

VARIABILIDAD DE *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS* MORELET. ESTABILIDAD DE LA RESISTENCIA A SIGATOKA NEGRA DE LOS CLONES HÍBRIDOS DE LA FHIA

Michel Pérez Miranda,¹ Luis Pérez Vicente,¹ Roberto Trujillo² y Dulce M. Betancourt³

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, lperezvicente@hotmail.com

² LAPROSAV. Carretera Central, Extremo Oeste, Ciego de Ávila, Cuba

³ ETTP Baracoa. Delegación de la Agricultura del municipio de Baracoa, Guantánamo, Cuba

RESUMEN

La sigatoka negra (SN) causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (Mf) es la enfermedad más importante de los bananos y plátanos. En Cuba hay más de 12 000 ha sembradas de clones con resistencia parcial, por lo que la presión de selección de patotipos con mayor agresividad puede considerarse elevada. Se evaluó la severidad del ataque, la velocidad de evolución de la enfermedad, así como la formación de fructificaciones en las manchas de parcelas de clones susceptibles y con resistencia parcial en dos localidades de la provincia de La Habana, en la empresa La Cuba, en la provincia de Ciego de Ávila, y en Baracoa, en la provincia de Guantánamo. Paralelamente se inocularon, en condiciones controladas de laboratorio, fragmentos de hojas colocados en agar con benzimidazol en placas de Petri plásticas, con suspensiones de conidios provenientes de aislamientos obtenidos de poblaciones de Mf salvajes y de clones con resistencia parcial, en los que se evaluó diariamente la cantidad de lesiones y la velocidad de evolución de los síntomas. Los clones de la FHIA en las dos localidades de La Habana y en Baracoa mostraron una resistencia elevada a la enfermedad, mientras que los niveles de ataques y la producción de pseudotecios en plantas de FHIA 18 de La Cuba, en Ciego de Ávila, fue similar a la de los clones susceptibles, y mucho más intensa que la observada en 1994-1995, cuando los clones con resistencia parcial se introdujeron por primera vez en Cuba. Las inoculaciones sobre fragmentos de hojas del clon FHIA 18 y de Gran enano con aislados salvajes demostraron la mayor agresividad de los últimos sobre el clon FHIA 18. Este constituye el primer informe de cambios de la agresividad de las poblaciones del patógeno o de erosión de la resistencia parcial a sigatoka negra del clon FHIA 18.

Palabras clave: variabilidad patogénica, sigatoka negra, *Mycosphaerella fijiensis*, test monocíclico

ABSTRACT

Black Sigatoka (BS) caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (Mf) is the most important disease of banana and plantains. In Cuba exist more than 12 thousand planted of FHIA hybrids with partial resistance and hence, the pressure of selection of pathotypes with an increased aggressiveness could be considered to be high. Experimental plots with susceptible and partially resistant cultivars in Alquizar and Güira de Melena in Havana province, La Cuba in Ciego de Avila, and Baracoa in Guantánamo were established where disease severity and the fructifications development in the spots were assessed. A laboratory experiment under controlled conditions using leaf fragments of Grand Nain and FHIA 18 placed on agar + benzimidazole in plastic Petri plates and inoculated with conidial suspensions belonging to single ascospore isolates from wild Mf populations and partial resistant cultivars showing strongly BS attack were carried out where the amount of lesions and the speed of evolution of symptoms were daily assessed. FHIA cultivars in the two localities of Havana and in Baracoa showed a high resistant reaction to the disease meanwhile the level of attack and the pseudothecia production in Ciego de Avila was similar to Cavendish cultivars, and more severe than the observed in 1994/95, when the cultivars these cultivars were introduced in Cuba for first time. Conidial inoculations on Grand Nain and FHIA 18 leaf fragments with isolates from the strongly attacked FHIA 18 plants from Ciego de Avila and from Cavendish cultivars (wild type) showed the higher aggressiveness of the former. This is considered the first report of a change of aggressiveness of Mf populations or the erosion of the partial resistance to BS in the FHIA 18 cultivar.

Key words: black sigatoka, pathogenic variability, *Mycosphaerella fijiensis*, monocyclic test

INTRODUCCIÓN

La aparición de la sigatoka negra en Cuba, causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet a finales de 1990 [Vidal, 1992], tuvo un impacto marcado en los costos de producción, pero especialmente en la estructura clonal de la superficie del país plantada de musáceas

[Pérez *et al.*, 2002]. Los bananos Cavendish (AAA) fueron sustituidos por los clones FHIA 23 (AAAA) y FHIA 18 (AAAB), que junto al FHIA 3 (AABB) ocupan alrededor de 12 000 ha. Asimismo, en la actualidad solo se mantiene el 18% de las más de 43 000 ha de

plátanos (AAB) existentes en 1990. Los plátanos se han sustituido por el cultivo a gran escala del clon Burro CEMSA (ABB), que ocupa unas 63 000 ha, y por el FHIA 3 (AABB).

El uso de variedades resistentes es, sin duda, la estrategia más económica y ambientalmente sostenible de lucha contra sigatoka negra. Se han realizado numerosos estudios sobre la reacción de los clones de bananos y plátanos a *M. fijiensis* [Meredith y Lawrence, 1970; Firman, 1972; Fouré *et al.*, 1984; Fouré *et al.*, 1990; Fouré, 1994; Hernández y Pérez, 2001; Rowe, 1998].

