

Remplace ep
dispan ?

Estudio de la asociación nematodos-hongos del suelo sobre bananero en Costa de Marfil

El trabajo que publicamos a continuación ha sido traducido por FRUT, del francés al español y se ha extraído de las ponencias de la "2ª Conference Internationale sur les maladies des plantes" organizada por ANPP del 8 al 10 de noviembre de 1.988 en Burdeos.

Las actas integrales de estas jornadas científicas (3 volúmenes) están disponibles en A.C.T.A.; 149 Avenue de Bercy; 75595 Paris CEDEX 12.

T. Mateille; S. Folkerstsma.

I.I.R.S.D.A.: BP VSA. - Abidjan - Côte d'Ivoire.

Summary:

NEMATODE-FUNGI ASSOCIATIONS ON BANANA IN IVORY COAST

Fungi isolation from superficial lesions on roots in banana Musa AAA cv. "Poyo" (Cavendish sub-group) showed that *Fusarium oxysporum* is the most widespread in Ivory Coast, after nematode extraction from these lesions, we noticed that *Radopholus similis*-*F. oxysporum* pair is the most frequent (12 to 25%) followed by the *Helicotylenchus multicinctus* *F. oxysporum* one (6 to 13%). But these associations are random and depend neither on the nematode species nor on the soil type (clay, silty, sandy and peat). Till 30 to 50% of the lesions contain only nematodes: on the other hand, 5 to 10% of them keep only fungi, showing so that both of the parasites can be individually pathogenic.

El impacto de la asociación nemátodos-hongos sobre el bananero ha sido estudiado desde hace mucho tiempo. NEWHALL (1958), LOOS Y LOOS (1960) habían llegado a la conclusión de que la presencia de la enfermedad de Panamá, causada por *F. oxysporum* f.sp *cubense* sobre la variedad "Gros Michel" era considerablemente acelerada en presencia de *R. similis*; la invasión de las raíces por este hongo sería activada por el establecimiento

de condiciones nutritivas favorables a su desarrollo. condiciones creadas por el primer parásito, el nemátodo (BLAKE, 1966; 69). El crecimiento de las plantas y sus rendimientos quedan por ello muy afectados (SIKORA et SCHOSER, 1973).

La estructura de las comunidades de nemátodos parásitos del bananero está determinada por las características físico-químicas de los suelos (QUENEHERVE, 1988).

Resumen:

El aislamiento de los hongos de las lesiones superficiales de las raíces del bananero Musa AAA cv. "Poyo" (subgrupo Cavendish) ha demostrado la predominancia del *Fusarium oxysporum* en los bananeros de la Costa de Marfil. La extracción de nemátodos de estas lesiones ha precisado que el par *Radopholus similis*-*F. Oxysporum* es el más frecuente (12 a 25%), seguido del par *Helicotylenchus multicinctus*-*F. oxysporum* (6 a 13%). Pero estas asociaciones son aleatorias y no dependen ni de la especie del nemátodo, ni del tipo de suelo (arcillas, limos, arenas y turbas). Hasta un 30-50% de las lesiones no contienen más que nemátodos; inversamente, de 5 al 10% de entre ellas no contienen más que hongos, indicando así que los parásitos pueden ser individualmente patógenos.

Por otra parte la naturaleza de las poblaciones fúngicas puede estar ligada a la de las poblaciones de nemátodos. Tanto es así que BOOTH y STOVER (1974) indican que *Cylindrocarpon musae* está comúnmente asociado a *Radopholus similis*, representando del 15 al 50% de la microflora aislada en las raíces de los bananeros en Hispano-América y en las Antillas Francesas.

Por entonces, STOVER (1966) men-

ción que *Fusarium solani* y *Rhizoctonia* sp. predominan en las lesiones de las raíces, causadas o no por los nemátodos; se averigua que *F. solani* es frecuente en las lesiones de *R. similis*, y *Rhizoctonia* sp. en las lesiones por *Helicotylenchus multicinctus*. En 1980, PINOCHET Y STOVER aislan hongos a partir de las lesiones debidas a *Pratylenchus coffeae*: *Acremonium stromaticum* y *C. musae* representando el 74% de las muestras.

