajo la norma ISO 9001 lo cual facilitaría el proceso. Debido a esto, se sugiere el apoyo de personal externo capacitado en esta área, así mismo, de personal con dominio en la NTC-ISO/IEC 17025 y registro de laboratorio para que en conjunto se concluya la revisión y construcción de documentos faltantes principalmente de los numerales 6 y 7, y de esta forma finalizar este proceso documental y gestionar el registro de la prueba diagnóstica de *Foc R4T* ante el ICA. El total de documentos dependerá de las condiciones del laboratorio y áreas administrativas, estos se encuentran en constante elaboración y/o modificación. Se espera que con las visitas realizadas al ICA los documentos nuevos y los previamente creados sean ajustados a lo sugerido en las asesorías por parte de los funcionarios para posterior revisión y aprobación.

Tabla 1. Documentos elaborados asociados a la NTC-ISO/IEC 17025 elaborados hasta la fecha.

Documentos	Cantidad
Acuerdos	1
Fichas del cargo	7

Formatos	115
Funciones	6
Instructivo	23
Lineamientos	1
Manual	2
Matriz	10
Perfiles	6
Procedimiento	20
TOTAL	191

3. Visitas y talleres. En el 2021, se recibieron 2 visitas al laboratorio de CENIBANANO por parte de funcionarios del ICA, la primera de estas fue realizada el pasado del 12 al 14 de mayo 2021 por el Dr. Carlos Palacios Bejarano, esta tuvo como objeto ejecutar los procesos analíticos para el desarrollo de la prueba diagnóstica de *Foc R4T*.

Durante esta se realizaron extracciones de ADN de material vegetal de dos muestras de tejido vegetal (pseudotallo) procedentes de tejido sintomático y asintomático. Ambas muestras fueron desinfectadas como lo sugiere el protocolo del ICA DSA-MA-LDF-DF-049 del ICA. Posteriormente, una fracción de estas fue sembrada en medio de cultivo y la otra procesada. Adicionalmente, se extrajo el ADN de cuatro cepas de hongos a partir de micelio, tres cepas del género *Fusarium* spp., y una de *Colletotrichum* spp., esta última como control negativo, cada una por duplicado, para un total de 12 extracciones.

La concentración del ADN extraído, al igual que la del ADN enviado como muestras ciegas desde el Laboratorio de Cuarentena Vegetal del ICA en Mosquera, Cundinamarca, fue verificada en el MultiSkan Sky, a partir de estos resultados se realizaron diluciones para una concentración final de 15µg/ml.

La PCR se desarrolló siguiendo el protocolo suministrado por el ICA, para esto se realizaron los cálculos correspondientes según el volumen necesario para la preparación de la mezcla maestra (master mix). Se utilizó el kit de Promega GoTaq® G2 Flexi ADN Polymerase para cada una de las amplificaciones. La primera amplificación se realizó a partir de tejido vegetal con las condiciones establecidas para la PCR dúplex (**Figura 2A y B**).

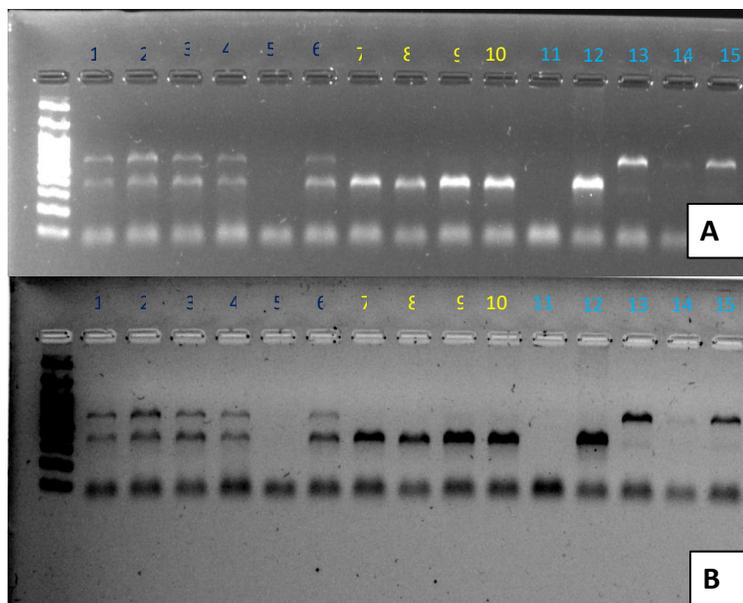


Figura 2. A. Amplificación por PCR dúplex para ADN procedente de tejido vegetal. Primers utilizados FocTR4-F/R y BanActin2-F/R. Numeración de 1-6 muestras suministradas por el ICA (ICA-PL), numeración de 7-10 muestras obtenidas en el laboratorio y 11-15 controles suministrados por el ICA. **B.** Fotografía en contraste.