Fouré (1994) describió tres tipos de reacciones en *Musa* frente a sigatoka negra: a) la reacción de resistencia muy alta o hipersensibilidad observada en Yangambi Km 5 (subgrupo Ibota, AAA); b) la resistencia parcial, que se expresa por un alargamiento del ciclo y la disminución de la reproducción del patógeno; c) la reacción compatible o de sensibilidad observada en los clones Cavendish y plátanos (AAB).

En 1996 Hernández y Pérez [citados por Pérez, 1998] determinaron la reacción y componentes de la resistencia a sigatoka negra de los clones FHIA 23, FHIA 2, FHIA 3, FHIA 18, SH 3436 y de un grupo importante de clones del banco de germoplasma de Cuba, entre los que se encontraban diferentes clones pertenecientes al subgrupo Cavendish, plátanos (AAB), el Yangambi Km 5, el Paka y el Burro CEMSA (ABB), mantenidos sin tratamientos con fungicidas durante todo el tiempo que duraron las observaciones. Los clones FHIA mostraron un alargamiento estadísticamente significativo de la duración en días entre la emergencia de las hojas y la aparición de los primeros síntomas, en relación con el clon Gran enano susceptible. La resistencia parcial de estos clones se expresa mediante el alargamiento de la evolución o transición de los síntomas de rayas a necrosis y en la reducción del número de pseudotecios/mancha [Pérez, 1998]. En el Yangambi Km 5 las aloinfecciones a partir de inóculo producido en parcelas vecinas determinaron la aparición de numerosas manchas y defoliaciones, pero no la formación de espermogonios y pseudotecios.

Fullerton y Olsen (1995) informaron de la presencia en Nueva Guinea y las Islas del Pacífico de poblaciones de *M. fijiensis* virulentas sobre los clones *Musa acuminata burmannica* Calcutta 4, (T8), Paka y Yangambi Km 5. Melioum (1999) informó del cambio de reacción en el clon Yangambi Km 5 a las infecciones de sigatoka negra en Camerún 10 años después de los informes de Fouré *et al.* (1990).

La aparición de nuevos genotipos virulentos de patógenos capaces de vencer la resistencia de variedades resistentes es un fenómeno de presión de selección, determinado en gran medida por condiciones ambientales y de manejo del cultivo favorables a la reproducción del patógeno y por la extensión ocupada por los genotipos resistentes, o más directamente por la superficie ocupada por los genes de resistencia desplegados en la población [Van der Plank, 1963, 1968].

En Cuba más de 12 000 ha de superficie de banano y plátanos están cultivadas de híbridos FHIA [Pérez *et al.*, 2002]. Estos clones crecen en una gran diversidad de condiciones, y en la mayoría de los casos cerca de plantaciones de bananos y plátanos susceptibles con ataques severos de sigatoka negra, por lo que están expuestos a una carga severa de inóculo durante la época lluviosa. La presión de selección de patotipos con mayor agresividad capaces de producir infecciones severas sobre estos clones es por tanto elevada. Con estos antecedentes se desarrolló una investigación con los siguientes objetivos:

- Conocer la estabilidad de la resistencia de los clones híbridos de la FHIA y diferentes clones de referencia de reacción conocida, en un estudio de tres años con diseños experimentales de bloques colocados en diferentes condiciones ecológicas de Cuba.
- Comparar la virulencia *in vitro* de diferentes aislamientos de *M. fijiensis* bajo condiciones estandarizadas de incubación.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Medición de la virulencia/patogenicidad en campo de las poblaciones de *M. fijiensis* en un grupo de clones diferenciales e híbridos en diferentes localidades del país. Epidemiología de sigatoka negra a nivel policíclico

En mayo del 2001 se seleccionaron parcelas de más de 5 ha de los clones FHIA 2, FHIA 3, FHIA 18, FHIA 23 y Gran enano en la finca Pulido, en Alquizar, La Habana; también de los clones FHIA 2, FHIA 3, FHIA 18, FHIA 21, FHIA 23 y Gran enano en la empresa La Cuba, en Ciego de Ávila, en el occidente y centro del país respectivamente, ambas localidades con pluviometría anual promedio entre 1 100 y 1 300 mm de lluvia; además parcelas de 50 plantas en Baracoa, provincia de Guantánamo, en las localidades de San Luis con los clones FHIA 18 y Robusta, y en la de Mosquitero con los clones FHIA 2, FHIA 3, FHIA 18, FHIA 19, FHIA 20, FHIA 21, FHIA 23 y Robusta (subgrupo

Cavendish, AAA). Esta región presenta una pluvio-metría de más de 1 700 mm de lluvia anuales.

Debido a que el huracán Michel destruyó totalmente la plantación de Alquizar, se estableció inmediatamente otra en la Empresa de Cultivos Varios (ECV) de la localidad de Güira de Melena, en la misma provincia de La Habana, con los clones FHIA 1, FHIA 2, FHIA 18, FHIA 20, FHIA 21, Yangambi Km 5 y Gran enano, donde se mantuvieron las observaciones hasta junio del 2003.

Evaluación del desarrollo de la enfermedad. Se evaluó la severidad de los ataques en las diferentes parcelas por mediciones del área foliar afectada total, la hoja más joven manchada [Stover y Dickson, 1970]; hoja más

joven abierta promedio con 10 o más lesiones en estado 5 y 6 de la descripción de Fouré (1982)], así como del número de pseudotecios por mancha en 200 manchas tomadas al azar en cada parcela. Para garantizar la uniformidad de las evaluaciones se imprimieron las escalas gráficas del desarrollo de la enfermedad y se procedió a uniformar los criterios de evaluación.

