

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
AGRÍCOLA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN
VEGETAL

COMPUESTOS FENÓLICOS ASOCIADOS
CON LA RESISTENCIA A SIGATOKA NEGRA
(*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN HÍBRIDOS
(AAAB) DE PLÁTANO (*Musa* spp.)

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN:

PROTECCIÓN VEGETAL
PRESENTA:

MANUEL DE JESÚS PÉREZ PÉREZ



CHAPINGO, MÉXICO. SEPTIEMBRE DEL 2000



94502

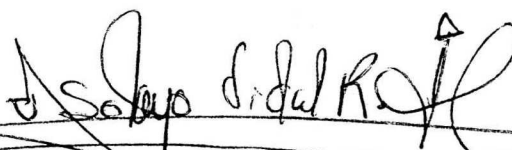
**COMPUESTOS FENÓLICOS ASOCIADOS CON LA RESISTENCIA A
SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN HÍBRIDOS (AAAB)
DE PLÁTANO (*Musa* spp.).**

Tesis realizada por Manuel de Jesús Deras Perla bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado
de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

COMITÉ ASESOR

DIRECTOR:



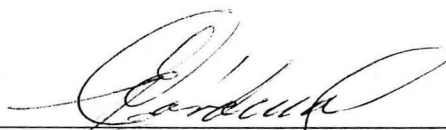
DR. RONEY SOLANO VIDAL

ASESOR:



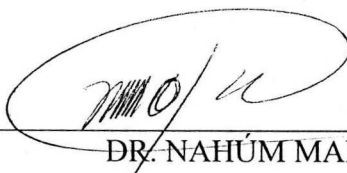
DR. RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

ASESOR:



DRA. ELIZABETH CARDENAS SORIANO

ASESOR:



DR. NAHÚM MARBÁN MENDOZA

A. 37365

Chapingo, México. Septiembre del 2000

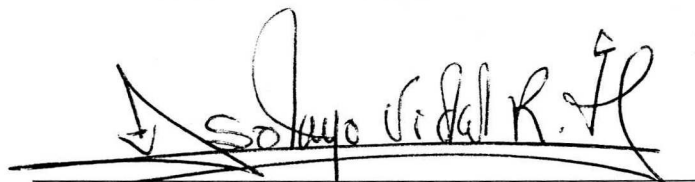
**COMPUESTOS FENÓLICOS ASOCIADOS CON LA RESISTENCIA A
SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN HÍBRIDOS (AAAB)
DE PLÁTANO (*Musa* spp.)**

El jurado que revisó y aprobó el examen de Manuel de Jesús Deras Perla autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal estuvo constituido por:

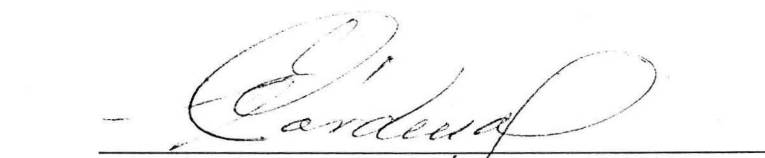
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

COMITÉ ASESOR

PRESIDENTE:


DR. RONEY SOLANO VIDAL

ASESOR:


DRA. ELIZABETH CÁRDENAS SORIANO

ASESOR:


DR. NAHÚM MARBÁN MENDOZA

Chapingo, México. Septiembre del 2000

DEDICATORIA

Al divino creador por darme la vida

A mis padres: Sra: Angela Delfina Perla y Sr. Manuel de Jesús Deras, en especial a tí madre por brindarme todo tú apoyo y sacrificio.

A mis hermanos: Xiomara Lucrecia, Maritza Angélica y Miguel Angel; a mis sobrinos (as) en especial a Gica y Naje por permitirme amarles.

A mi abuela Isabel; a mis tíos (as); a mis primos (as) en especial a Julio Enrique.

A mis amigos Carlos Varela, Max Ortega, Francisco Padilla, Oscar Lupiac, Hector Sarmiento, Elsa Ventura y Mario Pinel

A los Doctores Mauricio Rivera, Franklin Rosales y Phillipe Rowe,

A mis compañeros del Programa de Banano y Plátano de la FHIA;

A los productores de banano y plátano de América Latina y el Caribe

AGRADECIMIENTO

A la Organización de Estados Americanos (OEA), por financiar mis estudios de Maestría.

A las autoridades de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), por darme la oportunidad de continuar mis estudios de Maestría.

A la Red Internacional de Mejoramiento de Banano y Plátano (INIBAP) por haber financiado mi proyecto de tesis.

A la Asociación Agrícola Local de Productores de Plátano de San Rafael, Veracruz, por financiarme algunos viajes y permitirme llevar a cabo el desarrollo de la parcela demostrativa en sus predios.

Al Dr. Roney Solano Vidal por su acertada dirección e incondicional apoyo para el desarrollo de esta tesis.

A los integrantes de mi comité asesor Dr. Ramón Marcos Soto Hernández, Dra. Elizabeth Cárdenas Soriano y Dr. Nahúm Marbán Mendoza, por su apoyo y valiosa contribución en la revisión de la presente tesis.

Al Dr. Ramón Martínez Parra, Director Regional del CIPAC; M.C Luis Antonio González y M.C José Orozco Romero del Campo Experimental Tecomán, Colima (INIFAP), por haberme facilitado el material vegetal de FHIA-20, FHIA-21 y Plátano Macho para llevar a cabo este trabajo.

Al Dr. Andy James del Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY), por la donación del material vegetal de Yangambi Km5.

Al M.C Mario Orozco Santos del Campo Experimental Tecomán, Colima (INIFAP), Ing. Gilberto Manzo y Dr. Salvador Guzmán Gozalez, de la Universidad de Colima por haberme proporcionado micelio del hongo

Al Sr. Miguel Díaz Baltazar, por todo el apoyo brindado durante nuestra estancia en el laboratorio de Fitopatología.

Al Dr. Seiji Osada Kawasoe y Dr. Roberto García Espinoza por haberme permitido trabajar en su laboratorio.

A la Dra. Margarita Ponce Salazar por sus acertados comentarios a los resultados obtenidos en este trabajo, por su continuo y desinteresado apoyo en la finalización de esta investigación, así como de la disponibilidad de material bibliográfico.

A la M.C Guadalupe Valdovinos Ponce por su contribución en la orientación de este proyecto de investigación.

Al personal académico y administrativo del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH.

A mis compañeros (as) de la Maestría del Programa en Protección Vegetal.

A Gregorio Downs y familia, Raul Medrano, Fabiola Espinoza, Augusto Cámara, Luz González y Angélica Aldana por compartir los momentos más agradables de mi estancia en México.

DATOS BIOGRÁFICOS

Manuel de Jesús Deras Perla nació en Sonaguera, Colón, Honduras el 20 de Febrero de 1968. Realizó parte de sus estudios primarios en la Escuela de Varones José Dolores La Reynaga en Quezaltepeque, La Libertad, El Salvador, finalizando éstos en la Escuela La Renovación de Sonaguera, Colón, Honduras. Los estudios secundarios los llevó a cabo en el Instituto Oficial Patria de La Lima, Cortes. En 1992 obtuvo el título de Ingeniero Agrónomo en la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH).

En el desempeño de sus funciones fue encargado de campo entre 1990-1991 del Programa El Pequeño Agricultor en San Pedro de Zacapa, Santa Bárbara. Asistente de Control de Plagas y Enfermedades en banano entre 1992-1993 en Grupo Lempira, Agua Blanca Sur, Sta. Rita, Yoro. A partir de 1994 labora como investigador en la evaluación de híbridos de banano y plátano con resistencia a Sigatoka negra y otras enfermedades en el Programa de Banano y Plátano de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola FHIA).

TABLA DE CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS.....	v
LISTA DE CUADROS EN EL ANEXO.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1 Aspectos relacionados a la enfermedad.....	7
2.1.1 Agente causal.....	7
2.1.2 Origen y dispersión de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> Morelet.....	7
2.1.3 Síntomas.....	8
2.1.4 Descripción del patógeno.....	9
2.1.5 Epidemiología.....	10
2.1.5.1 Liberación.....	10
2.1.5.2 Transporte.....	11
2.1.5.3 Germinación.....	12
2.1.5.4 Penetración.....	13

2.1.6 Control de la Sigatoka negra.....	13
2.1.6.1 Control legal.....	13
2.1.6.2 Control cultural.....	14
2.1.6.3 Control biológico.....	14
2.1.6.4 Control químico.....	14
2.1.6.5 Control genético.....	15
2.1.6.5.1 Características del híbrido FHIA-21.....	17
2.2 Compuestos fenólicos relacionados con la resistencia genética a las enfermedades.....	19
2.2.1 Generalidades de los compuestos fenólicos.....	19
2.2.2 Compuestos fenólicos y su importancia en la resistencia a las enfermedades.....	20
2.2.2.1 Eventos iniciales en la respuesta del hospedante.....	21
2.2.3 Compuestos fenólicos en musáceas.....	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1. Fase de campo.....	29
3.1.1 Localización del trabajo.....	29
3.1.2 Plantas estudiadas.....	29
3.1.3 Siembra.....	30
3.1.4 Inoculación natural.....	30
3.1.5 Toma de las muestras.....	31

3.2 Fase de invernadero.....	31
3.2.1 Localización del experimento.....	31
3.2.2 Preparación del suelo.....	32
3.2.3 Siembra de plantas.....	32
3.2.4 Inoculación artificial.....	32
3.2.5 Toma de las muestras.....	33
3.3 Fase de laboratorio.....	33
3.3.1 Manejo del hongo.....	33
3.3.1.1 Aislamiento de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	34
3.3.1.2 Cultivo de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	34
3.3.1.3 Preparación del inóculo.....	35
3.3.2 Procesamientos de las muestras de campo para determinar compuestos fenólicos de la fase de campo.....	36
3.3.2.1 Extracción de compuestos fenólicos.....	36
3.3.2.2 Separación cromatográfica de compuestos fenólicos.....	37
3.3.2.3 Identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F	37
3.3.2.4 Identificación de compuestos fenólicos por medio del espectrofotómetro.....	37
3.3.2.5 Prueba de fluorescencia.....	39
3.3.2.6 Fenoles totales.....	40
3.3.2.7 Compuestos fenólicos evaluados.....	41

3.3.3	Extracción, separación e identificación de compuestos fenólicos por medio de valores de R_F y espectrofotómetro de la fase de invernadero.....	38
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1	Aislamiento de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	42
4.2	Cultivo de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	42
4.3	Análisis de muestras de campo.....	43
4.3.1	Identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F	43
4.3.2	Identificación de compuestos fenólicos por medio del (espectrofotómetro).....	44
4.3.3	Prueba de fluorescencia.....	50
4.3.4	Fenoles totales.....	50
4.4	Análisis de muestras de invernadero.....	54
4.4.1	Extracción, separación e identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F	54
4.4.2	Identificación de compuestos fenólicos por medio del espectrofotómetro.....	54
4.5	Discusión general.....	58
V.	CONCLUSIONES.....	61
VI.	LITERATURA CITADA.....	62
VII.	ANEXO.....	68

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Principales países productores de banano y plátano en el mundo (FAO, 1995).....	2
Cuadro 2. Rangos de absorción de los estándares, registrados de 190-350 nm. Se utilizó como disolvente metanol.....	44
Cuadro 3. Valores de R_F , del primer muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición, al inóculo natural. Se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico.....	46
Cuadro 4. Valores de R_F , del primer muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición al inóculo natural. Se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico y el ácido clorogénico..	47
Cuadro 5. Valores de R_F del segundo muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición al inóculo natural. Se utilizaron como estándares el resorcinol, ácido ferúlico, ácido gentísico y ácido 2-3 dihidroxibenzoico.....	48
Cuadro 6. Rangos de absorción, de las manchas en las muestras seleccionadas y estándares asociados.....	49
Cuadro 7. Cromatografía de papel en dos dimensiones para los estándares y muestras seleccionadas.....	52
Cuadro 8. Absorvancia y concentración de ácido tánico (mg/100 mL), 0, 120 y 240 horas después de exposición al inóculo natural, primer y segundo muestreo en campo.....	53
Cuadro 9. Valores de R_F del muestreo en invernadero en diferentes tiempos de exposición al inóculo artificial. Se utilizó como estándar el ácido clorogénico.....	56

Cuadro 10. Valores de R_F del muestreo en el invernadero a diferentes
tiempos de exposición artificial. Se utilizó como estándar el
ácido clorogénico.....

57

LISTA DE CUADROS EN EL ANEXO

	Página
Cuadro 1. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.....	69
Cuadro 2. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.....	70
Cuadro 3. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.....	71
Cuadro 4. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.....	72
Cuadro 5. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.....	73

Cuadro 6.	Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	74
Cuadro 7.	Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	75
Cuadro 8.	Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	76
Cuadro 9.	Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	77
Cuadro 10.	Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	78
Cuadro 11.	Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	79

Cuadro 12.	Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	80
Cuadro 13.	Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	81
Cuadro 14.	Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	82
Cuadro 15.	Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.....	83
Cuadro 16.	Valores de R_F del muestreo en invernadero momentos antes de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	84
Cuadro 17.	Valores de R_F del muestreo en invernadero momentos antes de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	85

Cuadro 18	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 0 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	86
Cuadro 19.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 0 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	87
Cuadro 20.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 48 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	88
Cuadro 21.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 48 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	89
Cuadro 22.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 120 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	90

Cuadro 23.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 120 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	91
Cuadro 24.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 192 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	92
Cuadro 25.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 192 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	93
Cuadro 26.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 240 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	94
Cuadro 27.	Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 240 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.....	95

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Siembra de los cultivares en estudio en el Pital, Martínez de la Torre, Veracruz. Julio 1999.....	38
Figura 2. Desarrollo de las plantas en invernadero.....	38
Figura 3. Discos de papel filtro con porciones de hojas necrosadas por <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	38
Figura 4. Colonias de <i>Paracercospora fijiensis</i> después de deslizar el micelio en forma de zig-zag.....	38
Figura 5. Desarrollo de cromatogramas en la cámara cromatográfica; utlizándose como disolvente Butanol-Ácido acético- Agua (4:1:5).....	38
Figura 6. Conidio de <i>Paracercospora fijiensis</i>	38
Figura 7. Hifas de <i>Paracercospora fijiensis</i>	38
Figura 8. Fase orgánica (superior), de la mezcla Butanol-Ácido acético- Agua (BAW) (4:1:5).....	38
Figura 9. Incremento del micelio de <i>Paracercospora fijiensis</i>	55
Figura 10 Colonias de <i>Paracercospora fijiensis</i> (color gris y blanco).....	55
Figura 11 Reacción de los fenoles (color azul) con Ferricianuro de Potasio, Cloruro Férrico y Ácido Clorhídrico en el híbrido FHIA-21 a las 240 horas de la fase de campo.....	55
Figura 12 Bandas en luz U V en muestra proveniente de invernadero	55

RESUMEN

COMPUESTOS FENÓLICOS ASOCIADOS CON LA RESISTENCIA A SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN HÍBRIDOS (AAAB) DE PLÁTANO (*Musa* spp.)

MANUEL DE JESÚS DERAS PERLA, M.C

Universidad Autónoma Chapingo

Bajo la dirección de: R. Solano V.

El principal patógeno que disminuye el rendimiento y calidad del fruto de las musáceas en México es *Mycosphaerella fijiensis* y el control químico es la opción más adecuada. El control genético es la mejor alternativa, por eso, en este trabajo se estudian los compuestos fenólicos y sus concentraciones que estarían induciendo resistencia en los híbridos FHIA-20 y 21 (tolerantes), Yangambi km5 (resistente) y Plátano Macho (susceptible). La secuencia en la determinación de los fenoles para las muestras de campo fue: Extracción, Separación cromatográfica, Valores de R_F , Espectrofotometría, Fluorescencia y Fenoles totales; en las muestras de invernadero no se realizaron las dos últimas. En las muestras de campo se observó mayor concentración de fenoles totales (equivalente a ácido tánico) a las 120 horas en los cuatro materiales de estudio; los resultados en muestras de invernadero indican la presencia del ácido clorogénico, en los cuatro materiales y en las diferentes horas de estudio.

PALABRAS CLAVES: *Mycosphaerella fijiensis*, FHIA-20, FHIA-21, ácido clorogénico,

ABSTRACT

MANUEL DE JESÚS DERAS PERLA

PHENOLICS COMPOUNDS ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO BLACK SIGATOKA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) IN HIBRIDS (AAAB) OF PLANTAIN (*Musa* spp.)

SEPTIEMBRE 2000

(Under the direction R. SOLANO V.)