Para BOOTH y STROVER (1974), la penetración de *C. Musae* dentro de las raíces no sería posible más que por intermedio de lesiones superficiales; pero su patogenicidad ha sido demostrada con la ausencia de otros parásitos (PINOCHET y STOVER, (1980a). Parece entonces que los tipos de asociación sean parecidos sobre otros grupos genéticos de *Musa* sp. como el Plantain (PINOCHET, 1979; PINOCHET y STOVER, 1980b).

Pero la patogenicidad de estas asociaciones es aún desconocida. El estudio biológico de la infección de los hongos con o sin nemátodos no ha sido abordado más que bajo el aspecto de los daños ocasionados, pero jamás bajo un ángulo fisiológico.

CONDICIONES DEL ESTUDIO: (foto 1)

El cultivo del banano en la Costa de Marfil ofrece una diversidad de suelos muy importante. Las asociaciones de nemátodos-hongos a nivel de la rizosfera del bananero han sido identificadas en función de esta diversidad, para permitirnos buscar la existencia de una inter-relación entre los nemátodos y los hongos y definir sus factores relacionales.

Inventario de las asociaciones nemátodos-hongos

Se han elegido cuatro tipos de suelos característicos del cultivo de este frutal en la Costa de Marfil: suelos limosos, suelos arenosos, suelos arcillosos y suelos de turba (tabla 1).

Sobre cada localización se han recogido muestras de raíces de 50 bananos AAA cv. "Poyo". Las raíces se han lavado con agua. Después, de cada muestra, dos fragmentos de raíz presentando lesiones

superficiales se han guardado. Se ha procedido a desinfectar la superficie de los fragmentos durante 2 minutos con una solución de cloruro de sodio (NaOCl 1%), después en otra solución de streptomina al 0,7%, y finalmente se han lavado con agua destilada estéril. Las lesiones de las raíces, tiras rojo-pardas de 0.5 a 1 cm. de longitud se han separado y se han cortado longitudinalmente. (foto 2)

Para el aislamiento de los hongos, (foto 3) la mitad de la lesión se ha depositado en cápsulas de Petri en un medio de agar-malta al 2%.

Para la separación de los nemátodos, la otra mitad de tejidos lesionados ha sido colocada en tubos de ensayo conteniendo 10 ml. de una solución de agua oxigenada (H₂O₂ 100v. 1%) según la técnica de COWEN y EDMUNDS (1973).

Impacto de una asociación nemátodo-hongo: caso de *R. similis* *F. oxysporum*.

Si la existencia de estas asociaciones a nivel de raíces del bananero es un hecho real, su poder patógeno es desconocido en la parte de cada

uno de los dos parásitos (nemátodo u hongo) dentro de una patología de la raíz de banano que queda por definir.

Como preliminar, una inoculación combinada de un nemátodo y de un hongo ha sido experimentada sobre plantas obtenidas "in vitro" de banano.

Dos brotes foliares y enraizados de banano AAA c. "Poyo" han sido cultivados in vitro en el medio base de MURASHIGE y SKOOG (1962) modificado para la propagación del banano (MATEILLE y FONCELLE, en prensa).