Con el objetivo de detectar diferencias en el comportamiento de los clones, en relación con cambios de patogenicidad en las poblaciones de *M. fijiensis* o de la estabilidad de la resistencia, la escala de Stover (1971), transformada por Gauhl (1990), fue modificada a su vez de la siguiente forma:

Valor	Características
0	Sana (libre de síntomas o rayas en estado 1 a 3)
1	Hasta el 1% de área necrosada (o hasta 10 manchas en estado 4 al 6 de la descripción de la evolución de los síntomas de Fouré <i>et al.</i> (1984)
2	Hasta el 5% del área foliar necrosada
3	De 6 a 16% del área foliar necrosada
4	De 16 a 33% del área foliar necrosada
5	De 33 a 50 % de área foliar necrosada
6	Más del 50% del área foliar necrosada

Los datos obtenidos se utilizaron en el cálculo del porcentaje de hojas sanas y el índice de infección II –valor medio ponderado del área foliar afectada o índice de McKinney [McKinney, 1923, citado también por Townsend y Heuberguer según Unterstenhöefer (1963):

$$II = (\sum an/6N) \times 100$$

donde:

a: Grado de la escala

n: Número de hojas en cada grado de la escala

N: Total de hojas evaluadas

Se determinó además la velocidad de evolución (suma bruta (SBEE) de la enfermedad en las diferentes parcelas de acuerdo con el procedimiento descrito por Fouré (1988).

Determinación de la producción de fructificaciones. Se muestrearon en los días 28 de febrero (estación seca y fría) y 14 de septiembre de 2003 (estación caliente y lluviosa), 200 manchas en estado 6 de hojas de los clones FHIA 18 y Gran enano, previamente marcadas en el momento de su emergencia, para realizar conteos de la cantidad de fructificaciones presentes en las localidades de Güira de Melena en La Habana, y La Cuba, en Ciego de Ávila. Las manchas se colocaron en un *beaker*

con lactofenol, que a su vez se puso en un baño con agua hirviendo durante 3-5 min para aclararlas; se observaron al microscopio óptico y se contó el número de pseudotecios, espermogonios y conidióforos de *M. fijiensis*.

2. Comparación de la agresividad de diferentes aislamientos de *M. fijiensis*. *Epidemiología de la sigatoka negra a nivel monocíclico en condiciones controladas*

Se obtuvieron aislamientos monoascóspóricos de plantaciones afectadas de FHIA 18 de La Cuba y de bananos susceptibles Cavendish (AAA), de zonas donde nunca se habían introducidos clones con resistencia parcial en la zona del Cerro en la Ciudad de La Habana, que se mantuvieron en PDA a 27°C y colocados durante 48 h a 16°C para inducir la formación de conidios.

Para poner en evidencia diferencias de agresividad entre aislados provenientes de fincas plantadas de FHIA 18 (AAAB) con fuertes afectaciones de sigatoka negra con los obtenidos de zonas donde no existen clones con resistencia parcial bajo condiciones controladas (a partir del hecho que la resistencia parcial es expresada cuantitativamente y que el ambiente tiene una influencia marcada sobre el desarrollo de la enfermedad), se

condujo un ensayo monocíclico en fragmentos de hojas de FHIA 18 y Gran enano bajo condiciones controladas en laboratorio, de acuerdo con el procedimiento descrito por Pérez *et al.* (en prensa), para lo cual se fijaron plantas de los clones Gran enano y FHIA 18 en macetas en un aislador. Se colectaron fragmentos de la primera hoja completamente expandida de 3,5 x 3,5 cm, se lavaron con agua destilada estéril y colocaron en una placa de Petri con agar agua + 40 µg/mL de benzimidazol, con el haz de la hoja en contacto con el agar. Para evitar que los extremos del fragmento de hoja se levantaran, se colocó sobre este una lámina transparente plástica estéril del mismo tamaño del fragmento, que en su centro se le había eliminado un cuadrado de 3 x 3 cm de forma que ese sector de la hoja quedara expuesto para poder realizar las inoculaciones.

La superficie de los fragmentos se inoculó con 50 µL de suspensiones conidiales de los aislamientos de *M. fijiensis* CAF18-1, obtenido de plantas afectadas de FHIA 18 de La Cuba, y el aislado Cm-1, tomado de una parcela de Gran enano, en el municipio de Cerro en Ciudad de La Habana, donde nunca se habían plantados clones con resistencia parcial. Se inocularon concentraciones de conidios —procedentes de cultivos de 14 días de edad— de 40 conid/cm² de hoja en 10 fragmentos de hojas tomadas de los clones Gran enano y FHIA 18. Las placas se sellaron con parafilm y se incubaron en un cuarto climatizado

(25-27°C) bajo dos tubos de luz fluorescente colocados a 40 cm sobre ellos. Se contó diariamente el número de lesiones de cada estadio de evolución que aparecieron. Se comparó el número de lesiones en el fragmento inoculado de cada clon y se midió además la duración en días de la evolución de los síntomas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Medición de la virulencia/patogenicidad en campo de las poblaciones de *M. fijiensis* en un grupo de clones diferenciales e híbridos en diferentes localidades del país. Epidemiología de sigatoka negra a nivel policíclico

Parcelas de La Habana. En la Fig. 1 aparecen los datos de las observaciones realizadas hasta finales de octubre del 2001 en la parcela establecida en la finca Pulido, en Alquízar. A excepción del FHIA 23, los clones híbridos de la FHIA mostraron una buena resistencia parcial a la sigatoka negra al compararlos con el clon Gran enano susceptible a la enfermedad. Los niveles más altos de resistencia se encontraron con el FHIA 2 y FHIA 18, mientras que el FHIA 23 mostró susceptibilidad a la enfermedad y un nivel de afectación foliar ligeramente inferior al de los Cavendish. Estos resultados concuerdan con las observaciones realizadas inicialmente en fincas de la empresa La Cuba, en Ciego de Ávila, cuando se estudiaron estos clones en los primeros experimentos de campo en 1995-1996 [Hernández y Pérez, 2001].