En esta figura se observa la presencia de las bandas relacionadas con las amplificaciones obtenidas por PCR dúplex con los primers FocTR4-F/R y BanActin2-F/R, es decir, con estos resultados es posible validar la amplificación de las muestras suministradas por el ICA, a excepción de la muestra 5_ICA-PL, la cual fue validada en otro gel. Se confirma que, el ADN extraído de las muestras procesadas en el laboratorio fueron negativas para *Foc* R4T, es decir, solo se observa una banda en las muestras del numeral 7 al 10. En el numeral 11 no se observan bandas debido a que es un control negativo (agua), el numeral 12 señala control positivo para amplificación de ADN de tejido vegetal, los numerales 13 y 15 control positivo para *Foc* R4T y el numeral 14 es un control positivo para *Foc*.

Posterior a esta amplificación se realizó la PCR de las muestras de ADN extraídas de micelio en el laboratorio y del ADN suministrado por el ICA procedente de micelio. Para este caso se utilizaron los primers CWF1 y CWR1 con el fin de determinar la presencia de *Foc* mediante gel de agarosa (**Figura 3**).

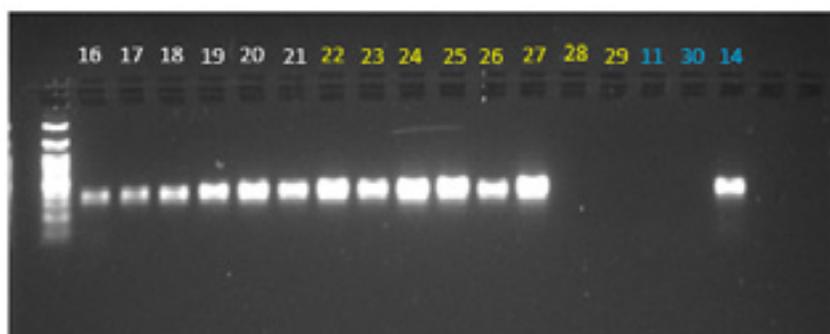


Figura 3. Amplificación por PCR con ADN procedente de micelio para detección de *Foc*. Primers utilizados CW1-F/R. Numeración de 16-21 ADN suministrado por el ICA, 22-29 muestras obtenidas en el laboratorio y 11, 30 y 14 controles suministrados por el ICA.

En la **figura 3** se observa que tanto el ADN suministrado por el ICA como el ADN extraído durante la visita son positivos para *Foc*, a excepción del pozo con numeral 28 y 29 debido a que estos corresponden al control negativo interno realizado con micelio del género *Colletotrichum* spp. El numeral 11 corresponde al control negativo con agua, mientras que el numeral 30 y 14 indica el control negativo y positivo proporcionado por el ICA.

Finalmente, el objetivo de esta visita fue cumplido con éxito obteniendo resultados satisfactorios para dar inicio al proceso de estandarización de la prueba. Con base a esto, se sugiere entonces solicitar muestras de tejido vegetal y muestras ciegas para comenzar con el proceso de estandarización una vez la remodelación del laboratorio haya terminado y los equipos se encuentren calibrados, verificados y/o calificados.

La segunda visita fue realizada por las investigadoras Luz E. Argel y Mónica David al laboratorio de Cuarentena Vegetal del ICA, Sede Mosquera, esta se llevó a cabo del 8 al 10 de noviembre del 2021. El objetivo de esta se enfocó en abordar la relación entre bioseguridad de la muestra y Sistema de gestión de Calidad, es decir, en conocer la documentación y los procesos administrativos asociados al diagnóstico.

La visita fue guiada por la Dr. Mariluz Ayala y Angela Chaves, responsable y analista del laboratorio, respectivamente (**Figura 4**). Durante esta se realizó un recorrido por todas las áreas del laboratorio, en cada una de estas se presentó la documentación asociada al proceso que allí se realiza. A partir de las observaciones fue posible vislumbrar los requerimientos del proceso y socializar cada una de estos al final de la jornada.



Figura 4. Visita al área de contención del laboratorio de cuarentena vegetal. ICA, Mosquera y ICA-CEISA, reunión con la Dr. Sandra Lombana.