The fungi *Mycosphaerella fijiensis* is the most important pathogen on musaceas affecting both yield (ton/ha) and quality being chemicals the only one option for control. However, it is well know that genetic resistance plants is the best control alternative. This study deals with phenolic products concentrations as resistance enhancing on FHIA-20 and FHIA-21 hybrids (tolerants), Yangambi Km5 (resistant) and Plantain horne (susceptible). Phenols sequence determination for musaceas field samples was as followed did: Extraction, chromatographic separation, R_F values, Spectrophotometry, Fluorescence and total yield phenols. Green house samples did not consider the last two ones. On field samples highest concentration of total phenols were obtained (equivalent to tanic acid) at 120 hours in all types of plants. In the green house experiments it was found clorogenic acid in all plant samples and different time periods studied.

INDEX WORDS: *Mycosphaerella fijiensis*, FHIA-20, FHIA-21, chlorogenic, acid

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los bananos y los plátanos se cultivan en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo donde constituyen una parte importante de la dieta básica para millones de personas y suministran además una fuente valiosa de ingresos mediante el comercio local e internacional (Rosales *et al.*, 1998).

Los bananos y plátanos se cultivan en una área aproximada de 10 millones de hectáreas con una producción anual de aproximadamente 87 millones de toneladas métricas (TM), de las cuales una tercera parte es producida en las regiones de África, otra tercera parte en Asia y el Pacífico, y el resto en América Latina y el Caribe. Sobresalen como principales productores: Uganda, India, Ecuador, Brasil y Colombia, con 10.1, 9.9, 6.1, 5.7 y 4.9 millones de TM, respectivamente. Estos países producen el 42% de la producción mundial de bananos y plátanos (Cuadro 1) (Rosales, *et al.*, 1998).

Se estima que el 90% de la producción mundial es consumida localmente, el restante 10% se destina al comercio internacional generando ventas en unos \$ 3 billones de dólares, que representan un ingreso significativo para la economía de muchos países subdesarrollados (Sági, *et al.*, 1998).

En México, los bananos y plátanos se convirtieron en 1992 en el cuarto cultivo en superficie cosechada, con 74 mil hectáreas, y una producción de 2 millones de TM, lo que generó un valor en ventas de \$ 1,208.8 millones. Por su demanda en el mercado nacional, las musáceas, ocupan el segundo lugar con un consumo per cápita promedio de

23 kg por año, esto debido a su disponibilidad durante todo el año y por ser una de las frutas más baratas (Ramírez y Rodríguez, 1996).

Cuadro 1. Principales países productores de banano y plátano en el mundo (FAO, 1995)

País	Producción total de bananos y plátanos en 1995 en TM*	Total de banano y plátano para exportación en 1995 en TM	Porcentaje exportado en 1995
Uganda	10 099 000	2 000	0.02
India	9 934 600	1 000	0.01
Ecuador	6 084 221	3 410 484	56.05
Brasil	5 679 780	12 493	0.22
Colombia	4 883 465	1 360 278	36.72
Filipinas	3 304 428	1 213 411	36.72
China	3 297 636	47 285	1.43
Zaire	2 674 398	0	0
Indonesia	2 600 000	55 318	2.13
Costa Rica	2 503 000	2 284 825	91.28
México	2 032 652	100 066	4.92
Ruanda	2 002 000	0	0
Venezuela	1 801 690	62 131	3.45
Tailandia	1 750 000	2 153	0.12
Nigeria	1 712 000	0	0
Ghana	1 645 500	1 700	0.10
Costa de Marfil	1 484 860	176 531	11.19
Burundi	1 421 407	0	0
Tanzania	1 302 000	0	0
Vietnam	1 282 231	10 200	0.80
Camboya	1 102 000	0	0
Perú	1 065 988	0	0
Honduras	1 029 000	529 685	51.48
Panamá	1 015 054	600 000	59.11

* TM: toneladas métricas

En México la producción de bananos y plátanos esta distribuida en las regiones tropicales y subtropicales de la costa del Golfo de México y Océano Pacífico. Los principales estados productores son: Chiapas, Tabasco, Veracruz, Nayarit, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Jalisco y Yucatán, los cuales se agrupan en tres

importantes regiones productoras: Región del Golfo de México, Región del Pacífico Sur y Región del Pacífico Centro (Orozco-Santos, 1998a).

La Región del Golfo de México ocupa el 43.4% de la superficie nacional cultivada, la Región del Pacífico Centro ocupa el 24.1% y la Región del Pacífico Sur 30.8%. Los cultivares de banano y plátano más importantes que se cultivan en el país son: "Enano Gigante" y "Valery" (*Musa* AAA subgrupo Cavendish), "Manzano" (*Musa* AAB) Plátano Macho (*Musa* AAB, subgrupo Plantain) y "Pera o Cuadrado" (*Musa* ABB)), (Orozco-Santos, 1998a).

Los bananos y plátanos son afectados por diversas enfermedades que disminuyen su rendimiento y calidad del fruto; dentro de los problemas fitopatológicos más importantes tenemos: chamusco o Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach.), nematodo barrenador [(*Radopholus similis* (Cobb) Thorne)], mal de Panamá [*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansen], pudrición del cormo causada por una bacteria (*Erwinia* spp.), mancha café (*Cordana musae* A. Zimmerm.) y Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) (Orozco-Santos, 1998a).

La Sigatoka negra ataca las hojas de las plantas, produciendo un rápido deterioro del área foliar. Afecta el crecimiento y productividad de las mismas al disminuir la capacidad de fotosíntesis. También produce una reducción en la calidad del fruto, al favorecer la maduración prematura de los racimos, lo cual es la mayor causa de pérdidas debido a este problema. En plantaciones donde no se realiza ningún tipo de control

puede ocasionar una reducción del 50% al 100% de la producción (Marín y Romero, 1992; Rowe y Rosales, 1993; Orozco-Santos, 1998a).

Actualmente en México, el combate químico es la opción más viable para el control de la Sigatoka negra, aunque esto signifique un gasto de 370 millones de pesos, como consecuencia se tienen problemas de contaminación ambiental, de salud humana y de resistencia a fungicidas, debido a la gran cantidad de productos químicos que se aplican en las plantaciones (Orozco-Santos, 1998b).

En Honduras, como alternativa a esta situación, se han obtenido los híbridos de plátano FHIA-20 (AVP-67 x SH 3362) y FHIA-21 (AVP-67 x SH 3142), el primero en proceso de evaluación y el segundo ya liberado, ambos tolerantes a la enfermedad y con rendimientos que duplican a los obtenidos por el plátano tradicional. Sin embargo, hasta la fecha se desconocen los mecanismos de resistencia que actúan en estos híbridos.

Algunos estudios señalan que las plantas contrarrestan el ataque de los patógenos mediante características estructurales que actúan como barreras físicas e impiden que el patógeno penetre y se propague en ellas, o por medio de reacciones bioquímicas que tienen lugar en sus células y tejidos, las cuales producen sustancias tóxicas para el patógeno o crean condiciones que inhiben su desarrollo (Agrios, 1985).

Probablemente, esta última situación es la que este ocurriendo en los híbridos tetraploides (AAAB; tres genes de *Musa acuminata* y uno de *Musa balbisiana*) FHIA-20 y FHIA-21, ya que efectivamente si hay penetración del patógeno, y las lesiones en el

tejido foliar producto de la interacción planta-patógeno demoran más tiempo en presentarse con respecto al plátano macho.

Algunos compuestos fenólicos han sido encontrados en plantas que presentan cierto grado de resistencia contra un determinado patógeno. Algunos ocurren constitutivamente y funcionan como inhibidores preformados, otros en cambio son formados en respuesta al ingreso del patógeno y su aparición está considerada como parte de una respuesta de defensa activa (Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

Valette *et al.*, (1998) en su estudio de "fenoles en raíces de banano infectadas por el nematodo barrenador *Radopholus similis*", reportaron la presencia del ácido ferúlico en las paredes de las células corticales, de plantas sanas, por medio de fluorescencia azul con luz ultravioleta (U V) y no fluorescencia con luz azul. Las paredes celulares de los vasos del cultivar resistente también mostraron una fluorescencia azul-blanco cuando se observó a 365 nm y una fuerte fluorescencia amarilla con luz azul lo que sugirió la presencia de ésteres de cafeico. Tinciones no significativas en raíces del cultivar susceptible fueron observadas después del tratamiento con el reactivo de Neu.

Estos mismos autores sugieren la presencia de flavonoides en tejido sano después de tratar porciones de raíces diferenciadas con el reactivo de Neu. Las paredes de epidermis, parénquima, y células vasculares del cultivar resistente emitieron fluorescencia amarilla y rojo-naranja con excitación arriba de 365 nm, desplegaron además una fluorescencia amarillo limón después de la excitación a 420 nm (Valette *et al.*, 1998).

Por otro lado la detección de Dopamina reveló que este compuesto fenilamino ocurrió abundantemente en células vasculares y epidermis de raíz en plantas resistentes; en plantas susceptibles, pocas células vasculares contenían dopamina (Valette *et al.*, 1998).

Algunos estudios sugieren que fenoles de bajo peso molecular, como los derivados del ácido benzoico y de fenil propanoides, son formados como respuesta inicial a la infección (Kurosaki *et al.*, 1986).

Considerando los antecedentes antes mencionados en relación a la resistencia de los híbridos de plátano se propusieron los siguientes objetivos:

- 1.- Identificar los compuestos fenólicos involucrados en la resistencia a la Sigatoka negra en los híbridos de plátano, FHIA-20 (AAAB), en evaluación y FHIA-21 (AAAB) ya liberado.
- 2.- Determinar las concentraciones de estos compuestos fenólicos, que estarían induciendo resistencia a la enfermedad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos relacionados a la enfermedad

2.1.1 Agente causal.

La Sigatoka negra es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, para el estado sexual y *Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton para el estado asexual (Orozco-Santos, 1998a).

2.1.2 Origen y dispersión de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

La enfermedad de la Sigatoka negra de los bananos y plátanos (también conocida como raya negra de la hoja), fue registrada por primera vez en las Islas Fiji del Pacífico Sur en 1964 (Rhodes, 1964; citado por Fullerton y Olsen, 1995), posteriormente se dispersó a todos los continentes, excepto Australia. La enfermedad tomó su nombre del Valle de Sigatoka en Fiji, donde por primera vez se registraron severos daños (Mourichon y Fullerton, 1990; Arneson, 1998).

El patrón de detección y distribución indican un centro de origen de *M. fijiensis* en el área de Nueva Guinea e Islas Salomón. El patógeno fue probablemente transportado mediante hojas o rizomas a Taiwan, algunas islas adyacentes en Indonesia y a la mayoría de las islas del Pacífico. Donde la Sigatoka negra es introducida, se dispersa en un período de más o menos tres años (Stover, 1980; Stover y Simmonds, 1987).

En América, la Sigatoka negra fue registrada por primera vez en Honduras en 1972, y para 1980 ya se había dispersado por todo Centroamérica, incluyendo los estados del sureste de México, en 1981 se registró en Panamá y Colombia, en 1986 en Ecuador, en Venezuela en 1990 y en Perú en 1994, en las islas del Caribe la enfermedad apareció en Cuba en 1992, en Jamaica en 1994, en República Dominicana en 1996 y recientemente en Brazil en 1998 (Arneson, 1998; Maciel *et al.*, 1998; Orozco-Santos, 1998a).

2.1.3 Síntomas

Los primeros síntomas de la enfermedad se observan en pequeñas decoloraciones visibles en el envés de la hoja, que incluyen un pequeño punto de color café rojizo dentro del área decolorada. Posteriormente, estas decoloraciones se convierten en pizcas de color café rojizo y son visibles tanto en el haz como en el envés. Con el tiempo, las pizcas se convierten en estrías, las cuales aumentan su grosor y longitud, pero mantienen su color café rojizo (Orozco-Santos, 1998a).

El primer síntoma en estado de mancha se presenta cuando la lesión cambia a un color café oscuro o negro, la que después es rodeada por un halo amarillento. Finalmente, la mancha se deprime y se torna de color gris-blanco, observándose en ellas una gran cantidad de pequeños puntos que corresponden a los cuerpos fructíferos llamados pseudotecios. En ataques severos, estas manchas se unen y forman grandes áreas de tejido foliar afectado, llegando a necrosar completamente las hojas, lo que ocasiona una reducción en el área foliar funcional (Orozco-Santos, 1998a).

2.1.4 Descripción del patógeno

El hongo se reproduce en forma sexual y asexual durante su ciclo de vida. Produce ciclos repetidos de infección más o menos continuos (Arneson, 1998; Marín y Romero, 1992).

La fase asexual se presenta en el desarrollo de las primeras lesiones de la enfermedad (pizcas y estrías), en esta etapa se observa un número relativamente bajo de conidióforos que emergen de los estomas, principalmente en el envés de la hoja. Los conidios son hialinos, obclavados a cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, seis a nueve septos, delgados en el ápice y más anchos en la base con una cicatriz en el hilum basal del conidio (Marín y Romero 1992; Orozco-Santos, 1998a).

Los conidióforos que emergen de los estomas lo hacen de manera individual o en pequeños grupos, o bien pueden formar fascículos sobre un estroma errumpente de color obscuro. Los conidios miden de 30 a 132 μm de longitud y de 2.5 a 5 μm en la parte más ancha. Estas estructuras se producen con mayor abundancia en la superficie inferior de las lesiones, pero también pueden ser encontradas en la parte superior (Marín y Romero 1992; Orozco-Santos, 1998a).

La fase sexual es la más importante en la propagación de la enfermedad, debido a que se produce un gran número de ascosporas, en el interior de los cuerpos fructíferos llamados pseudotecios, los cuales se presentan en las lesiones viejas en estado de

mancha. Las ascosporas son hialinas, fusiformes clavadas con dos células y ligeramente con una constricción en el septo. Las ascosporas miden de 14 a 20 μm de longitud y de 4 a 6 μm de ancho. Ambas fases ocurren simultáneamente (Stover, 1980; Bureau *et al.*, 1992; Marín y Romero, 1992; Arneson, 1998; Orozco-Santos, 1998a).

La recombinación, debido a la naturaleza heterotálica de este patógeno, crea un alto potencial para que ocurran cambios genéticos dentro de las poblaciones de *M. fijiensis*, lo que puede conducir a una rápida adaptación a las condiciones ambientales cambiantes y podría ser también la razón de la elevada variabilidad patogénica detectada en el patógeno (Orozco-Santos, 1998a).

2.1.5 Epidemiología

Aquellas regiones que tienen una estación seca bien definida, la tasa de infección disminuye substancialmente durante este período (Arneson, 1998; Marín y Romero, 1992).

2.1.5.1 Liberación

La liberación de los conidios, es principalmente efectuada por el agua en forma de lluvia o rocío y por el viento; aunque una alta frecuencia de dispersión se presenta mediante un efecto conjunto de estos dos factores. Gotas de lluvia que ruedan sobre las lesiones de las hojas, arrastran conidios a áreas sanas, estas gotas, cargadas de conidios,

eventualmente son impactadas por nuevas gotas de lluvia que logran impulsar microgotas ascendentes que se depositan finalmente en áreas superiores de la planta o logran ser liberadas al ambiente para su diseminación eólica (Bureau *et al.*, 1992).

En el caso de las ascosporas, el asca permanece en el pseudotecio una vez fertilizado. Cuando éste se moja y las ascosporas están maduras, son expulsadas y diseminadas por el viento. La liberación está, consecuentemente, influida por el agua libre; de forma particular, por las lluvias, el rocío y la irrigación por aspersión (Bureau *et al.*, 1992).

Belalcázar y Merchan, (1994) mencionan que las ascosporas de *M. fijiensis* son impulsadas por una acción de eyección simple del pseudotecio que las sitúa en estratos atmosféricos favorables para su diseminación.

2.1.5.2 Transporte

El transporte de los conidios se realiza principalmente por el agua. Se trata de un transporte vertical, sobre todo responsable de la infección de las plantas vecinas o de los hijos, y también de las reinfecciones. Las ascosporas son transportadas por las corrientes de aire. Es un transporte lateral y ascendente, el que en forma eventual, podría ser responsable de la diseminación a largas distancias (Bureau *et al.*, 1992).

Esporas del hongo se pueden encontrar desde el nivel del piso hasta los 500 m de altura, lo cual daría la posibilidad de que la enfermedad se disemine algo así como 200

Km en un día. No obstante las concentraciones de esporas más frecuentes e importantes para causar infección en el cultivo se encuentran a alturas de 0.25 y 50 m (900 y 1107 esporas respectivamente) (Belalcázar y Merchan, 1994).