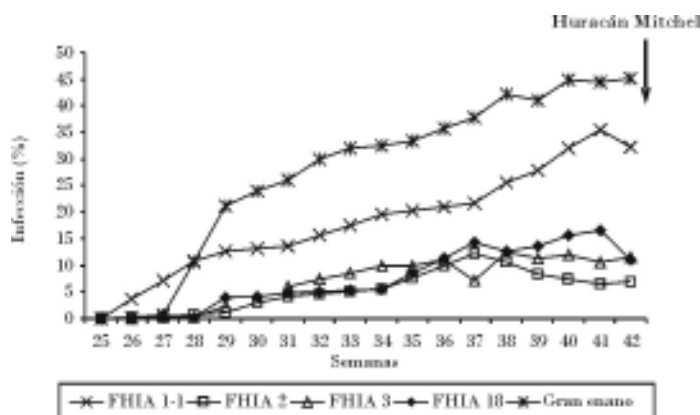


Figura 1. Comportamiento de la enfermedad en las parcelas de la finca Pulido, en Alquízar, en el 2001.

En los primeros días de noviembre del 2001 el huracán Mitchel destruyó completamente el experimento en la finca Pulido, en Alquízar. Se establecieron de nuevo las parcelas en un jardín clonal de Güira de Melena sobre

los clones FHIA 01, FHIA 02, FHIA 04, FHIA 18, FHIA 19, FHIA 20, FHIA 21, FHIA 22, Yangambi Km 5, FHIA 23 —también conocido en Cuba como FHIA 1-1— y el Gran enano.

Similarmente al caso de Alquízar, los clones FHIA, con excepción de FHIA 04 y FHIA 23, mostraron un elevado nivel de resistencia parcial frente a la sigatoka negra, a pesar de la fuerte presión de inóculo debido a la presencia en el área de clones muy susceptibles altamente infectados (*Fig. 2*). El clon Gran enano (AAA) mostró altos niveles de ataque, lo que determinó que en noviembre la mayoría de las plantas tuvieran tan solo dos hojas funcionales que impidió el desarrollo de la totalidad de los raci-

mos en las plantas florecidas. Los clones FHIA 2, Yangambi Km 5, FHIA 18, FHIA 01 y FHIA 21 exhibieron los mayores niveles de resistencia. En los clones más susceptibles (Gran enano y el FHIA 23) ocurrieron cuatro aumentos marcados de la velocidad de evolución de la enfermedad (*Fig. 3*), mientras en los diferentes clones con resistencia parcial los aumentos de la velocidad de evolución en el mismo período fueron dos (clones FHIA 19 y FHIA 21) o no ocurrieron.

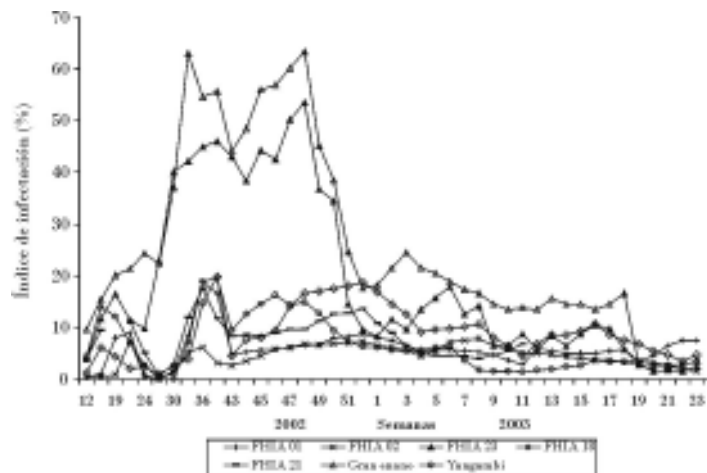


Figura 2. Comportamiento de la enfermedad en Güira de Melena en el 2002-2003.

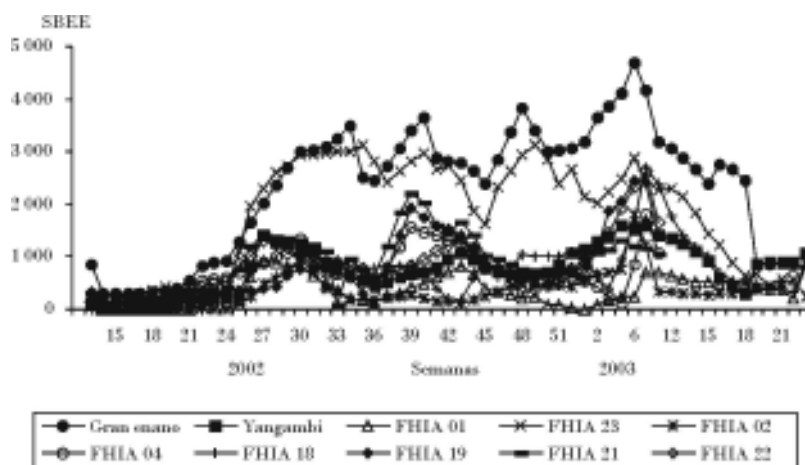


Figura 3. Velocidad de evolución de la enfermedad expresada como SBEE, Güira de Melena, 2002-2003.