Continuando con el orden de la visita, al día siguiente, el 11 de noviembre, se realizó una reunión en las instalaciones del ICA-CEISA, ubicado en el perímetro Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, con el fin de consolidar la información respecto a la Resolución 093858 y la norma NTC-ISO/IEC 17025 de 2017. Durante esta se abordaron dos enfoques; registro de la prueba con el Dr. Hugo Rodríguez y Sistema de Gestión de Calidad (SGC) con la Dr. Sandra Lombana, ambos pertenecientes al grupo de Gestión de Calidad Analítica, Buenas Prácticas de Laboratorio y Registro de Laboratorios (GGCA-BPL). La información suministrada por la funcionaria encargada del SGC contribuyó como base para comprender el proceso de la implementación de la norma desde el punto de vista administrativo y legal (**Figura 4**).

Con la visita a las dos sedes fue posible ampliar la visión sobre los procedimientos asociados a la muestra y la actividad analítica, en función de esto se deben realizar modificaciones a los documentos creados previamente, además de elaborar nueva documentación de los ítems faltantes teniendo en cuenta lo sugerido en las asesorías.

En concordancia con lo presentado en este informe y tomando como referencia la importancia de implementar las medidas adecuadas para el diagnóstico de *Foc R4T*, investigadores de CENIBANANO participaron activamente como asistentes presencial y virtual en el Taller regional: Diagnóstico del marchitamiento por *Fusarium (Foc R4T)*, el cual se desarrolló en el Centro de Investigaciones Tibaitatá, Mosquera, Cundinamarca del 17 al 19 de noviembre. Durante este se recibieron conferencias de miembros de las Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitarias (ONPFs), ICA, CIAT- Bioversity y Agrosavia. Además, se realizaron actividades en el laboratorio direccionadas al aislamiento fúngico de tejido vegetal, amplificación por PCR y técnicas de secuenciamiento genético (**Figura 5**).



Figura 5. Área de biología molecular, Agrosavia.

Este taller se realizó con el fin de fortalecer capacidades sobre estrategias de manipulación de muestras y técnicas moleculares de diagnóstico para la detección de *Foc R4T* en plantas sospechosas de marchitez por *Fusarium* en campo.

3. Conclusiones

- Las adecuaciones del laboratorio de CENIBANANO se llevaron a cabo según las sugerencias realizadas por el ICA, esto debido a la complejidad del manejo del *Foc R4T* para evitar su dispersión.
- Se estima que la documentación relacionada con el registro de la prueba se ha desarrollado hasta un 70%. Con el apoyo de personal competente en el área de Gestión de Calidad y en la NTC-ISO/IEC 17025 este proceso se cumplirá satisfactoriamente.
- El intercambio de información y la ampliación de conocimientos mediante visitas, talleres o cursos es básico para consolidar el potencial de diagnóstico de CENIBANANO.