2.1.5.3 Germinación

Bureau *et al.*, (1992) mencionan que después de ser transportados, los conidios o ascosporas llegan a la planta, donde pueden presentarse diferentes situaciones:

La espora no entra en contacto con un órgano sensible; puede o no germinar, pero aunque germine no hay penetración a los tejidos de la planta; la espora entra en contacto con un órgano sensible pero las condiciones del medio externo impiden la germinación (condiciones ambientales desfavorables); la espora germina, su tubo germinativo penetra, pero las condiciones del medio interno en la hoja son desfavorables para su desarrollo (variedad resistente); todas las condiciones son favorables; la espora germinada penetra en los tejidos de la hoja y continúa su desarrollo. En condiciones favorables; como la presencia de agua libre y temperatura entre 25 y 29 °C, la germinación puede ocurrir en seis horas, entonces se produce un rápido alargamiento del tubo germinativo.

Bajo condiciones de laboratorio los conidios y ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* germinan a temperaturas de 20 a 35 °C con un máximo observado a 25 °C. La germinación de esporas ocurre en agua libre. A medida que se reduce la humedad relativa la germinación de ambos propágulos a diferentes temperaturas disminuye drásticamente (Jacome *et al.*, 1991).

2.1 5.4 Penetración

Bureau *et al.*, (1992) indican que después de cuatro a seis días de crecimiento, el tubo germinativo penetra por un estoma, ramificándose en la cavidad subestomática. Las infecciones son más importantes en el envés de la hoja debido principalmente a que: los estomas son más numerosos en esta parte de la hoja y cuando se desenvuelve la hoja, su envés es la parte que se expone primero a los propágulos del hongo.

2.1.6 Control de la Sigatoka negra

Las medidas de control para Sigatoka negra se pueden clasificar en directas e indirectas. Las directas consisten en evitar la entrada de la enfermedad en un área, región o país libre de la misma (cuarentenas o control legal) y las indirectas se refieren a convivir con la Sigatoka negra, evitando los daños producidos mediante el control cultural, biológico, químico y genético (Orozco-Santos, 1998a).

2.1.6.1 Control legal

Debido a que la enfermedad se transporta con facilidad dentro del territorio nacional; se estableció por parte de la Dirección General de Sanidad Vegetal la Cuarentena Interior Permanente No. 18 contra la Sigatoka negra, publicada en el Diario Oficial de la Federación en noviembre de 1987 (Robles *et al.*, 1988; citado por Valdovinos, 1999). A pesar de la cuarentena no se logró evitar la expansión de la enfermedad presente en el sureste, al resto de las zonas bananeras y plataneras del país.

2.1.6.2 Control cultural

Bureau *et al.*, (1992) mencionan que las prácticas culturales deben de llevarse a cabo de tal manera que permitan disminuir la presencia de las condiciones microclimáticas favorables para el desarrollo del patógeno, así como mantener una adecuada productividad. Algunas de las prácticas culturales más importantes a considerar son: drenaje, riego, control de malezas, deshoje y densidad de plantas.

2.1.6.3 Control biológico

Se refiere a la utilización de ciertos microorganismos quitinolíticos que digieren la quitina presente en la pared celular de las hifas de algunos hongos. Cepas de *Serratia marcescens*, así como de *Serratia entomophyla* y *Bacillus cereus* controlaron la Sigatoka negra en un 40%. Si este control es complementado con fungicidas y práctica culturales adecuadas, podría resultar económico, estable y ecológicamente deseable. Sin embargo, su eficacia, rentabilidad, y adopción deben ser verificados bajo condiciones de campo (Gonzalez *et al.*, 1996; Orozco-Santos, 1998a).

2.1.6.4 Control químico

En la actualidad, el uso de fungicidas es el método de control más importante contra la Sigatoka negra. Los fungicidas utilizados se pueden agrupar en tres categorías de acuerdo a su forma de acción: fungicidas de contacto o protectantes, fungicidas de acción sistémica local y fungicidas sistémicos. Como complemento a la mayoría de los

fungicidas (principalmente sistémicos) se utiliza la citrolina ó aceite agrícola, que posee un efecto fungistático y ayuda a una mejor penetración, distribución y permanencia en el tejido foliar del fungicida aplicado. Otro producto importante es un emulsificante que permite realizar la mezcla de aceite-agua, cuando se aplica el fungicida en emulsión (Orozco-Santos, 1998a).

En la actualidad se está haciendo un uso intensivo de programas de control basado en el uso exclusivo de fungicidas protectantes en mezcla únicamente con agua. En estos programas de protectantes se suprime totalmente el uso de la citrolina (Orozco-Santos, 1998a).

El grupo de fungicidas más importante en el control de la Sigatoka negra, son los sistémicos, dadas las características terapéuticas y el efecto prolongado que poseen (lo que permite aplicarlo con menor frecuencia). Son fungicidas muy específicos, que generalmente actúan en un solo paso en la fisiología del patógeno, lo que incrementa las posibilidades de generar resistencia a estos productos. Dentro de las familias químicas que sobresalen en este grupo tenemos: los Benzimidazoles, Triazoles Pirimidinas y recientemente las estrobilurinas (Bureau *et al.*, 1992; Marín y Romero, 1992; Orozco-Santos, 1998a).

2.1.6.5 Control genético

El mejoramiento genético de los bananos y plátanos es una línea de investigación prioritaria en el mundo, debido a la creciente dispersión de la Sigatoka negra y a su

impacto económico que representa en los países donde se presenta. Actualmente algunos países productores de banano y plátano cuentan con programas de mejoramiento genético basados en métodos convencionales, y recientemente a través de técnicas avanzadas con el propósito de hacer mejoramiento genético contra la Sigatoka negra (Orozco-Santos 1998a).

Algunos programas de mejoramiento genético ya han rendido sus primeros frutos, como es el caso del Programa de Mejoramiento de Banano y Plátano de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), el cual ya ha obtenido híbridos con resistencia parcial a la enfermedad y con muy buenos rendimientos probados en campo, estos híbridos representativos de los tres diferentes grupos de bananos y plátanos son como "genotipos de referencia". Estos híbridos (FHIA-01^R, FHIA-03 y FHIA 21), ya están siendo evaluados para conocer su reacción a Sigatoka negra y sus rendimientos en diferentes latitudes del mundo (FHIA, 1995).

En México, el FHIA-21 fue introducido para su evaluación en campo en la región del Pacífico Centro en la década de los noventa. En estas evaluaciones se obtuvieron racimos con 10 kg más de peso en comparación al Plátano Macho, esto significa un incremento del 64.5% y 80.7% en el primero y segundo ciclo de producción respectivamente (Orozco, 1998).

2.1.6.5.1 Características del Híbrido FHIA-21

- Nombre de la variedad: FHIA-21.
- Origen: FHIA, Honduras, Centro América.
- Nombre del mejorador: Phillip Rowe.
- Tipo: Plátano francés.
- Año de generación: 1987.
- Nombre Código: FHIA SH-3460.
- Linaje: AVP-67 (AAB) X SH-3142(AA).
- Genoma/Ploidia: AAAB.
- Uso: Consumo procesado (hervido o frito, verde o maduro).
- Características de la planta:

Morfológicas:

- Habito foliar: Normal.
- Apariencia del pseudotallo: Brillante (no ceroso).
- Altura: 3.50 – 4.00 m.
- Tipo de bellota: Normal (presente permanentemente).
- Forma de racimo: Asimétrico.
- Posición del racimo: Ligeramente inclinado.
- Color de frutos: Verde claro.
- Forma de frutos: Recta en parte distal.
- Forma ápice del fruto: Ligeramente puntiagudo.

Fenológicas:

- Duración primer ciclo vegetativo (siembra a floración): 240-280 días.
- Duración primer ciclo productivo (parición a cosecha): 85-100 días.
- Días transcurridos de siembra a segunda floración: 540-570 días.

Producción:

- Peso neto (sin raquis) de racimo: 22-27 kg.
- Número de dedos por racimo (sin desmane): 120-150 dedos.
- Número de dedos/racimo (con desmane a cinco manos): 70-80 dedos.
- Peso dedos individuales (con desmane a cinco manos): 250-350 g.

Reacción a enfermedades:

- Sigatoka negra: Parcialmente resistente
- Mal de Panamá: Resistente
- Nematodos: Suceptible a *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae*
- Pudrición de corona: Desconocida.

Con respecto a la clasificación de las escalas de resistencia a la Sigatoka negra, Fouré *et al.*, (1990), agruparon cultivares de banano y plátano en cuatro grupos, basados en la reacción genética la cual es bastante compleja y diversa:

Categoría 1, muy resistentes; los cuales se caracterizan por presentar un bloqueo de la evolución de los síntomas en el estado 1 o 2 (estado de pizca).

Categoría 2, resistencia parcial; bananos y plátanos tolerantes, la evolución de la enfermedad es normal desde el primer estadio al estadio necrótico (estadio 6 o fusión de los estadios anteriores).

Categoría 3, susceptibles; la evolución de la enfermedad es rápida, normal del estadio 1 al estadio 6 de necrosis. El número de hojas funcionales a la cosecha es poco alto.

Categoría 4, muy susceptibles; la evolución de la enfermedad hacia la necrosis es muy rápida y el número de hojas funcionales a la cosecha es muy bajo y a menudo inexistentes.

Esta clasificación toma en cuenta la velocidad de evolución de las lesiones de Sigatoka negra así como también el número de hojas funcionales a la cosecha.

2.2 Compuestos fenólicos relacionados con la resistencia genética a las enfermedades

2.2.1 Generalidades de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos involucran un amplio rango de sustancias en las plantas las cuales poseen en común un anillo aromático presentando uno o más sustituyentes hidroxilos. Las sustancias fenólicas tienden a ser solubles en agua, ya que la mayoría ocurren frecuentemente combinadas con azúcar como glicósidos y están generalmente localizados en la vacuola de la célula. Entre las miles de estructuras conocidas de los compuestos fenólicos, los flavonoides forman el grupo más grande; sin embargo, fenoles

monocíclicos simples, fenilpropanoides y quinonas fenólicas existen en cantidades considerables (Harborne, 1984).

Muchos grupos importantes de polímeros en plantas como las ligninas, melaninas y taninos son polifenoles y ocasionalmente unidades fenólicas son encontradas en proteínas, alcaloides y terpenoides (Harborne, 1984).

Mientras la función de algunas clases de compuestos fenólicos están bien establecidas (e.g. las ligninas como material estructural de la pared celular; las antocianinas como pigmentos de flores), el propósito de otras clases de fenoles es aún materia de especulación. Los flavonoides, por ejemplo, parecen ser importantes en la regulación del control de crecimiento de la planta de chícharo y su efecto adverso en insectos alimentándose de ésta indican que ellos podrían ser factores de resistencia natural. Sin embargo, ninguna de estas funciones han sido firmemente establecidas (Harborne, 1984).

2.2.2 Compuestos fenólicos y su importancia en la resistencia a las enfermedades

A partir de la primera sugerencia que los fenoles son intermediarios y tienen un rol en la expresión activa de resistencia, el problema fundamental ha girado en averiguar cuales de los metabolitos son secundarios o primarios, por lo que la importancia se ha enfocado en la localización y la selección del tiempo oportuno de la respuesta del hospedante, demostraciones iniciales indican que los fenoles son componentes significativos de la respuesta del hospedante (Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

2.2.2.1 Eventos iniciales en la respuesta del hospedante

Heath, (1980) argumentó efectivamente la diferenciación de la respuesta de las plantas a los patógenos basadas en interacciones del compatibles y no compatibles. En tales relaciones ha sido reconocido que las respuestas están caracterizadas por la acumulación temprana de compuestos fenólicos en el sitio de infección y que el desarrollo limitado del patógeno ocurre como un resultado de la muerte rápida de la célula (reacción de hipersensibilidad).

La muerte de la célula resulta del daño irreversible de la membrana que podría ocurrir como reconocimiento en respuesta al patógeno o como una respuesta activada del hospedante. A pesar de las razones de la muerte de la célula, está considerado que la rápida acumulación de fenoles podría resultar en el aislamiento efectivo del patógeno (o no patógeno en el sitio original de ingreso) (Mansfield, 1990; citado por Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

Algunos estudios sugieren que fenoles de bajo peso molecular, como derivados de ácidos benzoicos y fenilpropanoides, son formados en la respuesta inicial a la infección. Fuertes evidencias sugieren que la esterificación de fenoles en la pared celular es un tema común en la expresión de resistencia. Sin embargo, la acumulación de fenoles polimerizados ocurre como una rápida respuesta a la infección. Una respuesta común del hospedante es la esterificación del ácido ferúlico en la pared celular. Se ha sugerido que el entrecruzamiento de muchos ésteres fenilpropanoides encabezan la formación de

polímeros de lignina (Kurosaki *et al.*, 1986; Niemann *et al.*, 1991; Matern y Kneusel, 1988).

Muchos ácidos hidroxicinámicos y sus derivados están considerados por contribuir a la decoloración y autofluorescencia de tejidos del hospedante en el sitio de infección. Desafortunadamente, la identidad de los fenoles que se acumulan como una respuesta inicial a la infección no es a menudo señalada, y la presunción de su presencia está basada en reacciones histoquímicas o microscopía fluorescente (Farmer, 1985).

A menudo es sugerido las acumulaciones tempranas de lignina en respuesta a la infección. Sin embargo, pocas evidencias químicas apoyan su formación, como una respuesta inicial del hospedante. Una respuesta observada consistentemente contra la infección, en ambas interacciones compatible e incompatible, es la necrosis de la célula (Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

Matern y Kneusel, (1988) así como otros investigadores han propuesto que la estrategia defensiva de las plantas existe en dos estados. El primero es asumido al involucrar la rápida acumulación de fenoles en el sitio de infección, el cual funciona al reducir (o aún detener) el crecimiento del patógeno y permitir la activación de estrategias secundarias que podrían más a fondo restringir al patógeno. Dentro de estas respuestas secundarias se podría involucrar la activación de defensas específicas como la síntesis de novo de fitoalexinas u otras sustancias relacionadas al estrés.

Estos autores indican que la secuencia de eventos en una respuesta de defensa puede ser considerada por incluir (en este orden) muerte y necrosis de la célula del hospedante, acumulación de fenoles tóxicos, modificación de paredes celulares por los sustituyentes fenólicos o barreras físicas como aposiciones o papilas, y finalmente, la síntesis de "antibióticos" específicos como las fitoalexinas (Matern y Kneusel, 1988).

En estudios realizados en la interacción de *Phytophthora infestans* con ciertas variedades de papa la respuesta bioquímica y morfológica del follaje a las razas compatibles e incompatibles del patógeno fue diferente. Una rápida necrosis de las células del mesófilo en las primeras horas de infección distinguió la respuesta compatible de una incompatible. Tinciones histoquímicas con azul de toluidina y análisis de fluorescencia demostraron que la acumulación de fenoles en el sitio de infección ocurrió en las primeras tres horas después de la inoculación, indicando una asociación de fenoles con los estados iniciales de la respuesta (Bruzzeze y Hassan, 1983).

Johnson y Schaal, 1952, 1955; Kuc, 1957; citados por Kuc 1982, reportaron la relación de dos fenilpropanoides con las fitoalexinas, el ácido cafeico y al ácido clorogénico. Ellos sugirieron que fenoles endógenos en cáscaras de papa y aquellos producidos alrededor de las heridas fueron importantes en la resistencia de los tubérculos a la roña, y reportaron una correlación positiva entre el contenido de ácido clorogénico y la resistencia de la papa a la roña. Indicaron además que la oxidación de productos del ácido clorogénico y ácido cafeico fueron producidos después de la infección y que estos productos fueron aún más fungitóxicos que los fenoles originales.

Kuc (1957), verificó la presencia de altos niveles de ácido clorogénico y ácido cafeico en cáscaras de papa y reportó además la acumulación de ácidos y sus productos de oxidación en rebanadas inoculadas con varios organismos (no-patogénicos) de la papa. Fue evidente, sin embargo, que los fenoles y sus productos de oxidación no fueron los únicos compuestos fungitóxicos presentes en la cáscara producidos después de la infección.

Matern y Kneusel (1988), han señalado la clase de compuestos fenólicos que se acumulan antes de la respuesta de defensa activa, así como su origen usando suspensiones celulares de perejil como un sistema modelo. La inoculación de hojas de perejil con *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* (*Pmg*) o tratamiento de suspensiones celulares de perejil con un inductor de *Pmg* resultan en la acumulación de concentraciones sustanciales de coumarina así como ésteres de fenilpropanoides, en particular ácido ferúlico, en las paredes celulares. Estos ésteres son considerados por estar involucrados en la formación de polímeros fenólicos.

