

## Resumen

El marchitamiento por *Fusarium* ha sido considerado como una de las enfermedades más destructivas del banano a nivel mundial, debido a su rápida capacidad de infección y al ser difícil de controlar. Hasta el momento se ha observado la presencia de cuatro razas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, de las cuáles solo tres atacan al banano. La raza 1, la raza 2 y actualmente la raza 4 tropical (R4T) que es considerada como el principal problema patológico que enfrenta el cultivo de banano del subgrupo "Cavendish". La presencia de R4T no implica solamente un problema para los países productores de banano también implica un colapso en la seguridad alimentaria. Por lo tanto, se ha visto necesaria la implementación de métodos de diagnósticos que sean rápidos y que su nivel de eficiencia sea alto. Siendo el objetivo de este trabajo estandarizar los métodos de diagnóstico de fusariosis causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*-Raza 4 Tropical (*Foc* R4T) en plantas de banano. A partir del análisis de los protocolos presentados en el Acuerdo Ministerial N° 142 de Agrocalidad, donde se utilizan los primers de Dita et al., 2010 para la PCR punto final y los primers de Aguayo et al., 2017 para la PCR cuantitativa, para esto se plantearon dos ensayos que tuvieron como objetivo determinar la eficiencia de las pruebas moleculares a diferentes concentraciones de ADN y determinar la especificidad de los cebadores para el diagnóstico de *Fusarium*, realizando diferentes diluciones del ADN fúngico, y la dilución del ADN del hongo con el ADN de muestras de banano que se obtuvieron del laboratorio de IDgen. A partir de los resultados obtenidos de la PCR punto final se fijó una nueva programación de amplificación que ayudó a disminuir el tiempo final. Para la interpretación de resultados de la qPCR se determinó el valor de la eficiencia de la prueba para el primer y segundo ensayo dándonos del 100% y un valor mayor al 100% respectivamente, lo que nos indica que existe contaminación, o la muestra de ADN es de baja calidad por lo que se recomienda realizar nuevamente el ensayo.

*Palabras clave:* *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 4 tropical, PCR punto final, qPCR, ADN fúngico

## Abstract

Fusarium wilt has been considered one of the most destructive banana diseases worldwide, due to its rapid infection capacity and being difficult to control. So far, the presence of four breeds of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* has been observed, of which only three attack the banana. The race 1, the race 2 and currently the tropical race 4 (R4T) which is considered as the main pathological problem facing the banana cultivation of the “Cavendish” subgroup. The presence of R4T does not only imply a problem for banana producing countries, it also implies a collapse in food security. Therefore, it has been necessary to implement diagnostic methods that are fast and that their level of efficiency is high. Being the objective of this work to standardize the diagnostic methods of fusariosis caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*-Tropical Race 4 (Foc R4T) in banana plants. Based on the analysis of the protocols presented in the Ministerial Agreement N° 142 on Agrocalidad, where the primers of Dita et al., 2010 for the endpoint PCR and primers by Aguayo et al., 2017 for quantitative PCR, for this two assays were proposed that aimed to determine the efficiency of molecular tests at different DNA concentrations and determine the specificity of primers for the diagnosis of Fusarium, performing different dilutions of fungal DNA, and the dilution of the DNA of the fungus with the DNA of banana samples that were obtained from the IDgen laboratory. Based on the results obtained from the endpoint PCR, a new amplification schedule was set that helped to decrease the final time. For the interpretation of the qPCR results, the value of the efficiency of the test was determined for the first and second tests, giving us 100% and a value greater than 100% respectively, which indicates that there is contamination, or the DNA sample is of low quality, so it is recommended to perform the test again.

*Keywords: Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4, PCR endpoint, qPCR, fungic

DNA