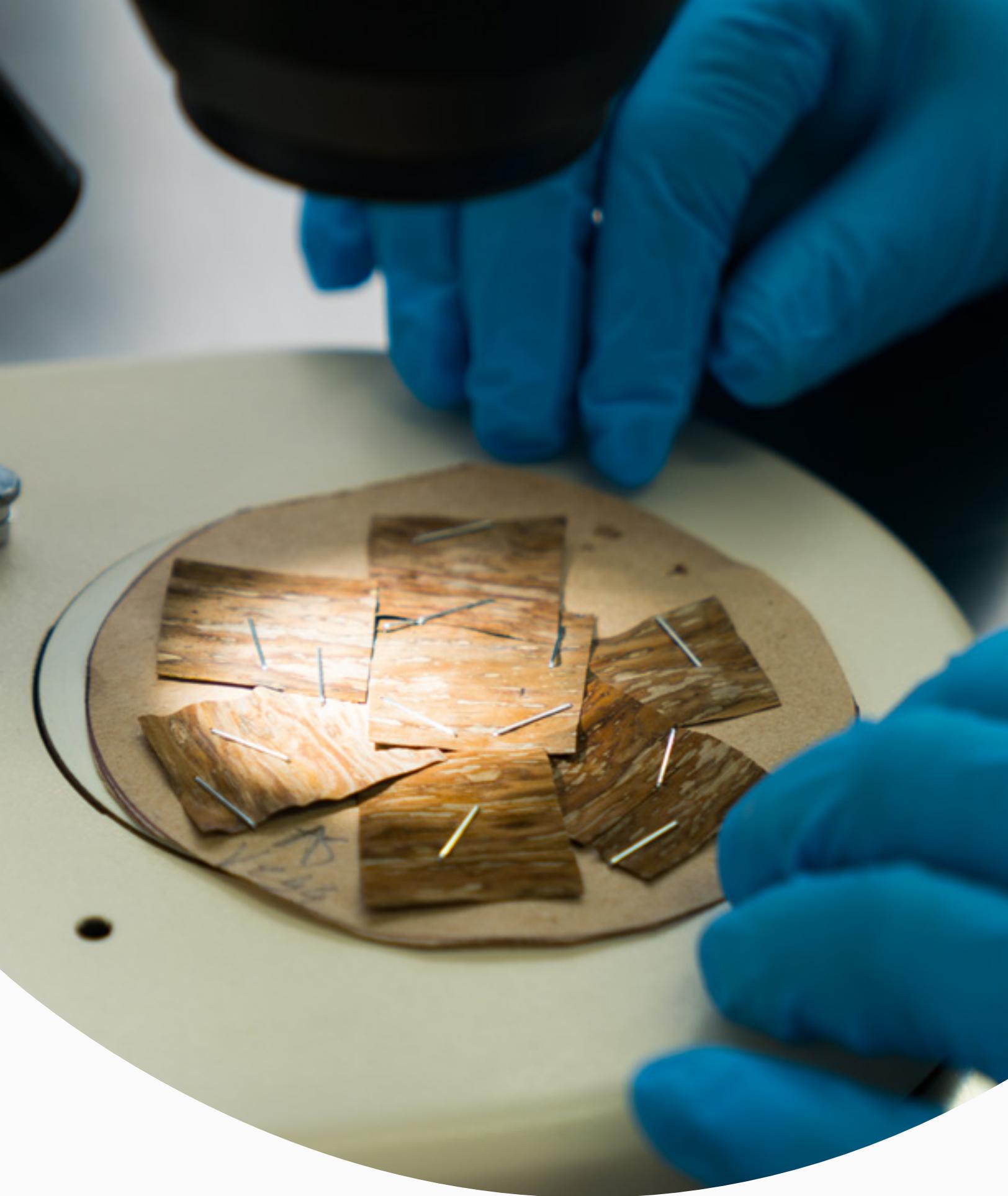
4. Referencias bibliográficas

Norma Técnica Colombiana NTC-ISO/IEC 17025 de 2017 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”

Resolución 11912 de 2019 “Por medio de la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de la enfermedad conocida como Marchitez de las musáceas por *Foc R4T*.” ICA.

Resolución 093858 de 2021 “Por medio de la cual se establecen los requisitos y el procedimiento para el registro de laboratorios que realicen pruebas de análisis y/o diagnóstico a terceros en el sector agropecuario” ICA.

ICA, 2019 “ICA amplía y refuerza las medidas, que ya venía implementando, para atender la presencia de *Fusarium R4T* en cultivos de banano en La Guajira” Sitio web: <https://www.ica.gov.co/noticias/ica-amplia-y-refuerza-las-medidas-que-ya-venia-im>



Asistencia técnica

7. ASISTENCIA TÉCNICA, EXTENSIÓN, PUBLICACIONES, CAPACITACIONES Y TRANSFERENCIA

La asistencia técnica, extensión, capacitaciones y transferencia de CENIBANANO tiene como propósito principal transmitir, informar, asesorar, capacitar, generar información, extender y compartir con el sector bananero información relevante, resultados de investigación y actividades relacionados con el manejo productivo del cultivo de banano de una manera ágil, clara y veraz sobre los diferentes tópicos que componen la cadena. En tal sentido, este capítulo contiene las principales actividades desarrolladas por las líneas de investigación en fitosanidad (entomología y fitopatología), suelos y agricultura de precisión, agroclimatología y fisiología a lo largo del año por medio de charlas técnicas presenciales y virtuales, asesorías o asistencia técnica en fincas, Ceninotas, boletines técnicos y mensajes cortos en AUGURA HOY y AUGURA INFORMA.

Durante el año 2021, CENIBANANO capacitó un total de **2.647 personas**, brindadas en espacios presenciales y virtuales a productores, técnicos de fincas y comercializadoras, administradores, personal operativo, estudiantes e investigadores de diversas instituciones. Se resaltan los temas de manejo integrado de plagas, prácticas culturales como el desmache, variables agroclimáticas y el efecto del fenómeno de “La Niña” en las regiones productoras, además, del uso de la plataforma FieldClamate, donde todas las fincas, técnicos y productores de Urabá cuenta con acceso gratuito para monitorear las variables climáticas en tiempo real. A su vez se dieron capacitaciones en acciones de bioseguridad e infraestructura para la prevención de Foc R4T, de vital importancia por la reciente inclusión del hongo a la región del Magdalena, y en el manejo del moko, enfermedad que ha causado la erradicación de más de 120 ha en Urabá (**Tabla 1, Figura 1**).