Como un indicador inicial, la fenilalanina amonio liasa (PAL, por sus siglas en inglés), es a menudo considerada por ser representativa de la iniciación de la síntesis de fenoles en respuesta a la infección. Esta sugerencia podría ser errada, en vista que un incremento detectable en la actividad de PAL no siempre es la primera respuesta a la infección. Algunos reportes han demostrado una pérdida de correlación entre la PAL y la expresión de resistencia (Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

Algunas observaciones sugieren que los incrementos transitorios en la actividad de PAL en los tejidos de tubérculo de papa inoculados con *Phytophthora infestans* fueron relacionados más a heridas que a la infección misma (Hahllbrock, *et al.*, 1981; Massala *et al.*, 1980).

Se ha sugerido que la acumulación de compuestos fenólicos como una respuesta inicial a la infección podría reflejarse como un incremento general en el metabolismo del hospedante, así como una acumulación de metabolitos secundarios relativamente no tóxicos, los cuales podrían últimamente servir como precursores para compuestos esenciales en la expresión de resistencia (Perumalla y Heath, 1991).

Friend, 1981; citado por Nicholson y Hammerschmidt, 1992 sugiere que el ácido clorogénico podría actuar como un precursor para la formación de ésteres que, como un fenilpropanoide activado; podría ser desviado para la síntesis de otros compuestos fenólicos posiblemente involucrados en detener al patógeno. La pérdida de acumulación de ácido clorogénico en interacciones resistentes podría también representar la conversión directa de acetyl-coenzima A (CoA); ésteres de fenilpropanoides a otros fenoles más esenciales para la respuesta de defensa. Así, la acumulación de ácido clorogénico (no es un compuesto tóxico particular) podría representar un incremento general en la biosíntesis fenólica relacionada en la biosíntesis fenólica.

2.2.3 Compuestos fenólicos en musáceas

Raghunathan *et al.*, 1965, realizaron los primeros estudios bioquímicos en musáceas, analizaron la distribución de aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos y fenoles en la hoja joven, media y vieja de *Musa sapidisiaca* Jacob Variedad Monthan y *Musa balbisiana* Colla Variedad Kattu Vazhai susceptible y resistente respectivamente a las enfermedades de la hoja de banano por *Cercospora musae* Zimm. y *Helminthosporium gibberosporium* Curzi.

La distribución de compuestos fenólicos en las hojas revelaron algunas diferencias significativas entre la variedad susceptible y resistente. Las hojas de la variedad Monthan registraron cinco manchas positivas de fenoles en la hoja joven y media, mientras sólo cuatro manchas ocurrieron en la hoja vieja. Las hojas jóvenes de Kattu Vazhai registraron siete manchas de fenoles, las cuales decrecieron a seis y cinco en la hoja media y vieja respectivamente (Jayapal y Mahadevan, 1968).

Los compuestos fenólicos en las plantas resistentes y susceptibles exhibieron una relación distinta. Kattu Vazhai contenía más fenoles que la especie susceptible. Sin embargo, en ambas especies hubo concentración de más fenoles en los tejidos jóvenes, aunque ellos decrecieron con el incremento de la edad de la hoja. El incremento de la cantidad de fenoles en los tejidos jóvenes de las plantas resistentes y susceptibles ofreció protección contra ataques de parásitos (Jayapal y Mahadevan, 1968).

Posteriormente, Jayapal y Mahadevan, (1968) evaluaron fenoles totales y orto dihidroxifenoles en las mismas variedades. Sin embargo, no consideraron la presencia de estos compuestos en diferente posición de la hoja, pero sí, el tiempo transcurrido después de la inoculación. Se observó un incremento de compuestos fenólicos en respuesta a la infección en la variedad resistente. Mientras que en Monthan con *Cercospora musae* el hongo condujo a la rápida degradación de compuestos fenólicos. *Helminthosporium gibberosporium* fue favorecido por la acumulación de compuestos aromáticos 120 horas después de inoculada y decreció posteriormente.

Los orto dihidroxifenoles en hojas de banano también fluctuaron con el desarrollo de la enfermedad; hojas resistentes contenían más orto dihidroxifenoles y ambas variedades respondieron diferente a los patógenos. La inoculación de *C. musae* y *H. gibberosporium* resultó en un rápido incremento de orto dihidroxifenoles en hojas resistentes, inmediatamente después de la inoculación, la cual decreció gradualmente con limitación de la lesión. Sin embargo, el decrecimiento fue lento en hojas inoculadas con *H. gibberosporium* mientras el decrecimiento rápido estuvo asociado con hojas infectadas de *C. musae*. Una respuesta similar también se observó en el tejido susceptible; sin embargo, la degradación fue bastante rápida (Jayapal y Mahadevan, 1968).

En otros estudios relacionados con raíces sanas de banano estas mostraron impresionante diferencias en el contenido fenólico entre el cultivar susceptible "Poyo" y el parcialmente resistente Yangambi Km 5. El uso del reactivo de Neu indicó la presencia de flavonoides y ésteres cafeico en las paredes del parenquima y células

vasculares y de ácido ferúlico en paredes celulares del parenquima en el cultivar resistente, mientras que en las raíces del cultivar susceptible no fueron detectadas. Similarmente, dopamina ocurrió abundantemente en las raíces resistentes (Valette *et al.*, 1998).

La reacción positiva obtenida con el reactivo de Mirande y floroglucinol HCl revelaron un alto grado de lignificación en la estela y la endodermis de las porciones diferenciadas de raíces resistentes al compararlas con raíces susceptibles. Además, únicamente las células de la endodermis del cultivar resistente desplegaron una capa delgada suberizada que no fue observada en las células del cultivar susceptible. Estas diferencias constitutivas podrían explicar en parte por qué Yangambi Km 5 resiste a la infección de *Radopholus similis* (Valette *et al.*, 1998).

Por otro lado Valette *et al.*, 1998 indican que los fenoles incluyendo flavonoides, ésteres cafeicos, y dopamina podría limitar la penetración del nematodo a la raíz, y el alto nivel de lignificación vascular y suberización de células en la endodermis restringen la invasión al xilema, y previenen la multiplicación del patógeno en el tejido vascular.

II. MATERIALES Y METODOS

3.1 Fase de campo

3.1.1 Localización del experimento

La parcela demostrativa donde se desarrolló el trabajo está localizada en la comunidad del Pital municipio de Martínez de la Torre, estado de Veracruz. Este municipio se encuentra localizado geográficamente entre las coordenadas extremas del meridiano $96^{\circ} 49'$ al $97^{\circ} 19'$ de longitud oeste y del paralelo $19^{\circ} 18'$ al $20^{\circ} 16'$ de latitud norte (SEGOB, 1988).

3.1.2 Plantas estudiadas

Se evaluaron los cultivares Plátano Macho (susceptible), FHIA-20 y FHIA-21 (tolerantes) y Yangambi km5 (resistente) a la Sigatoka negra. Los tres primeros se obtuvieron del Campo Experimental Tecomán, Colima dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). El cultivar resistente se obtuvo de una parcela demostrativa del Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY) en Teapa, Tabasco.

3.1.3 Siembra

La siembra de cormos de los cuatros cultivares se realizó en julio de 1999. A los cormos se les eliminaron las raíces y el suelo del lugar de origen para evitar una posible contaminación de nuevas enfermedades en la zona, y se sometieron a inmersión en Vydate (Insecticida-Nematicida) por 15 minutos.

Al momento de la siembra se colocó 28.34 g (1 onza) de urea en el fondo del hoyo, luego se cubrió con una capa de suelo para evitar posibles quemaduras del cormo ala urea. Se sembraron 60 cormos de cada uno de los materiales en estudio (Figura 1). Durante el período de desarrollo y floración de las plantas se llevaron a cabo las labores culturales apropiadas como el control de maleza, deshije, deshoje, fertilización, desmane, y cosecha. Esta última práctica con la finalidad de conocer el rendimiento de cada uno de los cultivares bajo estudio.

3.1.4 Inoculación natural

Con base en la metodología propuesta por Jayapal y Mahadevan, (1968) se seleccionaron cinco plantas de ocho meses de edad. En las plantas seleccionadas, se encontraba la hoja candela en el estado 2 (escala de Brun, 1963) y se procedió a cubrirlas con una bolsa de plástico. La inoculación natural se llevó a cabo ocho días después, cuando la bolsa que cubría la hoja candela se retiró, la hoja se encontraba totalmente desenrollada (se consideró como tiempo cero). Esto provocó que todas las

hojas cubiertas con la bolsa tuvieran la misma probabilidad de ser infectadas por conidios o ascosporas dependiendo de las condiciones climáticas.

3.1.5 Toma de las muestras

La toma de las muestras se realizó a las 0, 48, 120, 192 y 240 horas después de exponer la hoja candela al inóculo natural. Para este estudio se consideró la hoja candela de cinco plantas a las cuales les fue asignada al azar la hora de muestreo (0, 48, 120, 192 y 240). Cada muestra consistió en 20 g del lado izquierdo de la hoja, es el primer lado que se expone al inóculo natural cuando la hoja se desenrolla. Inmediatamente después de ser recolectar las muestras, se colocaron en una hielera para conservarlas mientras se llevaban al laboratorio para su análisis. Dos muestreos se llevaron a cabo, uno a los ocho meses y el otro a los nueve, después de la siembra.

3.2 Fase de invernadero

3.2.1 Localización del experimento

La fase de invernadero fue desarrollada en los Invernaderos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

3.2.2 Preparación del suelo

Se utilizó una mezcla de suelo y materia orgánica (3:1), el suelo se obtuvo de la Estación Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, y la materia orgánica de un bosque de coníferas. La mezcla se sometió a desinfección con bromuro de metilo, por 72 horas.

3.2.3 Siembra de las plantas

La siembra se llevó a cabo en julio de 1999. Se utilizaron bolsas negras con capacidad de 20 kg (estas contenían 3/4 partes llenas de su capacidad). Se sembraron 10 cormos de Plátano Macho, FHIA-20, FHIA-21 y Yangambi Km5 con pesos que variaron de 0.5 a 1 kg. Posteriormente se seleccionaron seis plantas con el mejor desarrollo, las cuales sirvieron para las inoculaciones artificiales (Figura 2).

3.2.4 Inoculación artificial

Tres días antes de la inoculación, las plantas se sometieron a condiciones de humedad próximas al punto de saturación. La inoculación se llevo a cabo en plantas de 10 meses de edad. Seis plantas por cada cultivar se inocularon con la concentración de 2×10^4 conidios/mL; el inóculo fue aplicado en la superficie adaxial de las dos hojas más jóvenes completamente desenrolladas, y se consideraron seis puntos de inoculación, para ello se marcaron cuadros de 10 cm^2 en la parte apical, media y basal, en ambos lados de la hoja.

El inóculo, se aplicó con un atomizador para dar una distribución uniforme de gotas muy finas en la superficie de la hoja. las plantas después de inoculadas, se dejaron secar por dos horas, y se incubaron por ocho días entre 25- 28 °C y condiciones de humedad cerca del punto de saturación. La humedad fue proporcionada por un humidificador (Standard Humidifier Model 31, The Standard Engineering Works). Después del período de incubación, las plantas se siguieron manteniendo entre 25-28 °C para el desarrollo de los síntomas.

3.2.5 Toma de las muestras

La toma de las muestras se llevó a cabo de la misma forma que en campo y fueron procesadas inmediatamente después de ser colectadas. Se colectó una muestra de cada material bajo estudio minutos previos a la inoculación, con la finalidad de detectar alguna diferencia con respecto al material inoculado. El resto de las muestras fueron colectadas a las 0, 48, 120, 192 y 240 horas de ser expuestas al inóculo artificial.

3.3 Fase de laboratorio

3.3.1 Manejo del hongo

La manipulación del hongo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Fitosanidad (IFIT) del Colegio de Postgraduados.

3.3.1.1 Aislamiento de *Mycosphaerella fijiensis*

Para la obtención de cultivos monospóricos a partir de la liberación de ascosporas de los pseudotecios, se utilizó la metodología propuesta por Fouré, (1989) que consiste en coleccionar en campo fragmentos de hoja en el estado 6 de necrosis, (o por coalescencia de los estados 2 y 3). Estos fragmentos son secados e incubados por 48 horas dentro de bolsas de plástico que contienen papel toalla húmedo para facilitar la maduración de los pseudotecios del hongo. Se cortaron muestras necróticas de aproximadamente 2 cm² y se pegaron a discos de papel filtro del mismo diámetro de la caja Petri (Figura 3). Cuatro o cinco fragmentos se fijaron de esta manera y se dejaron por dos a tres minutos en agua destilada estéril.

Después los discos fueron colocados en la parte superior interna de la caja Petri, que contenía una solución de Agar Agua (AA) al 3%. La superficie del haz de los fragmentos de hojas se colocaron hacia la base de la caja cubierta de AA. Los pseudotecios descargan fácilmente sus ascosporas en AA después de 24 horas, las ascosporas pueden ser transferidas con la ayuda de un microscopio a un medio de crecimiento Micofil-Agar (MA) o Papa Dextrosa Agar (PDA).

3.3.1.2 Cultivo de *Mycosphaerella fijiensis*

Una ascospora aislada por la técnica descrita arriba se colocó en el medio MA o PDA. Con una pinza se tomó el micelio del hongo y se deslizó suavemente en forma de zigzag sobre la superficie del medio (Figura 4). El micelio de *M. fijiensis* proveniente de un

cultivo monospórico fue proporcionado por el M.C Mario Orozco Santos, del Campo Experimental de Tecomán, Colima, (INIFAP); Ing. Gilberto Manzo y el Dr. Salvador Guzmán de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima.

3.3.1.3 Preparación del inóculo

Los aislamientos se incubaron en PDA a 25 °C bajo 12 horas alternando luz y oscuridad por 14-21 días. Estas condiciones usualmente inducen a profusa esporulación. Se prepararon suspensiones de esporas por la adición de 1 mL de agua destilada al medio de cultivo de cada caja Petri y se cepilló la superficie con un pincel de pelo de camello. La suspensión fue pasada a través de una tela de manta para remover los fragmentos más grandes del medio de cultivo e hifas (Figura 5), y la concentración de conidios (Figura 6) se determinó usando un hematocitómetro.

La concentración de conidios se ajustó a 2×10^4 conidios/mL (Fullerton y Olsen, 1995). Para calcular la concentración de conidios se utilizó la formula descrita por Gonzalez, 1999.

$$\text{No. de conidios/5 cuadros principales} \times 200 = \text{conidios/mL}$$

3.3.2 Procesamiento de las muestras para determinar compuestos fenólicos de la fase de campo

Las muestras para la identificación de compuestos fenólicos se procesaron en el Laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Recursos Naturales (IRENAT) del Colegio de Postgraduados.

3.3.2.1 Extracción de compuestos fenólicos

Fueron analizadas en el laboratorio muestras de los materiales FHIA-20, FHIA-21, Plátano Macho y Yangambi km5. Para la extracción de los compuestos fenólicos se siguió el método propuesto por Jayapal y Mahadevan en 1968.

Este método consiste en pesar 20 g de hojas frescas de cada uno de los tratamientos y se cortan en trozos pequeños. Se colocan en un matraz que contiene 50 mL de acetona, y se deja reposar por 48 horas a temperatura ambiente, se filtra y se elimina el disolvente en un rotavapor (R 114), los matraces se pesaron para conocer la cantidad de muestra obtenida y posteriormente las muestras concentradas fueron resuspendidas con metanol y se aplicaron en forma de banda, los estándares se aplicaron en forma de mancha en el papel Whatman número 3 (46x57 cm).

3.3.2.2 Separación cromatográfica de compuestos fenólicos

Para la separación de los compuestos fenólicos se utilizó la metodología desarrollada por Ramírez-Martínez y Luh (1973). Se usó cromatografía descendente en papel Whatman número 3 (46x57 cm) para separar los compuestos fenólicos presentes en las muestras. Estas últimas fueron aplicadas con la ayuda de un capilar. La aplicación de los estándares se realizó de la misma forma. Los cromatogramas se dejaron por 12 horas en una cámara (cromatocab) (Figura 7), la cual contenía depósitos (cubas) con el disolvente Butanol-ácido acético-Agua (BAW) (4:1:5). De esta mezcla fue considerada únicamente la fase orgánica o superior (Figura 8).

3.3 2.3 Identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F

Los cromatogramas después de secados al aire, fueron examinados bajo luz ultra violeta (U.V) para observar las manchas separadas por el disolvente, y se procedió a registrar el valor de R_F . de cada mancha y los estándares respectivamente.

3.3 2.4 Identificación de compuestos fenólicos por medio del espectrofotómetro

Después de medir el valor de R_F de las manchas fueron separadas del cromatograma y cortadas en porciones muy finas de aproximadamente 2 mm², y se dejaron en reposo por dos horas en un matraz que contenía un volumen de metanol lo suficiente como para cubrir todo el papel.