El Yangambi Km 5 mostró un número importante de lesiones de hipersensibilidad, pero también desarrollo de parches necróticos en la hojas debido a la concurrencia de un gran número de lesiones por unidad de área a causa de la aloinfección desde parcelas de clones susceptibles. En las manchas decoloradas no se observaron fructificaciones sexuales, lo que indica que no ocurrió cambio en la patogenicidad de *M. fijiensis*. El FHIA 18, similar al ocurrido en Alquizar, a pesar de la fuerte presión de inóculo mostró un adecuado nivel de resistencia parcial con niveles máximos de infección de 20% del área foliar necrótica. El clon FHIA 23 reflejó una susceptibilidad que no le permitió llenar los racimos bajo la presión de inóculo existente. El comportamiento de los clones fue por tanto similar al observado en los estudios iniciales de campo.

Parcelas de Baracoa, Guantánamo. En la Fig. 4 aparecen las curvas de las evaluaciones realizadas en las parcelas de San Luis, Baracoa, hasta noviembre de 2002. La precipitación en Baracoa es la más alta de todo el país, y por tanto las condiciones ambientales son las más favorables al desarrollo de la enfermedad. Los clones híbridos de la FHIA con resistencia parcial a sigatoka negra se introdujeron recientemente en extensiones limitadas en una plantación en los alrededores de la ciudad de Baracoa, por lo que puede considerarse que las poblaciones de *M. fijiensis* existentes desde hace

muy poco tiempo están sometidas a selección para agresividad por el despliegue de genes de resistencia parcial en la población de musáceas de esta región, y puede considerarse, particularmente en San Luis y Mosquitero, que son poblaciones esencialmente salvajes. El clon Robusta presentó una alta intensidad de ataque durante todo el año, en el que solo dispuso de una o dos hojas funcionales hasta la entrada de los meses más secos, cuando el nivel de severidad de la enfermedad decreció. El FHIA 18, por el contrario, mostró niveles fluctuantes de la severidad del ataque todo el tiempo por debajo del 20% de área foliar afectada, lo que se corresponde con las observaciones realizadas en las parcelas de La Habana y en los estudios iniciales llevados a cabo en 1995-1996 en la región de La Cuba, en Ciego de Ávila.

A finales de julio se cosecharon las parcelas y se estableció un segundo ensayo en la misma zona con los clones FHIA 23, FHIA 02, FHIA 03, FHIA 18, FHIA 19, FHIA 20, FHIA 21 y FHIA 22. En la Fig. 5 aparecen los datos del desarrollo de la enfermedad en términos de área foliar afectada en las parcelas de los clones situadas en la zona de Mosquitero, en Baracoa. En ella la mayoría de los clones de la FHIA mostraron índices de infección inferiores al del clon Robusta. A diferencia del resto de las localidades, el clon FHIA 23 no reflejaba una gran severidad del ataque.

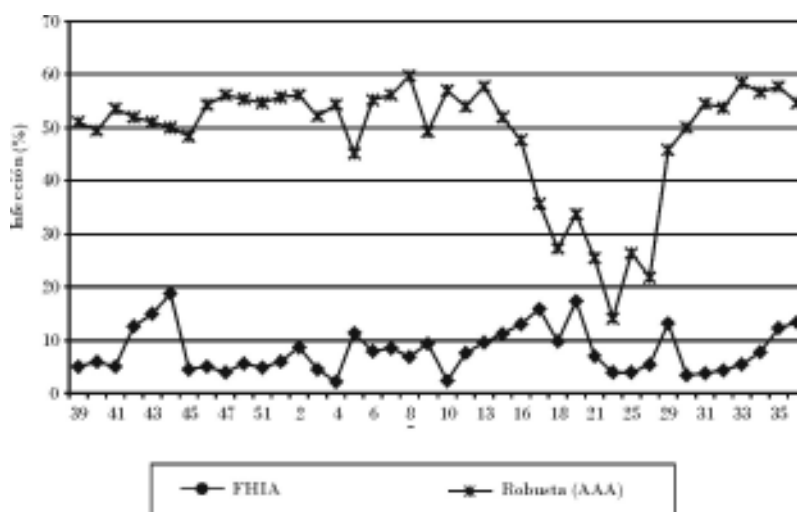


Figura 4. Dinámica de la enfermedad en San Luis, Baracoa, en los clones Robusta (subgrupo Cavendish, AAA) y FHIA 18 (AAAB).

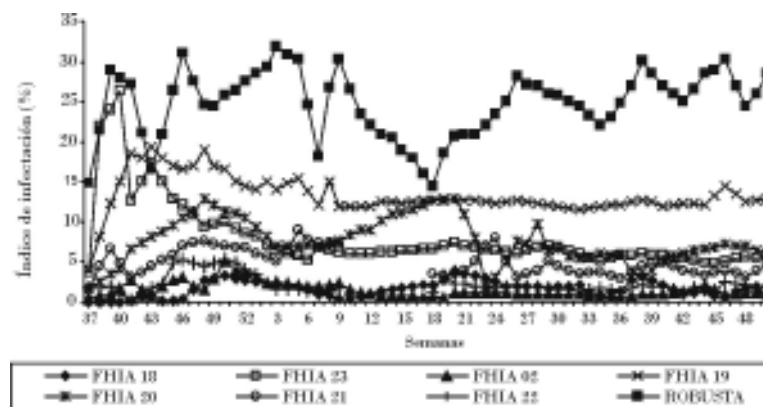


Figura 5. Área foliar afectada por sigatoka negra en diferentes clones en las parcelas situadas en Mosquitero, Baracoa, Guantánamo.