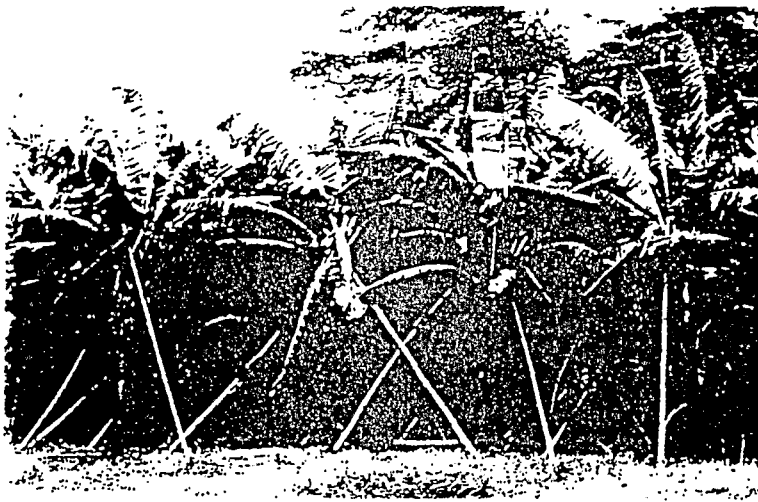
Diez hembras de *R. similis* obtenidas de crías monoxénicas (o autóicas, de un solo género) (MATEILLE en prensa) y *F. oxysporum* han sido inoculadas "in vitro" en brotes de banano. Cuatro condiciones han sido consideradas:

- Brotes no inoculados (testigo).
- Brotes inoculados con *R. similis*
- Brotes inoculados con *F. oxysporum*
- Brotes inoculados con *R. similis* y dos semanas después con *F. oxysporum*.

Tabla 1: Análisis de los suelos de las plantaciones de Bananeros de Costa de Marfil y frecuencias de los nemátodos parásitos del bananero cv. "Poyo" (QUENEHERVE, 1.988).

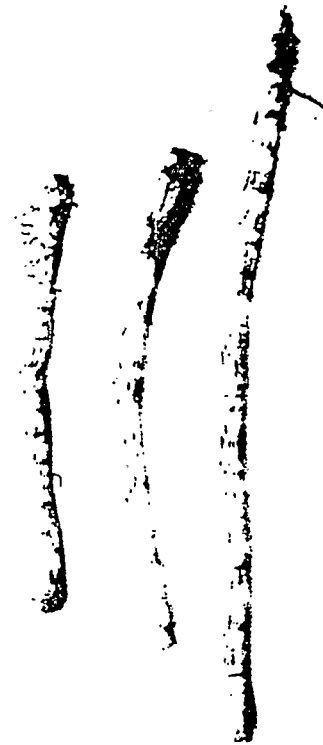
Estructura	Limos	Arenas	Arcillas	Turbas
% Arcillas 0-2,um	21,7	8,6	61,2	0
% Limos 2-20,um	26,8	7,4	20,3	0
% Limos 20-50,um	23,2	20,5	0,2	0
% Arenas 50-200,um	17,5	46,7	0,2	0
% Arenas 200-2000,um	5,5	15,7	0,2	0
% H ₂ O	2,2	0,7	3	*
% Materia orgánica	2,5	1,2	14,2	*
pH H ₂ O	5,9	4,9	4	3,4
pH KCl	5,4	4,5	3,5	3
% C	14,9	6,6	109,5	397,3
% N	1,4	0,5	5,5	15,5
C/N	10,9	12,8	20,1	25,6
% nemátodos en raíces				
<i>Helicotylenchus multicinctus</i>	2,2	15,1	87,6	92,1
<i>Hoplolaimus pararobustus</i>	16,9	16,5	0,5	1,7
<i>Radopholus similis</i>	77,2	62,1	10,8	5,8
Otros nemátodos	3,7	6,3	1,1	0,4

* Datos no disponibles



1

Foto 1 - Aspecto de un bananal de la Costa de Marfil (Variedad Musa AAA Poyo).