A su vez, se desarrollaron asistencias técnicas en el 100% de las fincas de la región. Los principales temas abordados fueron la confirmación de síntomas de plantas sospechosas en campo, labor realizada en conjunto con técnicos del ICA para la toma de muestras y posterior envío al laboratorio, los talleres de campo para el manejo del moko, visitas para adecuar la infraestructura de bioseguridad para Foc R4T, identificación y prácticas de manejo para plagas como arañita roja, cochinilla y colaspis, trigona, picudo negro diagnóstico de deficiencias nutricionales y seguimiento a compactación del suelo en los diferentes predios, manejo de arvenses y coberturas para disminuir la erosión de suelos y evaluaciones de plagas en unidades portuarias de la región (**Tabla 1, Figura 1**).

Tabla 1. Charlas técnicas, capacitaciones y asistencia técnica brindadas por CENIBANANO en 2021.

MES	TEMA	PÚBLICO	FINCAS	Nº CAPACITADOS
Enero	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	La Triada, El Antojo, Pangordito, Leonor Emilia, San Felipe	43
	Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Iris Recreo	40
	Infraestructura y principios de bioseguridad para la prevención de la marchitez por Fusarium Foc	Técnicos, administrativos y personal operativo	El Paso	10
Febrero	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Bacota, San Carlos, Tábano	30
	Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	CE, Buena Vida, San José, Rocalina, Unión Pino, Villa Lolita, Grupo Santamaría	270
	Taller Infraestructura y principios de bioseguridad para la prevención de la marchitez por Fusarium Foc	Técnicos, administrativos y personal operativo	Varias	22
	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Villa Lupe, Llano Verde	30
	Taller de campo. Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Alabama, La Frontera, El Cortijo, Tierra Grata, Bananova, La Gira	264

Marzo	Taller campo. Infraestructura y principios de bioseguridad para la prevención de la marchitez por Fusarium Foc	Técnicos, administrativos y personal operativo	C.I. Banacol, Rocalina	21
	Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	EPM, profesores y estudiantes FundaUnibán	NA	62
	Monitoreo e identificación de síntomas de arañita roja	Personal de sanidad vegetal C.I. Unibán	NA	30
Abril	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Tábano, Agroindustrias Bleyamar, El Paso	143
	Taller de campo. Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Gaira, Santillana, Tábano, Agroindustrias Bleyamar	294
	Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	San Bartolo, Agrícola Sara Palma, estudiantes Unal Med	33
Mayo	Uso de la plataforma FieldClimate	Productores, técnicos, administrativos	C.I. Tropical, Caaisa, Calima, Cibeles, La Hacienda, Agrochigueros, La Tinaja, El Encanto, La Rural, Buena Vista	24
	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	San José, Girasoles	32
	Taller de campo. Manejo de arvenses y coberturas	Técnicos, administrativos y personal operativo	El Antojo, Ucrania, Palo de Agua y El Paso	42
	Taller de campo. Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Nuevo Horizonte y Villa Lupe	7

	Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Personal de gestión predial Vía Zungo	2
Junio	Uso de la plataforma FieldClimate	Productores, técnicos, administrativos	19 grupos y/o productores	59
	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Bellavista, Arizona, Alabama, Villa Lolita, San José	109
	Taller de campo. Manejo de arvenses y coberturas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Campo Experimental, El Paso	18
	Taller de campo. Marchitez por Fusarium Foc R4T, bioseguridad y medidas preventivas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Guatinaja y Villa Lupe	4
	Monitoreo de plagas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Banaexport, C.I. Unibán S.A., Agrosiete, Sarapalma.	17
	Retos y estrategias de control de sigatoka negra	Productores, técnicos, administrativos	Unibán	80
Julio	Uso de la plataforma FieldClimate	Productores, técnicos, administrativos	Grupos y/o productores	24
	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Villa Ema, Diocelina, Miraflores, Nuevo Horizonte, Pangordito	61
	Taller de campo. Manejo de arvenses y coberturas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Puerto Alegre, El Paso	18
	Monitoreo de plagas	Técnicos, administrativos y personal operativo	C.I. Banafut, C. I. Banacol, C.I. Tropical, Grupo 20, Finca Maryland y Cibeles	42
	Uso de la plataforma FieldClimate	Productores, técnicos, administrativos	Grupos y/o productores	24