Parcelas de La Cuba en Ciego de Ávila. Las parcelas de los clones FHIA 2, FHIA 3, FHIA 18, FHIA 21 y Gran enano quedaron seriamente afectadas después del paso del ciclón Mitchel. Se restablecieron las observaciones sobre los clones FHIA 18, FHIA 01 y Gran enano —en producción con protección— a partir de febrero, cuando

las plantaciones se uniformaron de nuevo. El desarrollo de la enfermedad durante la primera mitad del 2002 fue muy intenso en las parcelas de FHIA 18 y FHIA 1, y la situación mejoró hacia la segunda mitad del año (Fig. 6). Un ciclo similar, pero algo más extendido, ocurrió en el 2003 con fuertes afectaciones en el FHIA 18.

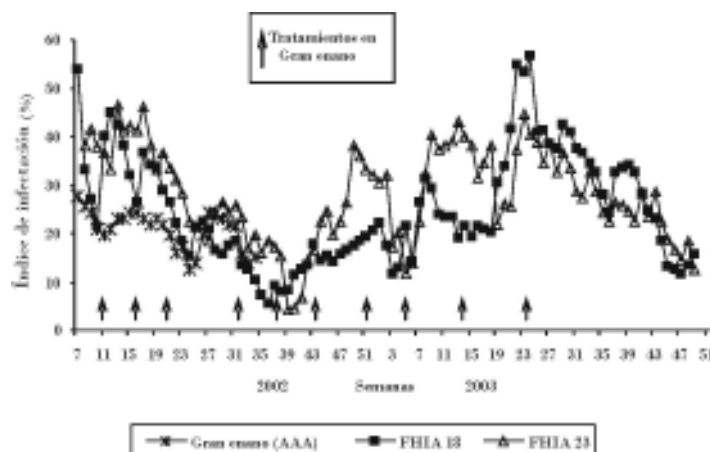


Figura 6. Comportamiento de la sigatoka negra en las parcelas de observación ubicadas en plantaciones de La Cuba, Ciego de Ávila.

En la Fig. 7 aparecen las curvas del desarrollo de la sigatoka negra en el FHIA 18 en las diferentes parcelas que permiten comparar mejor el comportamiento de la enfermedad durante el 2002. Es de hacer notar que las plantas evaluadas en la zona de Baracoa, a pesar de su mayor pluviometría, exhi-

bieron índices notablemente más bajos de la enfermedad que en La Cuba. Lo mismo ocurre si se compara la incidencia de la enfermedad en los clones FHIA 18 y FHIA 23 de La Cuba con los mismos clones de Güira de Melena, de muy alta presión de inóculo (Figs. 2 y 4).

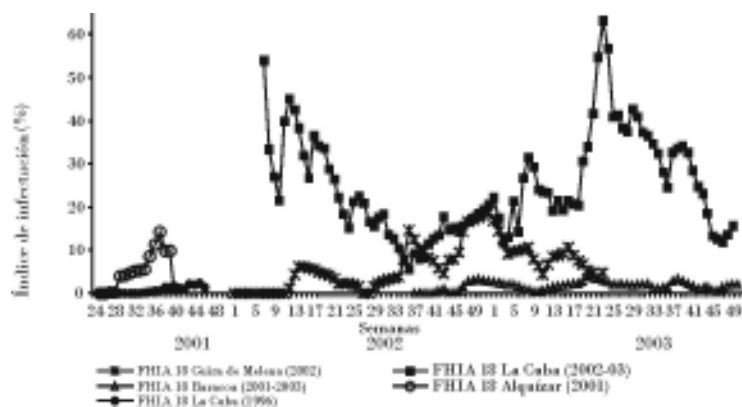


Figura 7. Desarrollo de la sigatoka negra (área foliar afectada) en el clon FHIA 18 en cuatro localidades de Cuba en 1996, 2001 y 2002.

En la *Tabla 1* aparece la comparación de los conteos de fructificaciones en las manchas tomadas de las parce-

las de Güira de Melena, en La Habana, y de la ECV La Cuba.

Tabla 1. Comparación de la producción de fructificaciones en los clones Gran enano y FHIA 18 en La Cuba y en Güira de Melena

Fecha	Localidad	Pseudotecios		Espermogonios		Conidióforos	
		FHIA 18	Gran enano	FHIA 18	Gran enano	FHIA 18	Gran enano
28 de febrero de 2003	Güira de Melena	101,8 a	305,3 b	71,4 a	337,9 b	19,0 a	29,5 ab
	La Cuba	208,5 b	353,0 b	323,8 b	378,7 b	23,1 a	46,6 b
14 de septiembre de 2003	Güira de Melena	33,0 a	303,4 b	46,4 a	426,6 b	25,6 a	23,7 a
	La Cuba	394,8 b	405,5 b	293,6 b	408,4 b	23,3 a	28,0 a

Letras diferentes indican diferencias significativas para $p = 5\%$.