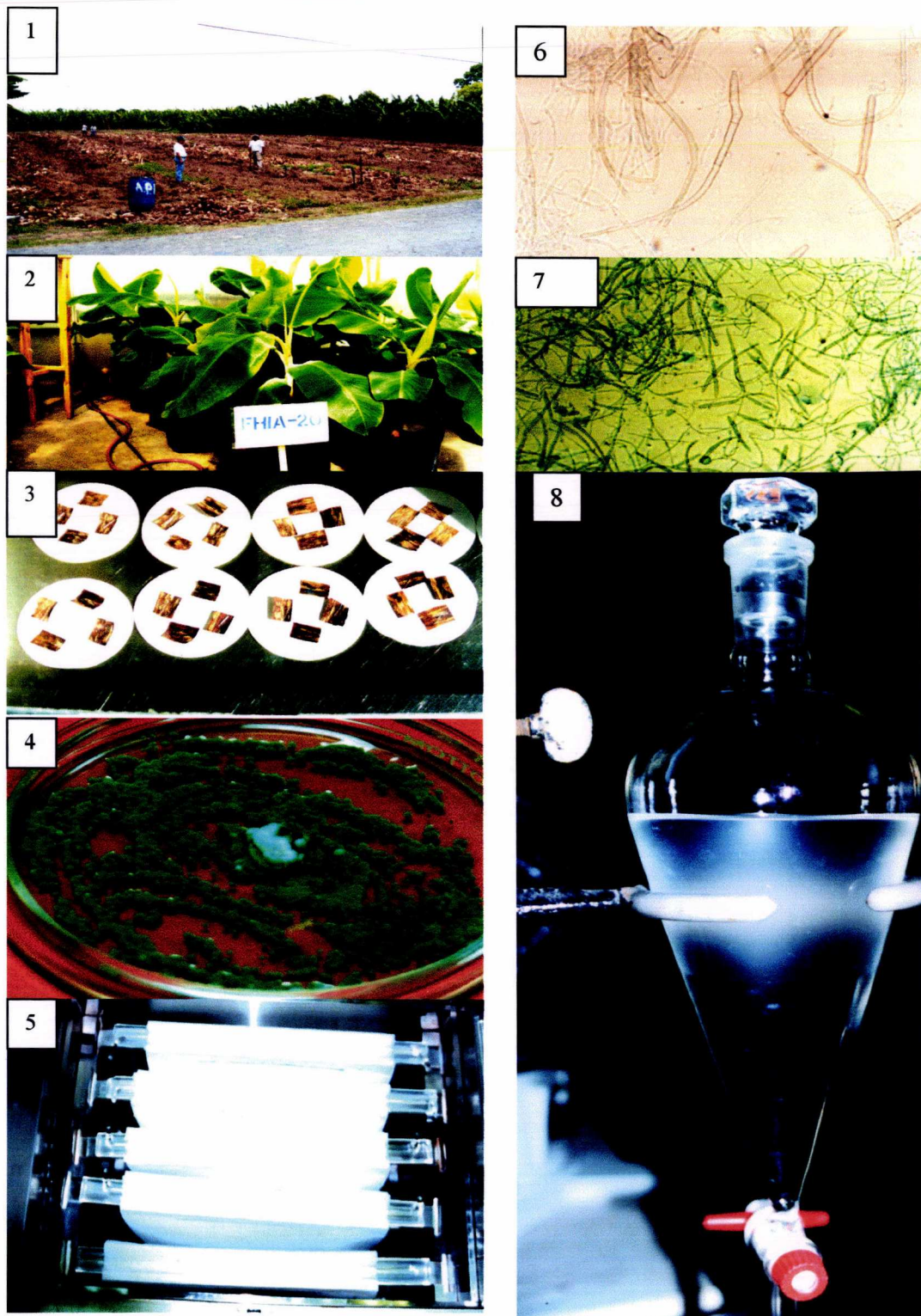


Figura 1. Siembra de los cultivares en estudio en El Pital, Martínez de la Torre, Veracruz. Julio 1999; Figura 2. Desarrollo de las plantas en invernadero; Figura 3. Discos de papel filtro con porciones de hojas necrosadas por *Mycosphaerella fijiensis*; 4. Colonias de *Paracercospora fijiensis* después de deslizar el micelio en forma de zig-zag; 5. Desarrollo de cromatogramas en la cámara cromatográfica; utilizándose como disolvente Butanol-Ácido acético-Agua BAW (4:1:5).; Figura 6. Conidio de *Paracercospora fijiensis*; Figura 7. Hifas de *Paracercospora fijiensis*; Figura 8. Fase orgánica (superior), de la mezcla BAW (4: 1:5).

Transcurridas las dos horas, la mezcla de papel y metanol fueron filtradas y separadas mediante evaporación, la muestra concentrada fue resuspendida con metanol, y se leyó en un espectrofotómetro a 190-350 nm (Pye Unicam SP8-100 Ultraviolet Spectrophotometer). Los picos de absorción obtenidos en cada mancha y en cada cultivar de estudio se registraron y se hicieron las respectivas comparaciones.

3.3.2.5 Prueba de fluorescencia

La prueba de fluorescencia indica la presencia de fenoles, en los cromatogramas, que se desarrollaron para cada una de las muestras que fueron objeto de estudio. Esta prueba consiste en desarrollar un cromatograma en dos dimensiones, la primera en Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5) y la segunda en Ácido acético al 2%.

Desarrollados los cromatogramas en las dos dimensiones, y secados, se procedió a su observación en luz (U.V), para marcar las manchas desplazadas por el disolvente y se registró su R_F , luego se aplicó amoníaco 2 N o 2 M; una reacción positiva de las manchas al amoníaco es la presencia de un color amarillo. Se dejó secar por una hora y se aplicó la mezcla de cloruro férrico al 2% y ferricianuro de potasio al 1% (1:1), y luego se aplicó ácido clorhídrico 2 M, la presencia de un color azul en las manchas indica la presencia de fenoles en la muestra. Para desarrollar esta prueba se analizaron muestras de 0,120 y 240 horas del primero y segundo muestreo en campo.

3.3.2.6 Fenoles totales

Se realizó estableciendo una curva estándar de ácido tánico de acuerdo a lo descrito por la Association of Official Agricultural Chemists` (AOAC, 1995), citada por Alia, 1999.

Se disolvieron 25 mg de ácido tánico en 250 mL de agua destilada.

- a) Se tomaron alícuotas de 0.06, 0.3, 0.6, 1.2, 1.8, 3.0 y 4.2 mL en tubos de ensayo conteniendo 4 mL de agua destilada.
- b) Posteriormente se adicionaron 0.5 mL del Reactivo de Folin-Ciocalteu y 1 mL de una solución de Na_2CO_3 al 20% y se aforó a 10 mL.
- c) Se mezcló perfectamente y se dejó desarrollar el color durante 2 h, después se registró el color al espectrofotómetro a 760 nm (Pye Unicam SP8-100 Ultraviolet Spectrophotometer). Se utilizó como blanco una solución con 8.5 mL de agua destilada+0.5mL del Reactivo de Folin-Ciocalteu y 1 mL de Na_2CO_3 al 20%.

Para las muestras se utilizó Metanol al 80% y se siguió el método de Folin-Ciocalteu descrito por Waterman y Mole, (1994).

- a) Se adicionaron 200 μl de la solución (muestra + metanol al 80 %) + 12 mL de agua destilada contenida en un tubo de ensayo.
- b) Se agitó y adicionó 1 mL de la solución Folin-Ciocalteu.
- c) Se mezcló perfectamente y después de un período de 1-8 minutos se adicionaron 3 mL de la solución de Na_2CO_3 al 20% (se anota como tiempo cero).
- d) Posteriormente se aforó con agua destilada a 20 mL y se mezcló perfectamente.

- d) Se dejó reposar 2 h y se registró la lectura a 760 nm en un espectrofotómetro (Pye Unicam SP8-100 Ultraviolet Spectrophotometer).

3.3.2.7 Compuestos fenólicos evaluados

Los estándares evaluados fueron:

Nombre químico	Nombre común
2-3 dihidroxibenzoico	O-pyrocatecuico
2-4 dihidroxibenzoico	ácido β -resorcílico
3-4 dihidroxibenzoico	ácido protocatecuico
2-5 dihidroxibenzoico	ácido gentísico
1-3 Benzenediol	ácido resorcinol
3,4- ácido dihidroxicinámico	ácido cafeico
3,4- ácido hidroxi metoxicinámico	ácido ferúlico
3-4 hidroxicinámico 5- carboxi 2,3,5 trihidroxi ciclohexil éster	ácido clorogénico

3.3.3 Extracción, separación e identificación de compuestos fenólicos por medio de valores de R_F y espectrofotómetro de la fase de invernadero.

Las muestras de invernadero se procesaron de la misma forma que las de campo, sin embargo, no se llevaron a cabo las pruebas de fluorescencia y fenoles totales

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Aislamiento de *Mycosphaerella fijiensis*

La descarga de ascosporas del material enfermo de banano sobre el medio de cultivo micofil-agar no fue posible; probablemente, la parte necrosada no tenía pseudotecios maduros y además no procedía de una zona platanera de alta precipitación (mayor probabilidad de obtener descarga de ascosporas por las condiciones climáticas en que se encuentra el hongo) por ejemplo Tabasco (comunicación personal con el M.C. Mario Orozco-Santos).

4.2 Cultivo de *Mycosphaerella fijiensis*

Del micelio obtenido de un cultivo monospórico proporcionado por la Universidad de Colima; se logró incrementarlo en PDA. (Figura 10). Obteniéndose además la formación de colonias de color gris y de color blanco (Figura 11).

La mejor forma para lograr incrementar la fase asexual del hongo fue por medio del deslizamiento del micelio del hongo sobre el medio de PDA. Esto permitió el incremento sustancial de las colonias. Cuando el rayado se realiza uniformemente, la caja Petri se llena con la colonia entre los 14 y 21 días.

4.3 Análisis de muestras de campo

4.3.1 Identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F

Considerando el cálculo de los intervalos de confianza, con una confiabilidad del 99% ($\alpha = 0.01$) para el primer muestreo en campo, los valores de R_F de las manchas presentes en las muestras, estuvieron asociadas con el ácido 2-3 y 2-4 dihidroxibenzoico para 0 y 48 horas respectivamente después de exponer la hoja candela al inóculo natural. Sin embargo a las 120 y 192 horas se observó una tendencia hacia el ácido 3-4 y 2-4 dihidroxibenzoico respectivamente para los cuatro tratamientos en estudio. Prácticamente a las 240 horas no se observó la presencia de ninguno de los compuestos fenólicos arriba mencionados.

Por otra parte cuando se desarrollaron los cromatogramas en presencia del resorcinol, ácido clorogénico, cafeico y ferúlico, fue marcada la presencia del ácido clorogénico en todos los materiales y en todas las horas de muestreo, en menor escala se presentó el ácido cafeico y ferúlico y con una presencia muy reducida el resorcinol.

Durante el análisis del segundo muestreo (un mes después del primero) los materiales en estudio fueron analizados únicamente con los estándares resorcinol, ácido clorogénico, cafeico y ferúlico. Se realizó de esta manera debido a que se observaron mejores resultados de los valores de R_F de las muestras al ser comparadas con los estándares en el primer muestreo. Los resultados de este segundo análisis indican que el

ácido clorogénico siguió presente en los diferentes materiales y en las diferentes horas de estudio; seguido del ácido cafeico, ferúlico y con una presencia relativamente baja el resorcinol.

4.3.2 Identificación de compuestos fenólicos por medio de (espectrofotómetro)

En vista que los valores de R_F juegan un papel importante en el paso inicial para la identificación de un compuesto, se esperaba confirmar la presencia de los compuestos presentes en las manchas; en especial el ácido clorogénico, cafeico, y ferúlico y 2-3 dihidroxibenzoico por su estrecha relación en los valores de R_F , por medio del espectrofotómetro. Una vez realizado el análisis con el espectrofotómetro se observó que en las manchas de cada uno de los cultivares no se obtuvieron los mismos picos de absorción que presentaron los estándares como compuesto puros. En el Cuadro 2 se observan los rangos de absorción que registraron los estándares.

Cuadro 2. Picos de absorción de los estándares, registrados entre 190-350 nm.de absorvancia. Se utilizó como disolvente metanol.

Compuesto fenólico	λ máxima m μ	λ máxima m μ	λ máxima m μ	λ máxima m μ
2-3 dihidroxibenzoico	307	206		
2-4 dihidroxibenzoico	294	253	210	
3-4 dihidroxibenzoico	293	257	218	207
ácido gentísico	330	234	211	
ácido resorcinol	281	275	207	
ácido clorogénico	327	243	216	
ácido cafeico	324	240	216	
ácido ferúlico	320	234	218	

De un total de 40 muestras analizadas del primer y segundo muestreo en campo, se seleccionaron 12 las cuales presentaron uno o dos rangos de absorción similares a algún estándar evaluado, (Cuadro 3, 4, 5).

Algo importante de indicar en estos Cuadros es la ausencia de manchas provenientes del material Yangambi Km 5. La explicación a esta situación sería que probablemente no hubo en condiciones naturales de campo la suficiente presión de inóculo; ya que de lo contrario se esperaría una serie de reacciones bioquímicas que inducen la formación de compuestos fenólicos; considerando que esta variedad es resistente a la Sigatoka negra, y que por consecuencia la concentración de éstos sería mayor al darse la interacción incompatible de planta-patógeno.

Los valores de R_F dados en los Cuadros 3, 4 y 5 no fueron analizados bajo intervalo de confianza, debido a que para poder ser analizados se necesitaba que el estándar estuviese presente en la misma hora de muestreo en los cuatro materiales de estudio para obtener los intervalos de confianza superior e inferior.

Cuadro 3. Valores de R_F , del primer muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición al inóculo natural. Se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 a las 120 horas	
FHIA-20 m1 *	34
FHIA-20 m2	44
FHIA-20 m3	53
FHIA-20 m4	59
FHIA-20 m5	63
FHIA-20 m6	74
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	74
FHIA-21 a las 120 horas	
FHIA-21 m1	28
FHIA-21 m2	38
FHIA-21 m3	44
FHIA-21 m4	51
FHIA-21 m5	66
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	64 ^a
FHIA-20 a las 192 horas	
FHIA-20 m1	30
FHIA-20 m2	39
FHIA-20 m3	42
FHIA-20 m4	47
FHIA-20 m5	53
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	66
FHIA-21 a las 192 horas	
FHIA-21 m1	38
FHIA-21 m2	50
FHIA-21 m3	55
FHIA-21 m4	64
FHIA-21 m5	77
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	79

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, ácido Acético y Agua (4:1:5).

Cuadro 4. Valores de R_F , del primer muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición al inóculo natural. Se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico y el ácido clorogénico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho a las 192 horas	
Plátano Macho m1*	41
Plátano Macho m2	53
Plátano Macho m3	59
Plátano Macho m4	66
Plátano Macho m5	77
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	77
FHIA-20 a las 240 horas	
FHIA-20 m1	40
FHIA-20 m2	52
FHIA-20 m3	59
FHIA-20 m4	68
FHIA-20 m5	78
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	78
FHIA-21 a las 240 horas	
FHIA-21 m1	32
FHIA-21 m2	38
FHIA-21 m3	47
FHIA-21 m4	58
FHIA-21 m5	75
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	76
ácido clorogénico	59
Plátano Macho a las 240 horas	
Plátano Macho m1	37
Plátano Macho m2	49
Plátano Macho m3	56
Plátano Macho m4	61
Plátano Macho m5	65
Plátano Macho m6	70
Plátano Macho m7	77
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	75
ácido clorogénico	60

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, ácido Acético y Agua (4:1:5).

Cuadro 5. Valores de R_F del segundo muestreo en campo en diferentes tiempos de exposición al inóculo natural. Se utilizaron como estándares el resorcinol, ácido ferúlico, ácido gentísico y ácido 2-3 dihidroxibenzoico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-21 a las 48 horas	
FHIA-21 m1*	35
FHIA-21 m2	41
FHIA-21 m3	47
FHIA-21 m4	55
FHIA-21 m5	61
FHIA-21 m6	77
resorcinol	76
Plátano Macho a las 192 horas	
Plátano Macho m1	38
Plátano Macho m2	46
Plátano Macho m3	51
Plátano Macho m4	58
Plátano Macho m5	64
Plátano Macho m6	82
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	82
FHIA-20 a las 240 horas	
FHIA-20 m1	39
FHIA-20 m2	49
FHIA-20 m3	56
FHIA-20 m4	62
FHIA-20 m5	80
ácido ferúlico	79
FHIA-21 a las 240 horas	
FHIA-21 m1	37
FHIA-21 m2	49
FHIA-21 m3	57
FHIA-21 m4	64
FHIA-21 m5	74
ácido gentísico	74

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, ácido Acético y Agua (4:1:5).