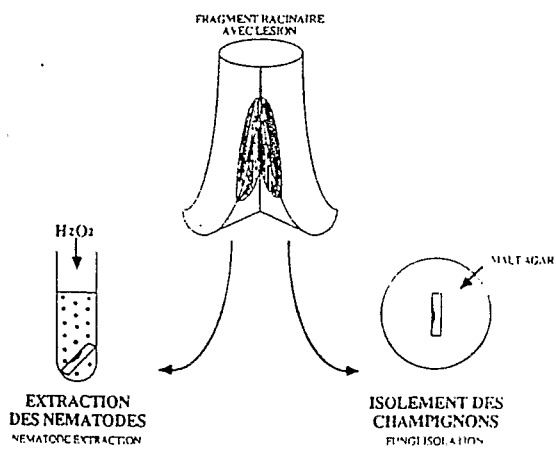


2

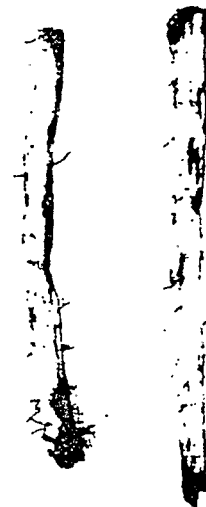
Foto 2 - Lesiones características de la superficie de las raíces.

Foto 3 - Técnica de extracción de nemátodos y de aislamiento.

Foto 4 - Desarrollo de las lesiones en las raíces.



3



4

RESULTADOS Y DISCUSION

Inventario de asociaciones.

El estudio más profundo de la literatura muestra que, si las experimentaciones pasan por los aislamientos sistemáticos del hongo de las lesiones de las raíces, no es lo mismo, para los nematodos, efectivamente una lesión se supone que contiene tal o cual nemátodo simplemente por su aspecto; o bien la descripción de los nemátodos se hace después de su extracción global de las raíces. Los diversos autores sacan consecuencias basadas sobre la frecuencia de las asociaciones para concluir sobre las especificidades nemátodo-hongo, sin verificar si estas asociaciones son probables o no.

La extracción de nemátodos de las lesiones ha permitido la determinación de *Helicotylenchus multicinctus*, *Hoplotaimus pararobustus*, *Raobolius similis*.

Los hongos aislados de las lesiones pertenecen a 6 géneros. *Aspergillus*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Pe-*

nicillium, *Rhizoctonia* y *Trichoderma*. La especie representante del género *Fusarium* es el *F. oxysporum*.

El análisis del conjunto de las lesiones a revelado (tabla II) que, cualquiera que sea el tipo de suelo las lesiones debidas a *R. similis* son dominantes (36 a 58,5%) seguidas por las debidas a *H. multicinctus* (21,5 a 30%) cuando, según BENEHERVE (1988), las proporciones de las poblaciones en equilibrio dentro de las raíces dependen de la naturaleza de los suelos (tabla I).

Esta diferencia proviene de las condiciones experimentales: los tejidos lesionados muestreados son juvenes y superficiales. *R. similis* es ciertamente el primer nemátodo a parasitar sea cual sea el tipo de suelos, lo que explica que sea el más frecuentemente encontrado en este tipo de lesiones. *H. multicinctus* no debe infectar las raíces hasta un segundo tiempo. Los caracteres físico-químicos de los suelos orientan las estructuras de

las poblaciones de nematodos.

Entre los hongos inventariados, *F. oxysporum* aparece como mayoritario (29 a 43%). También aquí parece que la naturaleza del suelo no tiene una influencia particular sobre la naturaleza de los hongos aislados de las lesiones.

Los análisis estadísticos (tests χ^2) de las asociaciones por tipos de suelos han mostrado que, a excepción de la asociación *H. multicinctus*-*F. oxysporum* sobre arena, todas las asociaciones son aleatorias ($p > 5\%$). Esto señala que aunque la asociación *R. similis*-*F. oxysporum* sea la más frecuente (12 a 25%), seguida de la asociación *H. multicinctus*-*F. oxysporum* (6 a 13%), la presencia de un tipo de nemátodo dentro una lesión no indica forzosamente la de un hongo dado. No existe asociación privilegiada.

Aunque este estudio haga referencia a las asociaciones posibles, el análisis de la tabla II muestra que la mayor parte de las lesiones (25-48%) no contienen más que nematodos. Esto, señala que, de acuerdo

Tabla II: Frecuencia de la asociaciones de nemátodos-hongos observadas en las lesiones de las raíces del banano cv "Poyo" sobre cuatro tipos de suelos.

