

# Distribución de la enfermedad y diversidad genotípica de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y análisis de la microbiota benéfica asociada

Dra. María C. Jaizme-Vega

Dr. Federico Laich

Dr. Felipe Siverio de la Rosa

*Unidad de Protección Vegetal*

*Instituto Canario de Investigaciones Agrarias*

*Santa Cruz de Tenerife*

*Islas Canarias*



## OBJETIVOS

1. Determinar la incidencia de la enfermedad causada por *Foc* en diferentes regiones plataneras de Canarias.
2. Analizar la posible asociación entre la incidencia de la enfermedad, las diferentes zonas de producción, las variedades, los parámetros bioclimáticos y/o edáficos, y la microbiota benéfica del suelo asociada.
3. Describir la diversidad de especies de *Fusarium* asociados a platanera
4. Caracterizar los diferentes genotipos (haplotipos) de *Foc* y describir su distribución en las zonas de estudio.
5. Determinar la raza y los grupos de compatibilidad vegetativa (VCG) de los aislados de *Foc* .
6. Descartar la posible existencia de *Foc* raza tropical 4 (RT4) en suelos de platanera, utilizando métodos moleculares de detección rápida.

## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá
2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*.
  2. a. **Primera fase** de análisis filogenético y caracterización genotípica de aislados de *Foc* obtenidos de planta con síntoma de la enfermedad. Detección mediante técnicas moleculares de *Foc* RT4 en suelo rizosférico de plantas con y sin síntoma, y en suelo no rizosférico.
  2. b. **Segunda fase** de análisis filogenético y genotipado de aislados de *Foc*. Incremento del número de muestras y del área de estudio.

## ESTUDIOS PREVISTOS

### 1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

Selección de las parcelas en base a la superficie del cultivo, según zona e isla.

Aproximadamente: una parcela cada 50 ha.

- 80 en Tenerife
- 60 en La Palma
- 45 en Gran Canaria
- 10 en La Gomera
- 5 en El Hierro
- 5 en Lanzarote

*Se realizará una encuesta a los agricultores o técnicos responsables de las explotaciones para obtener información de interés de manera sistemática y con base estadística.*

## **ESTUDIOS PREVISTOS**

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

**2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*.**

- ***Muestreo.***
- ***Origen y zona de estudio.***
- ***Número de muestras por parcela***

## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

### 2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*.

- **Muestreo.**

A partir de **tejido de plantas** con síntoma de la enfermedad en parcelas seleccionadas en la fase anterior y a partir de **suelo** rizosférico y no rizosférico.

- **Origen y zona de estudio.**

- **Número de muestras por parcela**

## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

### 2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*.

- **Muestreo.**
- **Origen y zona de estudio.**

*En una primera fase, se realizará un muestreo exploratorio con bajo número de muestras: 40 en Tenerife, 30 en La Palma y 22 en Gran Canaria.*

- **Número de muestras por parcela**

## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

### 2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*.

- **Muestreo.**
- **Origen y zona de estudio.**
- **Número de muestras por parcela**
  - 2 a 5 **plantas afectadas** según la incidencia de la enfermedad en cada finca.

Paralelamente;

- 3 a 4 muestras de **suelo rizosférico** de cada una de las **plantas afectadas** (en la que se haya recogido una muestra para realizar los aislamientos de Foc),
- 2 a 3 muestras de **suelo rizosférico planta sana**
- 2 a 3 muestras de **suelo no rizosférico**.