Los resultados de los picos de absorción de las manchas y del posible compuesto estándar presente en estas manchas para las 12 muestras seleccionadas, son analizadas en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Picos de absorción de las manchas presentes en las muestras seleccionadas y estándares asociados.

Muestra	Hora	Mancha	Muestreo	Picos de absorción de las manchas	Picos de absorción del estándar
FHIA-20	120	m3	1	310 203	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-20	120	m4	1	309	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-21	120	m1	1	309	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-20	192	m1	1	309	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-20	192	m4	1	312 203	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-21	192	m1	1	309 204	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
P. Macho	192	m1	1	309 205	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-20	240	m3	1	329	326 A. clorogénico
FHIA-21	240	m1	1	312 204	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
FHIA-21	240	m3	1	326	326 A. clorogénico
P. Macho	240	m1	1	312 205	307 A. 2-3 dihidroxibenzoico 206 A. 2-3 dihidroxibenzoico
P. Macho	240	m3	1	324	326 A. clorogénico
FHIA-21	48	m3	2	280	280 resorcinol
FHIA-20	240	m3	2	320	320 ferúlico
FHIA-21	240	m2	2	332	327 A. clorogénico
P. Macho	240	m2	2	255 205	254 A. 2-4 dihidroxibenzoico 208 A. 2-3 dihidroxibenzoico

4.3.3 Prueba de fluorescencia

Los resultados de la prueba de fluorescencia indican que de las 12 muestras seleccionadas solamente ocho fueron positivas para la presencia de fenoles. En todas las muestras en general la reacción de las manchas a la aspersión de amoníaco no fue tan contundente en vista que la formación del color amarillo típico de este compuesto en las manchas fue muy leve.

Sin embargo, si hubo reacción positiva para polifenoles cuando se asperjaron los cromatogramas con ferricianuro de potasio y cloruro férrico más ácido clorhídrico 2 N. Una reacción positiva con estos reactivos cromogénicos se caracteriza por que en las manchas marcadas bajo luz U V se observa una coloración azul intensa. En el Cuadro 7. se presentan las reacciones positivas ante la aspersión de cloruro férrico al 2% y ferricianuro de potasio al 1% más ácido clorhídrico 2N. Se observan además valores de R_F en BAW y en ácido acético al 2%. En la Figura 12 se puede apreciar la intensidad de las machas de color azul.

4.3.4 Fenoles totales

Para confirmar los resultados obtenidos de fenoles por medio de fluorescencia se llevó a cabo la prueba de fenoles totales. Los resultados de esta técnica se presentan en el Cuadro 8. Los valores de la concentración en equivalentes de ácido tánico de las muestras fueron calculados a partir de la curva de calibración de ácido tánico. Con la curva de calibración se obtuvo la ecuación:

$$Y = 0.059 + 0.25(X)$$

Donde:

Y corresponde a los valores de absorbancia que se registraron para cada una de las muestras; 0.059 (al intercepto); 0.25 (al coeficiente de regresión); y X la concentración de fenoles totales expresada como equivalentes de ácido tánico.

Waterman y Mole, (1984) mencionan que una muestra de planta contiene el equivalente a 40 mg/g de ácido tánico. El lado negativo de esta prueba es que el lector desinformado traslada el equivalente de 40 mg/g de ácido tánico solamente en términos de ácido tánico, mientras que no sólo podría haber ácido tánico en toda la muestra.

En ese sentido los resultados obtenidos indicaron un incremento en la concentración de fenoles totales equivalente a ácido tánico a medida que pasó el tiempo de exposición de la hoja candela al inóculo natural. En general, se puede mencionar que a partir de las 0 horas de ser expuesta la hoja candela al inóculo natural la concentración se incrementó y alcanzó su máximo a las 120 horas y a partir de ese tiempo comenzó a disminuir hasta alcanzar la menor concentración a las 240 horas.

Estos resultados difieren a los obtenidos por Jayapal y Mahadevan, (1968) ya que estos autores encontraron que cuando evaluaron a las 0, 48, 120, 192, 240 horas respectivamente, la mayor concentración de fenoles totales equivalentes a Catecol la encontraron a las 48 horas seguida de 0 horas después de exponer la hoja de *Musa balbisiana* variedad Kattu Vazhai resistente a *Cercospora musa* y *Helminthosporium gibberosporium* y *Musa paradisiaca* variedad Monthaniana.

Cuadro 7. Cromatografía de papel en dos dimensiones para los estándares y muestras seleccionadas.

Estándar	Mues treo	R_F (x100) BAW	R_F (x100) HOAc ¹ 2%	Reacción de color FeCl ₃ 2% +K ₃ Fe(CN) ₆ (1%) + HCl 2N
Muestras				
P Macho 192 horas m1	1	40	47	Azul
P Macho 192 horas m2	1	36	50	Azul
P Macho 192 horas m3	1	45	53	Azul
FHIA-20 240 horas m1	1	48	36	Azul
FHIA-20 240 horas m2	1	73	66	Azul
FHIA-21 240 horas m1	1	34	48	Azul
FHIA-21 240 horas m2	1	38	71	Azul
FHIA-21 240 horas m3	1	41	93	Azul
P Macho 240 horas m1	1	44	19	Azul
P Macho 240 horas m2	1	38	52	Azul
P Macho 240 horas m3	1	49	67	Azul
P Macho 240 horas m4	1	55	82	Azul
FHIA-21 48 horas m1	2	40	47	Azul
FHIA-21 48 horas m2	2	61	91	Azul
FHIA-20 240 horas m1	2	39	17	Azul
FHIA-20 240 horas m2	2	30	44	Azul
FHIA-20 240 horas m3	2	29	83	Azul
FHIA-21 240 horas m1	2	46	9	Azul
FHIA-21 240 horas m2	2	38	37	Azul
FHIA-21 240 horas m3	2	72	68	Azul
P Macho 240 horas m1	2	42	12	Azul
P Macho 240 horas m2	2	31	35	Azul
P Macho 240 horas m3	2	30	52	Azul
P Macho 240 horas m4	2	25	59	Azul
P Macho 240 horas m5	2	20	75	Azul

¹/ácido acético

Cuadro 8. Absorvancia y concentración de ácido tánico (mg/100 mL) a 0, 120 y 240 horas después de exponer la hoja candela al inóculo natural. Primer y segundo muestreo en campo.

Muestras		Muestreo	Absorvancia (750 nm)	Concentración de ácido tánico (mg/100 mL)
FHIA-20	0 horas	1	0.756	2.8
FHIA-20	120 horas	1	0.995	3.7
FHIA-20	240 horas	1	0.499	1.8
FHIA-21	0 horas	1	0.336	1.1
FHIA-21	120 horas	1	0.539	1.9
FHIA-21	240 horas	1	0.287	0.9
P. Macho	0 horas	1	0.908	3.4
P. Macho	120 horas	1	0.900	3.4
P. Macho	240 horas	1	0.790	2.9
Yangambi Km5	0 horas	1	0.725	2.7
Yangambi Km5	120 horas	1	0.690	2.5
Yangambi Km5	240 horas	1	0.549	2.0
FHIA-20	0 horas	2	0.480	1.7
FHIA-20	120 horas	2	0.449	1.6
FHIA-20	240 horas	2	0.901	3.4
FHIA-21	0 horas	2	0.822	3.0
FHIA-21	120 horas	2	0.936	3.5
FHIA-21	240 horas	2	0.170	0.4
P. Macho	0 horas	2	0.590	2.0
P. Macho	120 horas	2	0.915	3.4
P. Macho	240 horas	2	0.173	0.5
Yangambi Km5	0 horas	2	0.593	2.0
Yangambi Km5	120 horas	2	0.960	3.6
Yangambi Km5	240 horas	2	0.384	1.3

4.4 Análisis de muestras de invernadero

4.4.1 Extracción, separación e identificación de compuestos fenólicos por medio de los valores de R_F

En los 24 cromatogramas que se desarrollaron en esta fase fue posible evaluar los ocho estándares simultáneamente, es decir, una muestra de material vegetal y todos los compuestos que fueron objeto de estudio, esto permitió observar un comportamiento particular del ácido clorogénico con el resto de los estándares. Todos los compuestos fueron desplazados muy cerca del frente del disolvente, excepto el clorogénico, el cual siempre se mantuvo muy cerca de las manchas que logró separar el disolvente en las muestras. En la Figura 13 se observa el patrón de separación que se logró desarrollar para el ácido clorogénico y las manchas de los cultivares en estudio.

4.4.2 Identificación de compuestos fenólicos por medio del espectrofotómetro.

Nueve muestras se seleccionaron por presentar bandas más intensas al observarse en fluorescencia U V de onda larga. En los (Cuadros 9 y 10), se presentan las muestras seleccionadas. En este análisis ya se observa la presencia de muestras de Yangambi km5, las cuales no ocurrieron en los análisis que se llevaron a cabo en la fase de campo.

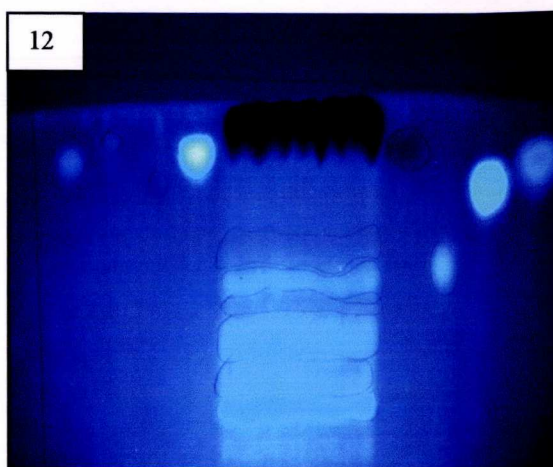
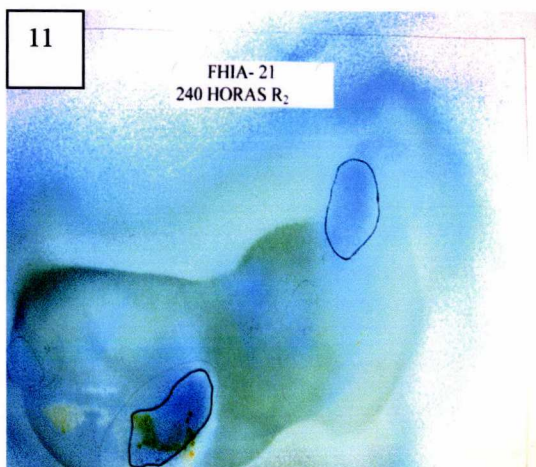
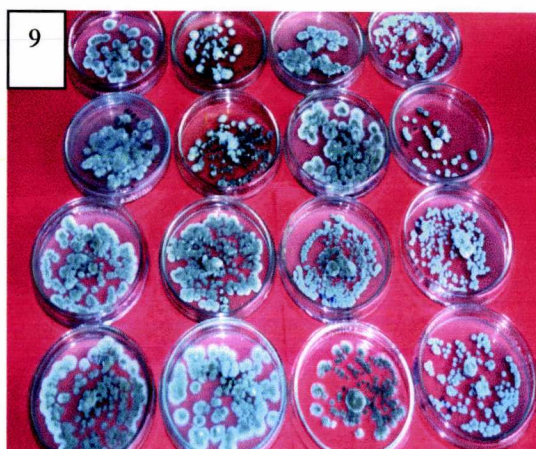


Figura 9. Incremento del micelio de *Paracercospora fijiensis*; Figura 10. Colonias de *Paracercospora fijiensis* (color gris y blanco); Figura 11. Reacción de los fenoles (color azul) con Ferricianuro de Potasio, Cloruro Férrico y Ácido Clorhídrico en el híbrido FHIA-21 a las 240 horas de la fase de campo; Figura 12. Bandas en luz U V en muestra proveniente de invernadero.

Cuadro 9. Valores de R_F del muestreo en invernadero en diferentes tiempos de exposición al inóculo artificial. Se utilizó como estándar el ácido clorogénico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW**
Yangambi Km5 a las 48 horas	
Yangambi Km5 m1 *	56
Yangambi Km5 m2	69
ácido clorogénico	69
FHIA-21 a las 120 horas	
FHIA-21 m1	36
FHIA-21 m2	66
FHIA-21 m3	75
ácido clorogénico	66
Plátano Macho a las 120 horas	
Plátano Macho m1	39
Plátano Macho m2	55
Plátano Macho m3	66
ácido clorogénico	63
Yangambi Km5 120 horas	
Yangambi Km5 m1	34
Yangambi Km5 m2	42
Yangambi Km5 m3	57
Yangambi Km5 m4	72
ácido clorogénico	71
FHIA-20 a las 192 horas	
FHIA-20 m1	36
FHIA-20 m2	53
FHIA-20 m3	67
ácido clorogénico	66

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Solvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, ácido acético y Agua (4:1:5).

Cuadro 10. Valores de R_F del muestreo en el invernadero a diferentes tiempos de exposición al inóculo artificial. Se utilizó como estándar el ácido clorogénico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW**
Yangambi Km5 a las 192 horas	
Yangambi Km5 m1 *	46
Yangambi Km5 m2	58
Yangambi Km5 m3	69
ácido clorogénico	65
FHIA-20 a las 240 horas	
FHIA-20 m1	67
FHIA-20 m2	77
ácido clorogénico	68
FHIA-21 a las 240 horas	
FHIA-21 m1	34
FHIA-21 m2	66
FHIA-21 m3	75
ácido clorogénico	68
Yangambi Km5 a las 240 horas	
Yangambi Km5 m1	32
Yangambi Km5 m2	38
Yangambi Km5 m3	53
Yangambi Km5 m4	67
Yangambi Km5 m5	80
ácido clorogénico	67

* Número de manchas presentes en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente.

** Solvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, ácido acético y Agua (4:1:5).

4.5 Discusión general

De las 40 muestras analizadas provenientes de campo, para determinar los valores de R_F , no se encontraron en el total de las muestras valores asociados a los estándares, excepto para el ácido 2-3 y 2-4 dihidroxibenzoico y ácido 3-4 y 2-4 dihidroxibenzoico, así como el ácido clorogénico y en menor cantidad el resto de los estándares. Por tal motivo se analizaron en el espectrofotómetro, para corroborar por la similitud de los picos de absorción la presencia de los estándares antes mencionados, encontrándose que el estándar que predominó fue el ácido 2-3 dihidroxibenzoico.

Para tener mayor certeza de la presencia de compuestos fenólicos presentes en las muestras se realizó la prueba de fluorescencia en 12 muestras seleccionadas en base a los picos de absorción registrados en el espectrofotómetro, encontrándose la presencia de fenoles. A la par se seleccionaron 24 muestras en función de los tiempos de exposición al inóculo (0, 120 y 240 horas) para determinar la concentración de fenoles totales equivalentes a ácido tánico, encontrándose la mayor concentración a las 120 horas. En las muestras provenientes del invernadero se encontraron valores de R_F similares al ácido clorogénico.

En diferentes estudios se ha encontrado respuesta del hospedante en la formación de compuestos y/o sustancias fenólicas al ataque del patógeno.

De manera general, por ejemplo, Matern y Kneusel, 1988 mencionan que la estrategia de defensa de las plantas se puede dar en dos estados; el primero es asumido al

involucrar la rápida acumulación de fenoles en el sitio de infección, el cual funciona al reducir (o detener) el crecimiento del patógeno y permitir la activación de estrategias secundarias que podrían más a fondo restringir al patógeno. Dentro de estas respuestas secundarias se podría involucrar la activación de defensas específicas como la síntesis de fitoalexinas u otras sustancias relacionadas al estrés.

Estos mismos autores indican que la secuencia de eventos en una respuesta de defensa puede ser considerada por incluir (en este orden) muerte y necrosis de la célula del hospedante, acumulación de fenoles tóxicos, modificación de paredes celulares por los sustituyentes fenólicos o barreras físicas como aposiciones o papilas, y finalmente, la síntesis de "antibióticos" específicos como las fitoalexinas.

Con respecto al cultivo del banano y plátano resultados obtenidos por Sallé *et al.*, 1989 mencionan un contenido más alto de polifenoles en tejidos sanos, sin embargo el incremento más alto y más rápido se presentó después del ataque del hongo.