Agosto	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Villa Ema, Diocelina, Miraflores, Nuevo Horizonte, Pangordito, El Antojo, Buena Vida, Miriam Amparo, Grupo la Docena	107
	Aspectos generales de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. cubense R4T (Foc R4T), protocolos de Bioseguridad en finca.	Técnicos, administrativos y personal operativo	Cabo de Hornos, Triada	53
	Taller de campo. Manejo de arvenses y coberturas	Técnicos, administrativos y personal operativo	Puerto Alegre, El Paso, Pangordito	29
	Charla técnica “Métodos y requisitos para la elaboración de un plan nutricional”	Productores de plátano	Banacol	12
	Monitoreo de plagas	Técnicos, administrativos y personal operativo	C.I. Banafrut, C. I. Banacol, C.I. Tropical, Grupo 20, Finca Maryland y Cibeles	42
Septiembre	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	San Jorge, Altamar y Altavista	77
	Sincronización del banano Cavendish y su efecto en algunos componentes del rendimiento	Productores, técnicos, administrativos	Varias	50
Octubre	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Velero, Fragata, Campo Experimental	43
	Uso eficiente del agua de riego en banano	Productores, técnicos, administrativos y personal operativo	Varias Magdalena	41
	Generalidades del cultivo de banano	Estudiantes UdeA y Universidad de Medellín	NA	21

Noviembre	Taller de campo. Manejo integrado de Moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	CE, Santa Marta, Providencia, Represa, Sultana, Aguas Verdes 1, Aguas Verdes 2,	91
	Interpretación de resultados de análisis de suelos y su aplicación	Mesa técnica de suelos (SENA)	Varios	52
	Relación entre la fluorescencia de la clorofila a y los componentes de rendimiento en banano cv Cavendish	3º congreso Mexicano de fisiología vegetal, 1º congreso internacional	Varios	100
Diciembre	Taller de campo. Manejo integrado de moko	Técnicos, administrativos y personal operativo	Buenos Aires, Girasoles, Grupo Las Antillas, Asturias, Acacias	74
TOTAL PERSONAS CAPACITADAS				2.647



Figura 1. Registro fotográfico de charlas técnicas, capacitaciones y asistencia técnica.

Las Ceninotas son un espacio donde los investigadores de CENIBANANO publican y entregan al sector bananero, recomendaciones para el manejo de condiciones y prácticas del cultivo. Durante el año 2021, se publicaron **18 Ceninotas** enfocadas en el control y manejo integrado de plagas, comportamiento climático en las regiones productoras, el estado actual de moko en la región de Urabá, alertas de incidencia de plagas, enfermedades y desordenes fisiológicos, entre otros, temas de aplicabilidad y actualidad en el momento en que se realizó su publicación (**Tabla 2, Figura 2**).

Tabla 2. Ceninotas elaboradas y publicadas por CENIBANANO en 2021

No	FECHA	TÍTULO	ÁREA DE INVESTIGACIÓN
1	14/01/2021	Monitoreo inicial de ácaros en la zona de Urabá	Entomología
2	18/02/2021	¿Cómo es el comportamiento climático en la zona bananera de Urabá en el cuatrimestre Noviembre-Febrero?	Agroclimatología
3	12/03/2021	¿Cómo es el comportamiento climático en la zona bananera de Urabá en el mes de febrero de 2021?	Agroclimatología
4	21/04/2021	Conservación de suelos en fincas bananeras con el uso de plantas de coberturas, Urabá-Antioquia	Suelos y agricultura de precisión
5	26/04/2021	Distribución de la lluvia en la zona bananera de Urabá en el primer trimestre del año 2021	Agroclimatología
6	18/05/2021	Nuevos reportes de insectos en zona bananera de Urabá	Entomología
7	31/05/2021	Efecto de la permanencia de malezas, rebrotes de plantas de banano y vástagos dentro de focos en el manejo integrado de la enfermedad de moko	Fitosanidad
8	9/06/2021	Alerta ante incremento de sigatoka negra	Fitosanidad y Agroclimatología
9	21/07/2021	Plantas de cobertura en canales de drenaje para fincas bananeras	Suelos y agricultura de precisión
10	26/08/2021	¡Atención! ¡Importante! Reporte de nuevo ácaro en Latinoamérica	Entomología
11	14/09/2021	Estatus del sistema de alerta del ENOS: Vigilancia de La Niña	Agroclimatología
12	20/09/2021	Recomendaciones de manejo para plantaciones de banano ante afectaciones por lluvias fuertes e inundaciones	Fisiología y nutrición vegetal
13	19/10/2021	Recomendaciones de manejo para mitigar mermas por mancha de madurez	Fisiología y nutrición vegetal
14	25/10/2021	Evitemos la dispersión del vector del Banana Bunchy top virus (BBTV)	Entomología
15	3/11/2021	Alerta ante la presencia del complejo de picudos del banano en la región de Urabá	Entomología
16	8/11/2021	Preocupante incremento de la enfermedad de moko en Urabá	Fitosanidad