Como puede apreciarse hay una marcada diferencia entre los clones Gran enano y FHIA 18 en relación con la producción de pseudotecios y espermogonios en las manchas maduras de sigatoka negra de las parcelas de Güira de Melena en ambos muestreos. La producción de pseudotecios fue entre 4,5 y 8,3 veces mayor en el Gran enano que en el FHIA 18, y la de espermogonios fue entre 4,1 y 9,1 veces mayor. En las parcelas ubicadas en La Cuba, en cambio, no existen diferencias significativas de producción de cuerpos fructíferos entre ambos clones. Las relaciones entre Gran enano y FHIA 18 para los pseudotecios osciló entre 1,3 y 2,0, y entre 1,2 y 1,3 para los espermogonios, lo que indica que el patógeno en las plantas de FHIA 18 de las parcelas de La Cuba se reprodujo casi con la misma intensidad que en

el Gran enano, lo que sugiere una pérdida de una de las características de la resistencia parcial de este clon frente a las poblaciones de *M. fijiensis* en La Cuba.

Estos resultados demuestran una pérdida de la eficacia de la resistencia parcial en la depresión del desarrollo de la enfermedad y de la reproducción del patógeno en las plantaciones de FHIA 18 en La Cuba.

Comparación de la agresividad de diferentes aislamientos de M. fijiensis. Epidemiología de la sigatoka negra a nivel monocíclico en condiciones controladas

En la *Tabla 2* aparece el resultado de las evaluaciones del ensayo para medir las diferencias de agresividad de los aislados de *M. fijiensis* de diferentes localidades.

Tabla 2. Número de lesiones a los 14 y 20 días en los fragmentos de hojas inoculados con diferentes aislamientos del patógeno

Aislamientos	Número de lesiones	
	A los 14 días	A los 20 días
CAF 18-1/Gran enano	60 c	81c
Cm-1/Gran enano	58 c	71 c
CAF 18-1/FHIA 18	31 b	38 b
Cm-1/FHIA 18	13 a	21 a

Letras diferentes indican diferencias significativas según el test de Neumann-Keuls para $p = 5\%$.

Ambos aislados se comportaron de manera similar en el clon Gran enano muy susceptible, pero mostraron una agresividad diferente sobre los fragmentos de FHIA 18. El aislado CAF 18-1, obtenido de plantaciones de FHIA 18 con fuertes afectaciones de sigatoka negra, presentó una evolución más rápida sobre este clon que el obtenido de Robusta de un área donde no se han plantado clones FHIA. La duración del ensayo no permitió establecer diferencias en relación con la producción de fructificaciones debido al tiempo en que se mantienen viables los fragmentos de hojas. No obstante, estos resultados se corresponden con las evaluaciones de la capacidad reproductiva del patógeno que aparecen en la *Tabla 1*, en el sentido de que la reproducción de los aislados de La Cuba no es inhibida de la forma que ocurría en las evaluaciones originales de estos clones en esa ECV [Pérez, 1998; Hernández y Pérez, 2001], y pone en evidencia cambios en la capacidad patogénica de la población de *M. fijiensis* en La Cuba.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de los estudios de campo demostraron el comportamiento más susceptible frente a sigatoka negra del clon FHIA 18 en La Cuba —donde esta variedad se introdujo en pequeñas parcelas en 1994, cuando la empresa cultivaba esencialmente el clon Gran enano susceptible a la enfermedad—, en relación con el comportamiento evidentemente resistente de este clon en el resto de las localidades del país. Cuando se introdujo este clon en el país —por primera vez en esta empresa— mostró una buena resistencia parcial frente a la enfermedad basada en el alargamiento del ciclo de evolución de la enfermedad y en una reducción drástica de la capacidad de producción de pseudotecios y ascósporas [Pérez, 1998; Hernández y Pérez, 2001]. Las comparaciones de la producción de pseudotecios y espermogonios

en las manchas en hojas del FHIA 18 y en Gran enano en fincas no tratadas de la empresa La Cuba y de Güi-ra de Melena en La Habana permitieron constatar diferencias marcadas entre las dos localidades en relación con la inhibición de la formación de pseudotecios y espermogonios en las manchas, que es parte de la expresión del mecanismo de resistencia parcial de estos clones. Por último, las comparaciones de la velocidad e intensidad del desarrollo de la enfermedad bajo condiciones controladas en laboratorio, donde se limita la influencia ambiental sobre la evolución de la enfermedad, permitieron detectar diferencias de agresividad entre aislados monoascospóricos procedentes de plantas severamente afectadas del clon FHIA 18 de fincas La Cuba y de aislados procedentes de plantas Cavendish de una región donde no existen clones con resistencia parcial, y no ha ocurrido selección para agresividad, por lo que puede considerarse una población salvaje en relación con este carácter.

Los resultados indican por primera vez la selección de poblaciones de *M. fijiensis* con agresividad sobre el clon FHIA 18 con resistencia parcial en esta localidad, posiblemente por presión de selección direccional [Mather, 1953; Wolfe, 1982] debido a la extensión de la superficie cultivada de este genotipo y a las condiciones desfavorables de nutrición que han prevalecido en los últimos años en la mayoría de las áreas de bananos del país. Pérez *et al.* (2002) observaron una relación entre los niveles de potasio y la severidad de sigatoka negra en fincas de Ciego de Ávila. Se ha informado que el potasio tiene una influencia importante sobre el desarrollo de las enfermedades en diferentes cultivos por su función como regulador móvil de la actividad enzimática y su participación en las funciones celulares, como son la fotosíntesis, fosforización, síntesis de proteínas, engrosamiento de las paredes celulares y la acumulación de aminoácidos [Huber, 1980].