Así, Sallé *et al.*, 1989 indican en su estudio que la reacción del cultivar Yangambi fue diferente a la de Fougamou. En Yangambi el proceso necrótico se detuvo definitivamente en el estado 2 sin la formación de halo amarillo, en este caso no fue posible detectar ninguna acumulación de sustancias polifenólicas. La reacción defensiva de Yangambi pareció ser diferente con respecto a Fougamou y Gran Enano. En Yangambi probablemente el hongo es destruido muy temprano (antes de los 20 días después de la inoculación) debido a que las hifas fueron raramente observadas en el tejido. Podría ser una reacción hipersensitiva

En otro estudio, se ha encontrado el incremento del contenido de células polifenólicas durante el desarrollo de *M. fijiensis* en tejidos del cultivar susceptible Gran Enano y el parcialmente resistente Fougamou. Sin embargo penen en duda que estas sustancias estén involucradas en la resistencia como consecuencia de la penetración del hongo (Sallé *et al.*, 1989).

Mourichon *et al.*, 1989 mencionan que el comportamiento del Yangambi Km 5, con el bloqueo de los primeros estados de desarrollo de la enfermedad, comparado con el de Fougamou no puede ser contabilizado únicamente por la presencia de sustancias fungitóxicas encontradas en los extractos.

Estos compuestos preformados deberían ser considerados únicamente como un posible componente de resistencia, el cual combinado con otros mecanismos tales como aquellos activados durante la interacción planta-patógeno por ejemplo: incremento durante la infección de compuestos preexistentes, en el hospedante pero no en concentraciones tóxicas; inducción por el patógeno de síntesis de nuevos compuestos del tipo de fitoalexinas; destoxificación de enzimas (pectinasas, celulosas, hemicelulosas) Mourichon *et al.*, 1989

En nuestro estudio se detectó la presencia de fenoles, pero para conocer las concentraciones de estos compuestos, a futuro, deberían ser analizadas con técnicas más avanzadas como el análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), para el aislamiento e identificación de pequeñas cantidades de estos compuestos.

V. CONCLUSIONES

En todos los cultivares estudiados de campo se encontró mayor concentración de fenoles totales (equivalente a ácido tánico) a las 120 horas después de ser expuestas al inóculo natural

En todos los cultivares estudiados en invernadero los valores de R_F indicaron la presencia del ácido clorogénico, antes de la inoculación, 0, 48, 120, 192 y 240 después de ser inoculadas.

VI. LITERATURA CITADA

1. Agrios, N.G. 1985. Fitopatología. Limusa, México. 756 p.
2. Alia, T. I. 1999. Efecto de temperaturas de refrigeración sobre la maduración e incidencia de daños por frío en frutos de mamey [*Pouteria sapota* (Jacq)] H.E. Moore & Stearn). Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 74 p.
3. Arneson, P.A. 1998. [http: /arneson.Cornel.edu/Olplpath/Profiles/Sigatoka/Pa2406+2.h](http://arneson.Cornel.edu/Olplpath/Profiles/Sigatoka/Pa2406+2.h)
4. Belalcázar, S. C. y Merchan, V. M. 1994. Control de enfermedades. En: "El cultivo del plátano en el trópico (Musa AAB Simmonds)". Belalcázar, S., Toro, J. C y Jaramillo, R. (eds). pp. 243-290.
5. Brun, J. 1963. La cercosporiose du bananier en Guinée. Etude de la phase ascosporee *Mycosphaerella musicola* Leach. These de Doctorat. Faculté des Sciences l'Université de París Sud, Centre d'Orsay. 166 p.
6. Bruzzese, E. and Hassan, S. 1983. A whole leaf clearing and staining technique for host specificity studies of rust fungi. Plant Pathol. 32: 335-338.
7. Bureau, E., Marín, D. y Guzmán, J.A. 1992. El sistema del preaviso para el combate de la Sigatoka negra en banano y plátano. Restrepo A. (ed.). UPEB. Barcenas, Panamá. pp 4-17.
8. Farmer, E. E. 1985. Effects of fungal elicitors on lignin biosynthesis in cell suspension cultures of soybean. Plant Physiol. 78: 338-342

9. Fernández, M. R. and Heath, M. C. 1989. Interaction of the nonhost reaches bean plant (*Phaseolus vulgaris*) with parasitic and saprophytic fungi. III. Cytologically detectable responses. Can. J. Bot. 67:676-686.
10. Fouré, E. 1989 Contribution to genetic control of banana plantain Sigatoka leaf spot in Cameron: studies on varietal susceptibility and early inoculation trials on plantlets produced by *in vitro* culture. En: R. A. Fullerton, R. H. Stover (eds.). Sigatoka leaf spot diseases of bananas : proceeding of an international workshop held at San José, Costa Rica, March 28- April 1. Pp 290-305.
11. Fouré, E., Mouliom-Pefoura, A. y Mourichon X. 1990. Etude de la sensibilité des bananiers et des plantains á *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Cameroun. caractérisation de la résistance au champ de bananiers appartenant á divers groupes génétiques. Fruits 45 (4): 339-345.
12. Fullerton, R.A. and Olsen, T. L. 1995. Pathogenic variability in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, cause of black Sigatoka in banana and plantain. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 23: 39-48.
13. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). 1995. Programa de Banano y Plátano. Informe Técnico. San Pedro Sula, Honduras. 95 p.
14. González, M. 1999. Metodología para la manipulación y cultivo *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 53 I-IV.
15. Gonzalez, R., Bustamante, E., Shannon, P., Okumoto, S. y Leandro, G. 1996. Evaluación de microorganismos quitinolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* en casa de mallas y campo. Revista Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 40: 6-11.

16. Hahlbrock, K., Lamb, C. J., Purwin, C., Ebel, J., Fautz, E. and Schafer, E. 1981. Rapid response of suspension-cultured parsley cells to the elicitor from *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. Induction of the enzymes of general phenylpropanoide metabolism. Plant Physiol. 67: 768-773.
17. Harborne, J. B. 1984. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. 2^a ed. Chapman and Hall, New York, U. S. A. 285 p.
18. Heath, M. C. 1980. Reactions of non-suscepts to fungal pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 18: 211-236.
19. Jacome, L. H., Schuh, W. and Stevenson, R.E. 1991. Effect of temperature and relative himidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Phytopathology. 81: 1480-1485
20. Jayapal, R. and Mahadevan, A. 1968. Biochemical changes in bananas leaves in response to leaf spot pathogens. Indian Phytopathology. 21:43-48.
21. Kuc, J. 1982. Phytoalexins from the Solanaceae. In: Bailey, J. A. and Mansfield, J.W. (Eds). Phytoalexins. Blackie & Son Limited, Glascow and London. Pp. 81-105.
22. Kurosaki, F., Tashiro, N. and Nishi, A. 1986. Induction of chitinase and phenylalanine ammonia-lyase in cultured carrot cells treated with fungal mycelial walls. Plant Cell Physiol. 27 (8):1587-1591.
23. Maciel, Z.J., A. Pires de M. & S. De Oliveira e S. 1998. Black Sigatoka confirmed in Brazil. Infomusa. 7 (1): 31.
24. Marín, V.D. y Romero, C.R. 1992. El combate de la Sigatoka negra en banano. Corporación Bananera Nacional. Costa Rica. Boletín No. 4. 22 p.

25. Massala, R., Legrand, M. and Fritig, B. 1980. Effect of α -aminooxyacetate, a competitive inhibitor of phenylalanine ammonia-lyase, on the hypersensitive resistance of tobacco to tobacco mosaic virus. *Physiol. Plant Pathol.* 16: 213-226.
26. Matern, U. and Kneusel, R. E. 1988. Phenolic compounds in plant disease resistance. *Phytoparasítica.* 16:153-170.
27. Mourichon, X. and Fullerton, R.A. 1990. Geographical distribution of the species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agents of Sigatoka Disease and Black Leaf Streak Disease in bananas and plantains. *Fruits* 45: 553-557.
28. Mourichon, X., Beberaggi, A. and Sallé, G. 1989. Preformed substances as potential protectants against *Mycosphaerella fijiensis* in banana leaves: presence of preformed compounds toxic for *M. fijiensis*. En: R. A. Fullerton, R. H. Stover (eds.). Sigatoka leaf spot diseases of bananas : proceeding of an international workshop held at San José, Costa Rica, March 28- April 1. Pp 173-179.
29. Nicholson, R. and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30:369-389
30. Niemann, G. J., Van der Bij, A., Brandt-te Boer, B., Boon, J. J. and Baayen, R. P. 1991. Differential response of four carnation cultivates to races 1 and 2 *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and to *Phialophora cinerescens*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 38:117-136.
31. Perumalla, C.J. and Heath, M.C. 1991. The effect of inhibitors of various cellular processes on the wall modifications induced in bean leaves by the cowpea rust fungus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 31:273-290.

32. Orozco, R. J. 1998. Control genético y cultural de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Memorias del Curso Manejo Integrado de Sigatoka negra. Manzanillo, Colima, Mexico. Pp. 77-86.
33. Orozco-Santos, M. 1998a. Manejo Integrado de la Sigatoka negra del plátano. SAGAR, INIFAP, CIPACC. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. Folleto técnico No. 1 División Agrícola. 95 p.
34. Orozco-Santos M. 1998b. La Sigatoka negra del banano (*Mycosphaerella fijiensis*). el caso de Mexico. Memorias del Curso Manejo Integrado de Sigatoka negra. Manzanillo, Colima, Mexico. Pp. 53-66.
35. Raghunathan, R; A. Mahadevan; and G. Rangaswami. 1965. A comparative study of the resistant susceptible bananas varieties to fungal diseases. Indian Phytopathology. 19: 141-149.
36. Ramírez-Martínez, J. R. and Luh, B. S. 1973. Phenolics compounds in frozen avocados. J. Sci. Fd Agric. 24: 219-225.
37. Ramírez, S. G. y Rodríguez, C. J. C. 1996. Manual de producción de plátano para Tabasco y Norte de Chiapas. SARH- INIFAP. Huimanguillo, Tabasco, México. Folleto. Técnico Núm. 13. División Agrícola 80 p.
38. Rosales, F. E., Sharrock, S; y Tripon, S. 1998. La importancia de las musáceas en el mundo. Memorias del Primer Simposium Internacional sobre Sigatoka negra. Manzanillo, Colima, México. Pp. 9-17.
39. Rowe, P. y Rosales, F. 1993. Mejoramiento de diploides en FHIA y desarrollo de Goldfinger (FHIA-01). Infomusa 3 (2): 14-16.

40. Sági, L., Remy, S. and Swennen, R. 1998. Fungal disease control en banana, a tropical monocot: transgenic plantas in the third world?. *Phytoprotection* 79:117-120.
41. Sallé, G., Pichard, V. and Mourichon, X. 1989. Cytological study of the interaction between *Mycosphaerella fijiensis* Morelet and the three cultivars of musa preting different level of resistance. En: R. A. Fullerton, R. H. Stover (eds.). Sigatoka leaf spot diseases of bananas : proceeding of an international workshop held at San José, Costa Rica, March 28- April 1. Pp 290-305.
42. Secretaría de Gobernación. 1988. Los municipios de Veracruz. Colección: Enciclopedia de los municipios de Mexico. 535 p.
43. Stover, R.H. 1980. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. *Plant Disease*. 64 (8): 750-755.
44. Stover, R.H. and Simmonds, N.W. 1987. Bananas, Longman, Scientific & Technical UK. 468 p.
45. Valdovinos, P. G. 1999. Histopatología e histoquímica foliar de los cultivares de banano FHIA-01 y enano gigante y su relación con la resistencia a la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 74 p.
46. Valette, C., Andary, C., Geiger, J. P., Sarah, J. L., and Nicole, M. 1998. Histochemiacal and cytochemical investigations of phenol in roots of banana infected by the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Phytopathology* 88: 1141-1148.
47. Waterman, P.G and Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK. 238 p.

ANEXOS

Cuadro 1. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW**
FHIA-20 m1 *	84 ^{a b c d ***}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	90 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	81 ^c
ácido gentísico	88 ^d
FHIA-21 m1	36
FHIA-21 m2	47
FHIA-21 m3	50
FHIA-21 m4	74 ^{a b}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	78 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	84 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	87 ^d
Plátano Macho m1	37
Plátano Macho m2	45
Plátano Macho m3	52
Plátano Macho m4	59
Plátano Macho m5	78 ^{a b c}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	90 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	91 ^d
Yangambi Km5 m1	78 ^{a b c}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	91 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	88 ^d

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 2. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	38
FHIA-20 m2	47
FHIA-20 m3	57 ^{b ***}
FHIA-20 m4	70 ^{a b}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	83 ^c
ácido gentísico	87 ^d
FHIA-21 m1	29
FHIA-21 m2	40
FHIA-21 m3	51
FHIA-21 m4	59 ^b
FHIA-21 m5	71 ^a
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	90 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	83 ^c
ácido gentísico	89 ^d
Plátano Macho m1	26
Plátano Macho m2	33
Plátano Macho m3	42
Plátano Macho m4	49
Plátano Macho m5	66 ^{a b}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	79 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	78 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	79 ^c
ácido gentísico	85 ^d
Yangambi Km5 m1	37
Yangambi Km5 m2	46
Yangambi Km5 m3	67 ^{a b}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	91 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	89 ^d

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 3. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	44
FHIA-20 m2	58 ^{c ***}
FHIA-20 m3	66 ^c
FHIA-20 m4	74 ^{c d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	91 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	88 ^d
FHIA-21 m1	47 ^c
FHIA-21 m2	62 ^c
FHIA-21 m3	71 ^{c d}
FHIA-21 m4	81 ^{a c d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	95 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	96 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	91 ^c
ácido gentísico	96 ^d
Plátano Macho m1	41
Plátano Macho m2	55 ^c
Plátano Macho m3	69 ^{c d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	74 ^c
ácido gentísico	87 ^d
Yangambi Km5 m1	41
Yangambi Km5 m2	60 ^c
Yangambi Km5 m3	70 ^d
Yangambi Km5 m4	76 ^{a d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	81 ^c
ácido gentísico	88 ^d

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 4. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) en BAW **
FHIA-20 m1 *	80 ^{a b c d ***}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	97 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	99 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	90 ^c
ácido gentísico	93 ^d
FHIA-21 m1	42 ^b
FHIA-21 m2	55 ^b
FHIA-21 m3	69 ^{b c}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	90 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	83 ^c
ácido gentísico	87 ^d
Plátano Macho m1	46 ^b
Plátano Macho m2	57 ^b
Plátano Macho m3	65 ^b
Plátano Macho m4	74 ^{a b c d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	90 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	89 ^d
Yangambi Km5 m1	46 ^b
Yangambi Km5 m2	61 ^b
Yangambi Km5 m3	76 ^{a b c d}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	95 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	99 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	91 ^c
ácido gentísico	95 ^d

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 5. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el ácido 2, 3 dihidroxibenzoico, ácido 2, 4 dihidroxibenzoico, ácido 3, 4 dihidroxibenzoico y ácido gentísico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	46
FHIA-20 m2	58
FHIA-20 m3	66
FHIA-20 m4	70
FHIA-20 m5	74
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	87 ^d
FHIA-21 m1	45
FHIA-21 m2	58
FHIA-21 m3	67
FHIA-21 m4	74
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	88 ^d
Plátano Macho m1	60
Plátano Macho m2	68
Plátano Macho m3	72
Plátano Macho m4	76
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	87 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	83 ^c
ácido gentísico	88 ^d
Yangambi Km5 m1	62
Yangambi Km5 m2	69
Yangambi Km5 m3	73
Yangambi Km5 m4	77 ^{c***}
ácido 2, 3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2, 4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3, 4 dihidroxibenzoico	87 ^c
ácido gentísico	91 ^d

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 6. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	36
FHIA-20 m2	62 ^{f***}
FHIA-20 m3	76 ^{f g}
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	91 ^h
FHIA-21 m1	37
FHIA-21 m2	47
FHIA-21 m3	72 ^{f g}
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	90 ^h
Plátano Macho m1	37
Plátano Macho m2	54
Plátano Macho m3	74 ^{f g}
resorcinol	88 ^{e f}
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	86 ^g
ácido ferúlico	93 ^h
Yangambi Km5 m1	45
Yangambi Km5 m2	51
Yangambi Km5 m3	51
Yangambi Km5 m4	68 ^{f g}
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	70 ^f
ácido cafeico	78 ^g
ácido ferúlico	88 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

***Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 7. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	36 ^{f***}
FHIA-20 m2	46 ^f
FHIA-20 m3	55 ^f
FHIA-20 m4	73 ^f
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	81 ^h
ácido ferúlico	88 ^g
FHIA-21 m1	27
FHIA-21 m2	37 ^f
FHIA-21 m3	45 ^f
FHIA-21 m4	53 ^f
FHIA-21 m5	67 ^f
resorcinol	88 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	81 ^f
ácido ferúlico	90 ^g
Plátano Macho m1	31 ^f
Plátano Macho m2	42 ^f
Plátano Macho m3	50 ^f
Plátano Macho m4	56 ^f
Plátano Macho m5	72 ^f
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	83 ^f
ácido cafeico	83 ^f
ácido ferúlico	89 ^g
Yangambi Km5 m1	39 ^f
Yangambi Km5 m2	50 ^f
Yangambi Km5 m3	58 ^f
Yangambi Km5 m4	72 ^f
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	82 ^f
ácido ferúlico	90 ^g