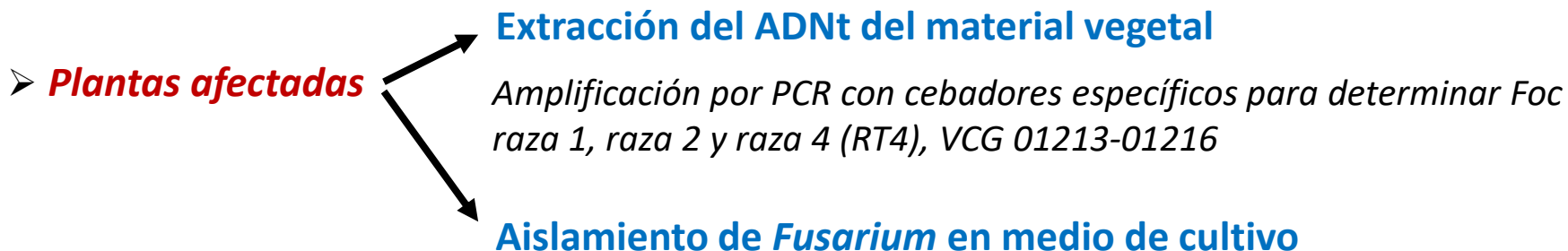


## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

## 2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*

*¿Qué haremos con las muestras?*



## Aislamientos de *Fusarium*



Dos tipos de análisis

**A** ➔ **Extracción de ADN fúngico** ➔ **Diversidad taxonómica de *Fusarium***

Amplificación (PCR) ➔ *factor de elongación de la traducción (tef1)*  
➔ *subunidad mayor y menor de la ARN polimerasa II (rpb1 y rpb2)*  
➔ *espaciadores internos transcritos (ITS)*

Secuenciación, análisis multilocus (MLST), análisis filogenéticos, dendrogramas.

**B** ➔ **Caracterización genotípica de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***

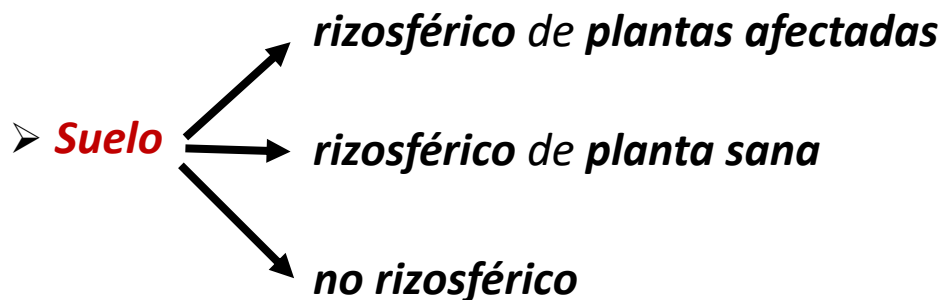
- Amplificación con cebadores específicos para determinar razas de *Foc*, con especial atención a la detección de la raza tropical 4.
- Análisis de secuencias simples repetidas (SSR). Nueve microsatélites.
- Determinación de los haplotipos.
- Distribución de los haplotipos en las diferentes zonas de producción.

## ESTUDIOS PREVISTOS

1. Análisis de la incidencia del mal de panamá

## 2. Prospección y aislamiento de *Fusarium*

*¿Qué haremos con las muestras?*



**Suelo**



Dos tipos de análisis

**A** ➔ **Extracción de ADN genómico de cada tipo de suelo**

*Amplificación por PCR con cebadores específicos para determinar Foc raza 1, raza 2 y raza tropical 4 (RT4).*

**B** ➔ **Análisis de la población de hongos micorrícicos**

*Recuento de esporas mediante la técnica del tamizado en húmedo y planta trampa  
Determinación del número de propágulos mediante la técnica del NMP*

## **ESTUDIOS PREVISTOS**

### **1. Análisis de la incidencia del mal de panamá**

### **2. Prospección y aislamiento de *Fusarium***

*2. a. Primera fase de análisis filogenético y caracterización genotípica de aislados de Foc obtenidos de planta con síntoma de la enfermedad. Detección molecular de Foc RT4 en suelo rizosférico de plantas con síntoma y en suelo no rizosférico.*

*2. b. Segunda fase de análisis filogenético y genotipado de aislados de Foc.*

- Teniendo en cuenta los resultados de la etapa anterior, se establecerá el diseño del muestreo a realizar en una segunda etapa.
- En el caso de observar una alta variabilidad filogenética y genotípica, se realizará una nueva recolección de muestras con el objetivo de duplicar su número.
- Asimismo, se ampliará la zona de estudio al resto de las islas (La Gomera, El Hierro y Lanzarote)
- El incremento de las muestras analizadas en esta etapa, nos debería permitir definir con mayor precisión la distribución de los genotipos y haplotipos en las diferentes zonas de producción dentro de una misma isla y entre islas.
- La comparación de los haplotipos entre islas y “entre archipiélagos”, podría permitir determinar el origen de la enfermedad y el efecto del aislamiento geográfico en la variabilidad de *Foc*.

## PRODUCTOS FINALES

1. Conocer la incidencia de la enfermedad causada por *Foc* en diferentes regiones plataneras de Canarias.
2. Describir la variabilidad genotípica del hongo patógeno y determinar la/s razas y los VCG existentes.
3. Poner a punto los métodos de detección moleculares rápidos de *Foc*, con especial atención a la RT4, en suelo y planta, y descartar su presencia en Canarias.
4. Determinar la potencial relación *Fusarium*-hongos micorrícicos