17	13/12/2021	Potencial mátrico como variable para la toma de decisiones en el riego	Fisiología y nutrición vegetal
18	27/12/2021	Cirugía y deshoje, labores claves en el manejo integrado de sigatoka negra y ácaros fitófagos	Todas las áreas



Figura 2. Registro de algunas Ceninotas publicadas en 2021.

En cuanto a los boletines técnicos se publicó **una pieza**, donde se describen los principales **Avances en el manejo integrado de cochinillaharina y fumagina en banano**, que ha servido de modelo para control de esta importante plaga, que se incremento desde el 2020 a raíz, entre otros factores, del cambio de bolsa por la restricción de uso del ingrediente activo clorpirifos (**Tabla 3, Figura 3**). En él, se detallan factores claves en el control de la plaga como la eliminación de guascas, manejo integrado de arvenses y la importancia del lavado de protectores de fruta previa reutilización en campo.

Tabla 3. Boletines técnicos elaborados y publicadas por CENIBANANO en 2021

Nº	FECHA	TÍTULO	ÁREA DE INVESTIGACIÓN
1	Mayo de 2021	Avances en el manejo integrado de cochinilla y fumagina en banano	Entomología



Figura 3. Boletín Técnico de Cenibanano “Avances en el manejo integrado de cochinilla y fumagina en banano”.

Cabe destacar, que durante 2021 Cenibanano diseño un Curso básico de sistemas de información geográfico aplicado al sector bananero mediante el uso del software QGIS

el cual se desarrolló de forma presencial en las instalaciones de AUGURA, mediante exposición magistral de algunos temas (**Figura 4**) como aspectos trigonométricos, concepto de escala, geodesia, cartografía, introducción a los Sistemas de Información Geográfico (SIG), creación, edición y administración de elementos *vectoriales y ráster*, conceptos que permitieron la creación de paquetes SIG para la toma de datos en campo a partir del Software de captura de información en campo *Qfield*, generación de mapas, entre otros, herramientas claves en la gricultura de precisión en el cultivo de banano. En la actualidad debido a la implementación de software libre, poner en práctica la agricultura de precisión es más sencillo para el productor, permitiéndole realizar análisis de forma simple y tomar decisiones con base en mapas de manejo y variabilidad de cada uno de los parámetros medidos en el cultivo, tales como resistencia a la penetración, productividad, nutrientes, salud de la plantación y otros. A su vez, le permite tener un control sobre las cantidades de aplicación de diferentes productos tales como herbicidas, fertilizantes; conocer las zonas de la finca con mayor productividad con el fin de tener una cosecha programada; determinar puntos críticos de los sistemas de drenaje, entre otras aplicaciones.

CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 1	Introducción
SUBTEMAS	
Presentación del curso Equipos GPS: ¿Qué son y cómo usarlos?	
CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 2	Aspectos trigonométricos y conceptos de escala
SUBTEMAS	
Expresiones matemáticas de los SIG Aspectos básicos de topografía Altimetría Distancias horizontales e inclinadas El concepto de escala	
CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 3	Geodesia y cartografía
SUBTEMAS	
Geodesia Sistemas coordenados Sistemas de referencia Cartografía Componentes básicos de la cartografía	
CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 4	Introducción a los SIG
SUBTEMAS	
Definición de SIG Introducción al QGIS Tipos de equipos para la toma de datos Manejo de equipos de captura Toma de geodatos Manipulación de geodatos	

CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 5	Creación, edición y administración de elementos Vector
SUBTEMAS	
Definición de elementos Vector Creación y edición de elementos Vector Administración de bases de datos Topología Simbología y etiquetas	
CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 6	Creación, edición y administración de elementos Raster
SUBTEMAS	
Definición de elementos Raster Creación, edición y administración de elementos Raster Georeferenciación de imágenes Digitalización de información georeferenciada Simbología y etiquetas	
CONTENIDOS TEMÁTICOS	
TEMA 7	Introducción al uso de QFIELD
SUBTEMAS	
Creación, edición y empaquetado de capas para Qfield Digitalización de información georeferenciada Sincronización y análisis de la información colectada en campo Edición y diseño de un mapa	

Figura 4. Contenido del curso básico de sistemas de información geográfico aplicado al sector bananero mediante el uso del software QGIS



Noviembre 24, 25 y 26 de 2021 - Modalidad Virtual

8. IX CONGRESO TÉCNICO BANANERO

Tras la llegada del hongo *Fusarium Raza 4 Tropical* y la pandemia por Covid-19, después de 2 años, el sector bananero colombiano se reunió en el entorno digital para dar lugar al IX Congreso Técnico Bananero de Colombia, consolidado como uno de los eventos agrícolas más importantes a nivel nacional. En él, se presentaron avances en temas de investigación, tecnología e innovación realizados por investigadores de talla mundial.