Frecuencias % (probabilidades χ^2)	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>	<i>Hoplotaimus pararobustus</i>	<i>Radopholius similis</i>	ningun nematodo	Total
Limos					
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,15 (0,42)	1,54 (0,67)	20,77 (0,76)	5,38	33,84
Otros hongos *	2,31	0,77	5,39	2,31	10,78
Ningún hongo	13,08	3,08	32,30	6,92	55,38
Total	21,54	5,39	58,46	14,61	100,00
Arenas					
<i>Fusarium oxysporum</i>	10,15 (0,02)	5,47 (0,61)	11,72 (0,55)	3,13	30,47
Otros hongos	4,68	7,02	10,93	7,80	30,43
Ningún hongo	7,05	3,92	21,88	6,25	39,10
Total	21,88	16,41	44,53	17,18	100,00
Arcillas					
<i>Fusarium oxysporum</i>	13,20 (0,73)	0,0	24,53 (0,44)	5,66	43,39
Otros hongos	6,60	0,0	13,20	4,72	24,52
Ningún hongo	10,38	0,0	16,05	5,66	32,09
Total	30,18	0,0	53,78	16,04	100,00
Turbas					
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,00 (0,47)	0,0	15,0 (0,06)	8,00	29,00
Otros hongos	9,00	3,0	12,00	12,00	36,00
Ningún hongo	11,00	5,0	9,00	10,00	35,00
Total	26,00	8,0	36,00	30,00	100,00

* *Aspergillus*, *Cylindrocarpon*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* spp.

a la elección de las lesiones muestradas y por lo tanto al estado reciente de su evolución, los nemátodos son efectivamente los primeros parásitos que intervienen en el proceso de contaminación de las raíces. Esto sugiere también que los fenómenos fisiológicos de necrosis que se conocen por la coloración rojo-parda de los tejidos lesionados pueden ser inducidos por solo los nemátodos.

Inversamente, del 3 al 8% de entre ellas no albergan más que *F. oxysporum* sin nemátodos. Por lo tanto diversas hipótesis son posibles:

- Las lesiones no han sido causadas por nemátodos, pero puede ser la causa otro parásito no identificado, o una causa mecánica que ha actuado sobre la raíz.
- Las lesiones han sido causadas por nemátodos, pero las condiciones ecológicas creadas localmente por la necrosis de los tejidos no ha permitido ni el mantenimiento ni el desarrollo de un foco.

Impacto de la asociación *R. similis*-*F. oxysporum*

Los síntomas foliares y radicales observados han sido anotados en la tabla III.

Estas observaciones demuestran que cada parásito entraña perturbaciones fisiológicas en los brotes. Pero es interesante constatar que *R. similis* afecta a la vez al sistema foliar y radical, lo que no es el caso de *F. oxysporum* (la coloración del cuello de la planta proviene más de un contacto directo con el hongo inoculado en la superficie del medio).

Contrariamente, la asociación de los dos parásitos conlleva al mismo tiempo una necrosis mucho más precoz y rápida de la planta, probando así que los nemátodos han facilitado la penetración del hongo en las raíces, estos resultados se acercan a los de BLAKE (1966) que estimaba necesaria la presencia del *R. similis* dentro de las raíces para que el *F. oxysporum* fuese patógeno.

CONCLUSIONES:

Nemátodos y hongos pueden estar asociados en las lesiones superficiales, muy características que

TABLA III Efectos de la asociación *R. similis*-*F. oxysporum* sobre el crecimiento "in vitro" de los brotes de bananos cv. "Poyo".

Inóculo	Síntomas en el aparato radical	Síntomas foliares
Ninguno	Raíces blancas Raíces primarias largas y espesas Numerosas raíces secundarias	Cuello blanco Cuello blanco Hojas verdes
<i>R. similis</i>	Ennegrecimiento de raíces Retraso de crecimiento y emisión	Amarillez cuello pardeamiento hojas externas
<i>F. oxysporum</i>	idem	Amarillez cuello. Hojas verdes
<i>R. similis</i> + <i>F. oxysporum</i>	idem	Necrosis cuello y conjunto de hojas.

se desarrollan en la superficie de las raíces del banano, pero la presencia del hongo es aleatoria con referencia a la del nemátodo. El tipo de suelo no influye en la naturaleza de las asociaciones y no aparece ninguna relación específica entre los dos parásitos.