* Número de manchas presentes en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 8. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	48
FHIA-20 m2	61
FHIA-20 m3	67 ^{f g ***}
FHIA-20 m4	73 ^{f g h}
FHIA-20 m5	80 ^{f g h}
resorcinol	95 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	89 ^g
ácido ferúlico	95 ^h
FHIA-21 m1	60
FHIA-21 m2	69 ^{f g}
FHIA-21 m3	78 ^{f g h}
resorcinol	99 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	91 ^f
ácido ferúlico	95 ^h
Plátano Macho m1	43
Plátano Macho m2	57
Plátano Macho m3	64
Plátano Macho m4	70 ^{f g}
Plátano Macho m5	75 ^{f g h}
resorcinol	93 ^e
ácido clorogénico	71 ^f
ácido cafeico	82 ^g
ácido ferúlico	87 ^h
Yangambi Km5 m1	61
Yangambi Km5 m2	67
Yangambi Km5 m3	74 ^{f g h}
Yangambi Km5 m4	80 ^{f g h}
resorcinol	98 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	91 ^g
ácido ferúlico	96 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 9. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	44 ^h
FHIA-20 m2	56 ^{f h ***}
FHIA-20 m3	66 ^{f g h}
FHIA-20 m4	72 ^{f g h}
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	67 ^f
ácido cafeico	81 ^g
ácido ferúlico	76 ^h
FHIA-21 m1	46 ^h
FHIA-21 m2	60 ^{f h}
FHIA-21 m3	67 ^{f g h}
FHIA-21 m4	72 ^{f g h}
FHIA-21 m5	78 ^{e f g h}
resorcinol	96 ^e
ácido clorogénico	69 ^f
ácido cafeico	87 ^g
ácido ferúlico	93 ^h
Plátano Macho m1	50 ^h
Plátano Macho m2	63 ^{f g h}
Plátano Macho m3	69 ^{f g h}
Plátano Macho m4	78 ^{e f h}
resorcinol	98 ^e
ácido clorogénico	75 ^f
ácido cafeico	88 ^g
ácido ferúlico	94 ^h
Yangambi Km5 m1	49 ^h
Yangambi Km5 m2	63 ^{f g h}
Yangambi Km5 m3	69 ^{f g h}
Yangambi Km5 m4	74 ^{e f g h}
Yangambi Km5 m5	81 ^{e f g h}
resorcinol	99 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	93 ^g
ácido ferúlico	98 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 10. Valores de R_F del primer muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) en BAW **
FHIA-20 m1*	47 ^f
FHIA-20 m2	59 ^f
FHIA-20 m3	65 ^{e fg ***}
FHIA-20 m4	70 ^{e fg}
FHIA-20 m5	75 ^{e fg}
resorcinol	92 ^e
ácido clorogénico	70 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	89
FHIA-21 m1	46 ^f
FHIA-21 m2	58 ^f
FHIA-21 m3	67 ^{e fg}
FHIA-21 m4	75 ^{e fg}
resorcinol	88 ^e
ácido clorogénico	70 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	89
Plátano Macho m1	42 ^f
Plátano Macho m2	55 ^f
Plátano Macho m3	62 ^{e fg}
Plátano Macho m4	70 ^{e fg}
resorcinol	84 ^e
ácido clorogénico	64 ^f
ácido cafeico	81 ^g
ácido ferúlico	91
Yangambi Km5 m1	49 ^f
Yangambi Km5 m2	65 ^{e fg}
Yangambi Km5 m3	74 ^{e fg}
Yangambi Km5 m4	80 ^{e fg}
Yangambi Km5 m5	85 ^{e fg}
resorcinol	98 ^e
ácido clorogénico	78 ^f
ácido cafeico	92 ^g
ácido ferúlico	97

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 11. Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 0 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	38
FHIA-20 m2	50
FHIA-20 m3	62 ^{f***}
FHIA-20 m4	75 ^{e f g}
resorcinol	96 ^e
ácido clorogénico	75 ^f
ácido cafeico	88 ^g
ácido ferúlico	93 ^h
FHIA-21 m1	42
FHIA-21 m2	53
FHIA-21 m3	69 ^{f g}
FHIA-21 m4	76 ^{e f g}
resorcinol	97 ^e
ácido clorogénico	72 ^f
ácido cafeico	92 ^g
ácido ferúlico	97 ^h
Plátano Macho m1	36
Plátano Macho m2	49
Plátano Macho m3	60 ^f
Plátano Macho m4	72 ^{f g}
resorcinol	92 ^e
ácido clorogénico	71 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	89 ^h
Yangambi Km5 m1	44
Yangambi Km5 m2	52
Yangambi Km5 m3	60 ^f
Yangambi Km5 m4	69 ^{f g}
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	67 ^f
ácido cafeico	85 ^g
ácido ferúlico	92 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

***Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 12. Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 48 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	30
FHIA-20 m2	43 ^{e f g ***}
FHIA-20 m3	56 ^{e f g h}
FHIA-20 m4	63 ^{e f g h}
resorcinol	77 ^e
ácido clorogénico	59 ^f
ácido cafeico	75 ^g
ácido ferúlico	81 ^h
FHIA-21 m1	40 ^f
FHIA-21 m2	57 ^{e f g h}
FHIA-21 m3	64 ^{e f g h}
resorcinol	82 ^e
ácido clorogénico	63 ^f
ácido cafeico	76 ^g
ácido ferúlico	79 ^h
Plátano Macho m1	54 ^{e f g h}
Plátano Macho m2	63 ^{e f g h}
Plátano Macho m3	74 ^{e f g h}
Plátano Macho m4	82 ^{e f g h}
resorcinol	98 ^e
ácido clorogénico	75 ^f
ácido cafeico	92 ^g
ácido ferúlico	98 ^h
Yangambi Km5 m1	49 ^{e f g h}
Yangambi Km5 m2	57 ^{e f g h}
Yangambi Km5 m3	67 ^{e f g h}
Yangambi Km5 m4	74 ^{e f g h}
resorcinol	89 ^e
ácido clorogénico	67 ^f
ácido cafeico	87 ^g
ácido ferúlico	92 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 13. Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 120 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	38 ^{efgh***}
FHIA-20 m2	46 ^{efgh}
FHIA-20 m3	52 ^{efgh}
resorcinol	81 ^e
ácido clorogénico	59 ^f
ácido cafeico	71 ^g
ácido ferúlico	76 ^h
FHIA-21 m1	27 ^{gh}
FHIA-21 m2	37 ^{efgh}
FHIA-21 m3	45 ^{efgh}
FHIA-21 m4	56 ^{efgh}
resorcinol	75 ^e
ácido clorogénico	51 ^f
ácido cafeico	75 ^g
ácido ferúlico	80 ^h
Plátano Macho m1	79 ^{ef}
resorcinol	96 ^e
ácido clorogénico	79 ^f
ácido cafeico	93 ^g
ácido ferúlico	99 ^h
Yangambi Km5 m1	40 ^{efgh}
Yangambi Km5 m2	55 ^{efgh}
Yangambi Km5 m3	62 ^{efgh}
Yangambi Km5 m4	69 ^{efgh}
Yangambi Km5 m5	80 ^{efgh}
resorcinol	97 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	91 ^g
ácido ferúlico	96 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 14. Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 192 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	51
FHIA-20 m2	58 ^{f***}
FHIA-20 m3	67 ^{f g}
FHIA-20 m4	75 ^{f g h}
resorcinol	92 ^e
ácido clorogénico	70 ^f
ácido cafeico	86 ^g
ácido ferúlico	91 ^h
FHIA-21 m1	49
FHIA-21 m2	58 ^f
FHIA-21 m3	65 ^{f g}
resorcinol	93 ^e
ácido clorogénico	72 ^f
ácido cafeico	85 ^g
ácido ferúlico	92 ^h
Plátano Macho m1	50
Plátano Macho m2	64 ^{f g}
Plátano Macho m3	74 ^{f g h}
resorcinol	93 ^e
ácido clorogénico	77 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	87 ^h
Yangambi Km5 m1	38
Yangambi Km5 m2	54
Yangambi Km5 m3	64 ^{f g}
Yangambi Km5 m4	71 ^{f g h}
Yangambi Km5 m5	82 ^{e f g h}
resorcinol	98 ^e
ácido clorogénico	76 ^f
ácido cafeico	95 ^g
ácido ferúlico	98 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 15. Valores de R_F del segundo muestreo en campo a las 240 horas de exposición al inóculo natural, se utilizó como estándar el resorcinol, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1*	52
FHIA-20 m2	60
FHIA-20 m3	67 ^{f g ***}
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	71 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	87 ^h
FHIA-21 m1	51
FHIA-21 m2	68 ^{f g}
FHIA-21 m3	76 ^{f g}
resorcinol	93 ^e
ácido clorogénico	73 ^f
ácido cafeico	92 ^g
ácido ferúlico	93 ^h
Plátano Macho m1	48
Plátano Macho m2	56
Plátano Macho m3	63 ^f
Plátano Macho m4	71 ^{f g}
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	72 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	89 ^h
Yangambi Km5 m1	49
Yangambi Km5 m2	54
Yangambi Km5 m3	59
Yangambi Km5 m4	64 ^{f g}
Yangambi Km5 m5	69 ^{f g}
Yangambi Km5 m6	75 ^{f g}
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	69 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	91 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 16. Valores de R_F del muestreo en invernadero momentos antes de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	54
FHIA-20 m2	65 ^{e f ***}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	89 ^h
FHIA-21 m1	57
FHIA-21 m2	67 ^{e f}
FHIA-21 m3	74 ^{e f g}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	95 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	88 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	92 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	87 ^g
ácido ferúlico	93 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 17. Valores de R_F del muestreo en invernadero momentos antes de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho m1 *	67 ^{e f ***}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	90 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	65 ^f
ácido cafeico	82 ^g
ácido ferúlico	88 ^h
Yangambi Km5 m1	42
Yangambi Km5 m2	48
Yangambi Km5 m3	55
Yangambi Km5 m4	62 ^{e f}
Yangambi Km5 m5	69 ^{e f}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	79 ^e
ácido clorogénico	69 ^f
ácido cafeico	86 ^g
ácido ferúlico	90 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol, Ácido acético y Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 18. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 0 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	68 ^{fgh***}
FHIA-20 m2	75 ^{ac fgh}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	91 ^d
resorcinol	92 ^e
ácido clorogénico	71 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	88 ^h
FHIA-21 m1	68 ^{fgh}
FHIA-21 m2	75 ^{ac fgh}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	87 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	94 ^e
ácido clorogénico	71 ^f
ácido cafeico	88 ^g
ácido ferúlico	93 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 19. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 0 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho m1 *	67 ^{f g ***}
Plátano Macho m2	75 ^{a e f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	95 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	97 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	90 ^c
ácido gentísico	92 ^d
resorcinol	85 ^e
ácido clorogénico	63 ^f
ácido cafeico	78 ^g
ácido ferúlico	83 ^h
Yangambi Km5 m1	43
Yangambi Km5 m2	53 ^f
Yangambi Km5 m3	62 ^f
Yangambi Km5 m4	71 ^{e f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	91 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	87 ^c
ácido gentísico	92 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	89 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 20. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 48 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	58 ^{f***}
FHIA-20 m2	67 ^{e f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	90 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	65 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	89 ^h
FHIA-21 m1	68 ^{e f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	87 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	82 ^c
ácido gentísico	87 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	90 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 21. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 48 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho no presento manchas fluorescentes	
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	89
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	92
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	85
ácido gentísico	91
resorcinol	90
ácido clorogénico	65
ácido cafeico	83
ácido ferúlico	89
Yangambi Km5 m1	47 ^{f***}
Yangambi Km5 m2	57 ^f
Yangambi Km5 m3	67 ^{e f g h}
Yangambi Km5 m4	77 ^{a c e f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	97 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	95 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	80 ^c
ácido gentísico	87 ^d
resorcinol	83 ^e
ácido clorogénico	59 ^f
ácido cafeico	76 ^g
ácido ferúlico	80 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 22. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 120 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	67 ^{f***}
FHIA-20 m2	74 ^f
FHIA-20 m3	83 ^{a c f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	91 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	72 ^f
ácido cafeico	87 ^g
ácido ferúlico	93 ^h
FHIA-21 m1	57 ^f
FHIA-21 m2	66 ^f
FHIA-21 m3	74 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	91 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	87 ^c
ácido gentísico	91 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	65 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	90 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 23. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 120 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho m1 *	57 ^{f***}
Plátano Macho m2	67 ^f
Plátano Macho m3	73 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	89 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	91 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	70 ^f
ácido cafeico	86 ^g
ácido ferúlico	89 ^h
Yangambi Km5 m1	41
Yangambi Km5 m2	48
Yangambi Km5 m3	56 ^f
Yangambi Km5 m4	62 ^f
Yangambi Km5 m5	66 ^f
Yangambi Km5 m6	72 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	87 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	92 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	69 ^f
ácido cafeico	85 ^g
ácido ferúlico	89 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 24. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 192 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	36
FHIA-20 m2	49
FHIA-20 m3	58 ^{f***}
FHIA-20 m4	65 ^{f g}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	91 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	95 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	91 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	65 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	87 ^h
FHIA-21 m1	32
FHIA-21 m2	40
FHIA-21 m3	45
FHIA-21 m4	54
FHIA-21 m5	64 ^f
FHIA-21 m6	72 ^{a f g}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	85 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	91 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	84 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	62 ^f
ácido cafeico	82 ^g
ácido ferúlico	88 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 25. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 192 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho m1 *	54
Plátano Macho m2	64 ^{f***}
Plátano Macho m3	74 ^{a c f g h}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	90 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	94 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	90 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	65 ^f
ácido cafeico	84 ^g
ácido ferúlico	90 ^h
Yangambi Km5 m1	37
Yangambi Km5 m2	44
Yangambi Km5 m3	54
Yangambi Km5 m4	68 ^{f g}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	95 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	99 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	90 ^c
ácido gentísico	96 ^d
resorcinol	97 ^e
ácido clorogénico	67 ^f
ácido cafeico	91 ^g
ácido ferúlico	95 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 26. Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 240 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
FHIA-20 m1 *	54
FHIA-20 m2	66 ^{f***}
FHIA-20 m3	74 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	91 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	85 ^c
ácido gentísico	90 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	83 ^g
ácido ferúlico	88 ^h
FHIA-21 m1	31
FHIA-21 m2	40
FHIA-21 m3	51
FHIA-21 m4	58
FHIA-21 m5	66 ^f
FHIA-21 m6	74 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	93 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	96 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	88 ^c
ácido gentísico	93 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	85 ^g
ácido ferúlico	89 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

Cuadro 27 Valores de R_F del muestreo en invernadero a las 240 horas de exposición al inóculo artificial, se utilizó como estándares el ácido 2-3, 2-4, 3-4 dihidroxibenzoico; ácido gentísico; resorcinol; ácido clorogénico; ácido cafeico y ácido ferúlico.

Muestras y estándares	R_F (x 100) BAW **
Plátano Macho m1 *	35
Plátano Macho m2	45
Plátano Macho m3	56
Plátano Macho m4	65 ^{f***}
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	91 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	93 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	90 ^e
ácido clorogénico	66 ^f
ácido cafeico	82 ^g
ácido ferúlico	86 ^h
Yangambi Km5 m1	38
Yangambi Km5 m2	47
Yangambi Km5 m3	56
Yangambi Km5 m4	70 ^f
ácido 2-3 dihidroxibenzoico	88 ^a
ácido 2-4 dihidroxibenzoico	89 ^b
ácido 3-4 dihidroxibenzoico	86 ^c
ácido gentísico	89 ^d
resorcinol	91 ^e
ácido clorogénico	68 ^f
ácido cafeico	86 ^g
ácido ferúlico	91 ^h

* Número de manchas en cada muestra, partiendo del punto de aplicación hacia el frente del disolvente.

** Disolvente utilizado para la separación de fenoles (por sus siglas en inglés): Butanol-Ácido acético-Agua (4:1:5).

*** Letras presentes en el R_F de las manchas corresponden a la presencia de los estándares en la muestra.

TESIS URGENTES

Pedro Ahumada

TRATO DIRECTO

Rep. de Cuba No. 99 Desp. 23-A
Centro Historico Tel. 512-84-69