Del 24 al 26 de noviembre, se trataron temáticas de interés para la agroindustria bananera que se articulan con las líneas de investigación del Centro de Investigaciones del Banano, CENIBANANO, cómo: suelos y agricultura de precisión, fisiología y nutrición vegetal, fitopatología, entomología, biotecnología y agroclimatología. Esto, con el objetivo de continuar afianzando el conocimiento técnico y científico de nuestros colaboradores y afiliados.

Esta novena versión se realizó de manera remota con 24 conferencistas, de los cuales 7 fueron ponentes internacionales provenientes de Brasil, Costa Rica, República Dominicana, Ecuador y Estados Unidos. Cada espacio dio lugar a presentaciones cortas y foros de discusión moderados por técnicos de nuestros afiliados, dando cabida a inquietudes de los espectadores (**Figura 1**). Así mismo, se expusieron 18 trabajos de investigación, en la modalidad de póster, seleccionados a través de una convocatoria abierta, con temas asociados al diseño de herramientas innovadoras y de alto impacto para el sector, donde el protagonista fue la comunidad estudiantil de las regiones productoras y el país.

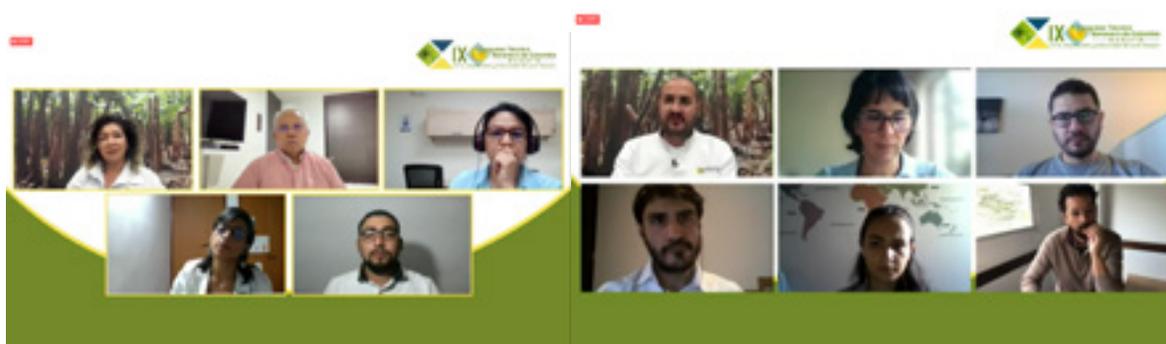




Figura 1. Foros de discusión con conferencistas

1700 personas inscritas en más de 24 países aprovecharon el IX Congreso para actualizarse académicamente en temas de gran importancia, un motivo de orgullo para la asociación y el centro de investigaciones, donde se demuestra el interés y compromiso para fortalecer la competitividad y productividad del sector bananero de Colombia (**Tabla 1**).

Tabla 1. Métricas de alcance del IX Congreso Técnico Bananero de Colombia

JORNADA	TEMATICA	PERSONAS CONECTADAS	IMPRESIONES PÓSTERS	PAÍSES
Miércoles (a.m.)	SUELOS Y AP	960	1.198	Colombia, Ecuador, Perú, EEUU, México, Costa Rica,
Miércoles (p.m.)	FISIOLOGÍA	591	826	Brasil, Honduras, Venezuela, Argentina, Guatemala, Panamá, Filipinas,
Jueves (a.m.)	FITOPATOLOGÍA	626	885	Japón, Rusia, Singapur, Corea, Tailandia,
Jueves (p.m.)	ENTOMOLOGÍA	240	618	Francia, Hong Kong, Irlanda, Reino Unido, Emiratos Árabes Unidos y Alemania
Viernes (a.m.)	BIOTECNOLOGÍA	262	642	
Viernes (p.m.)	AGROCLIMATOLOGÍA	293	392	
	PROMEDIO	495	760	24 países conectados



Cenibanano
Informe anual 2021
Asamblea 2022