De todas maneras, en un estado poco avanzado de su desarrollo, las lesiones conteniendo estas asociaciones no son mayoría. Las más frecuentes son las que solamente albergan nemátodos. Los síntomas foliares y radicales prueban, que

más de las lesiones de los tejidos que ellos ocasionan, los nemátodos son asimismo responsables de modificaciones fisiológicas (necrosis) importantes a nivel de los tejidos que parasitan.

Aunque estas asociaciones sean fortuitas, los daños que producen en los tejidos se acumulan, confirmando que las cavidades formadas dentro de las raíces por los nemátodos, favorecen la penetración y la expansión de los hongos dentro del sistema radical de la planta (foto 4)

Bibliografía:

- BLAKE C.D., 1966. The histological changes in banana roots caused by *Radopholus similis* and *Helicortylenchus multicinctus*. Nematologica, 12: 129-137.
- BLAKE C.D., 1969 (Ed.), Nematodes of tropical crops, Tech. Commun. Commonw. Bur. Helmit., 40: 109132.
- BOOTH C., STOVER R.H., 1974. *Cylindrocarpon musae* sp. nov., commonly associates with burrowing nematode (*Radopholus similis*) lesions on bananas. Transactions of the British Mycological Society, 63: 503-507.
- GOWEN S.R., EDMUNDS J.E., 1973. An evaluation of some simple extraction techniques and the use of hydrogen peroxide for estimating nematode populations in banana roots. Pl. Dis. Rptr., 57: 678681.
- LOOS C.A., 1959. Symptom expression of *Fusarium* wilt disease of the Gros Michel banana in the presence of *Radopholus similis* (Cobb, 1933) Thorne 1949 and *Meloidogyne incognita acrita* Chitwood, 1949. Proc. Helm. Soc. Wash., 26: 103111.
- LOOS C.A., LOOS S.B., LOOS S.B., 1960. The Black head disease of bananas (*Musa acuminata*). Proc. Helm. Soc. Wash., 27: 189-193.
- MATEILLE T., FONCELLE B., Micropropagation of *Musa AAA* cv. "Poyo" in the Ivory Coast. Trop. Agric. (Trinidad) en prensa.
- MATEILLE T., "in vitro" rearing of *Radopholus similis* on *Musa AAA* cv. "Poyo" shoots. Revue Nématol., (en prensa).
- NEWHALL A.G., 1958. The incidence of Panama disease of banana in the presence of the root and burrowing nematodes (*Meloidogyne* y *Radopholus*). Pl. Dis. Rptr., 42: 853-856.
- PINOCHET J.G., STOVER R.H., 1980a. Fungi in lesions caused by burrowing nematodes of bananas and their root and rhizome rooting potential. Trop. Agric., 57: 227-232.
- PINOCHET J.G., 1979. Nematode-fungus associations in bananas and plantains. J. of Nematol., 11: 211.
- PINOCHET J.G., STOVER R.H., 1980b. Fungi associated with nematode lesions on plantains in Honduras. Nematologica, 10: 112115.
- QUENEHERVE P., 1988. Population of nematodes in soils under banana cv. "Poyo" in the Ivory Coast. 2. Influence of soil texture, pH and organic matter on nematode populations. Revue Nématol., 11: 245251.
- SIKORA R.A., SCHLOSSER E., 1973. Nematodes and fungi associated with root systems of bananas in a state of decline in Lebanon. Pl. Dis. Rptr., 57: 615618.
- STOVER R.H., 1966. Fungi associated with nematode and non nematode lesions on banana roots. Can. J. Bot., 44: 1703-1710.