Hasta el presente la selección de poblaciones más agresivas de *M. fijiensis* sobre clones con resistencia parcial no se había documentado, y debe tenerse en cuenta en los programas de mejora de musáceas actuales. El patógeno muestra una importante capacidad de variación y adaptabilidad, como lo ha demostrado la selección de poblaciones resistentes a triazoles (de carácter poligénico) en Cuba y otros países [Pérez y Batlle, 1993; Chin *et al.*, 1996; Pérez *et al.*, 2003] y a diferentes genes de resistencia de los clones con resistencia parcial de la FHIA desplegados en la empresa La Cuba.

Estos resultados señalan la necesidad de introducir nuevas fuentes de resistencia a la enfermedad en los programas de mejora convencional y biotecnológica y mejorar las condiciones de nutrición de los clones que permitan potenciar los mecanismos de defensa de los clones en explotación comercial. Deben establecerse estrategias de cultivo que disminuyan la presión de selección direccional, rompan el desarrollo poliético del patógeno y disminuyan el estrés fisiológico para potenciar los mecanismos de defensa de las plantas a la enfermedad. El cultivo anual intensivo puede romper el desarrollo poliético de la enfermedad y disminuir la presión de selección anual. Las áreas bajo cultivo convencional, donde se ha constatado la presencia de poblaciones agresivas, deben someterse a saneamiento intensivo de hojas, mejorar los niveles de nutrición, ir al cultivo anual (siempre que sea posible), y finalmente adoptar tratamientos con fungicidas siempre que las medidas anteriores no garanticen los niveles necesarios de control.

CONCLUSIONES

- Los clones FHIA 2, FHIA 18, FHIA 01, FHIA 21, y FHIA 20 mantienen su resistencia parcial a sigatoka negra en las zonas de Baracoa y La Habana y en la mayoría de las áreas del país. En las parcelas de La Cuba el clon FHIA 18 mostró durante dos años consecutivos afectaciones severas de la enfermedad, muy superiores a las de Baracoa, donde el régimen de lluvias es superior y más distribuido.
- Las comparaciones de la capacidad del patógeno de formar fructificaciones (pseudotecios, espermogonios y conidióforos) en manchas de hojas de FHIA 18 y Gran enano desarrolladas en la misma semana permitió establecer que en las áreas donde el FHIA 18 muestra su resistencia parcial es 75-80% menor que en el clon Gran enano, mientras que en áreas donde está afectado no existen diferencias significativas entre ambos clones, lo que pone en evidencia la pérdida de este carácter.
- Se constató la existencia de diferencias de agresividad entre aislados de *M. fijiensis* de plantas de FHIA 18 de campos severamente afectados por la enfermedad y lo obtenido de plantas Cavendish de zonas libres de clones con resistencia parcial. Las diferencias en campo son sin embargo mayores que las observadas en los ensayos en fragmentos de hojas.

REFERENCIAS

- Chin, K.; T. Arroyo; B. Forster; C. Steden: «Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* to Demethylation Inhibitors in Central America: Testing Methodology and Cross Resistance», Proceedings of the XII Acorbat Meeting, Santo Domingo, 27 de oct.- 2 de nov., 1996, pp. 413-422.
- Firman, I. D.: «Susceptibility of Banana Cultivars to Fungus Diseases in Fiji», *Trop. Agric. Trinidad*, 49:189-196, 1972.
- Fouré, E.: «Les Cercosporiose du bananier et leurs traitement. Comportement des variétés. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie de raies noires). I. Incubation et évolution de la maladie. II. Etude de quelques paramètres», *Fruits* 37 (12):749-754, 1982.
- : «Stratégies de lutte contre le Cercospora noire des bananiers et des plantains provoquée par *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. L'avertissement biologique au Cameroun. Evaluation des possibilités d'amélioration», *Fruits* 43(5):269-274, 1988.
- : «Leaf Spot Diseases of Bananas and Plantain Caused by *Mycosphaerella musicola* and *M. fijiensis*», The Improvement and Testing of *Musa*: A Global Partnership. Proceedings of the First Global Conference of the International *Musa* Testing Program, INIBAP Held at FHIA, Honduras, April 27-30, 1994
- Fouré, E.; M. Grisoni; R. Zurfluh: «Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés. II. Etude de la sensibilité des bananiers et plantains á *Mycosphaerella fijiensis* Morelet et des quelques caractéristiques biologiques de la maladie des raies noires au Gabon», *Fruits* 39:365-378, 1984.
- Fouré, E.; A. Moulioum Pefoura; X. Mourichon: «Etude de la sensibilité variétale des bananiers et des plantains a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Cameroun. Caractérisation de la résistance au champ des bananiers appartenant a divers groupes génétiques», *Fruits* 45:339-345, 1990.
- Gauhl, F.: «Epidemiología y ecología de la sigatoka negra. Traducción de la obra: Untersuchungen zur Epidemiologie und oxologie der Schwanzen Sigatoka krankheit (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) an kochbananen (*Musa* sp.) in Costa Rica», Tesis Doctoral presentada en el Instituto Sistemático-Geobotánico e Instituto de Patología y Protección de Plantas de la Universidad Georg August Gottingen UPEB Ciudad de Panamá, 1990.
- Hernández, A.; L. Pérez: «Reaction of Banana and Plantain Cultivars to Black Sigatoka Caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Epidemiological Components of the Resistance», *Fitosanidad* 5 (3):9-16, 2001.
- Huber, D.: «The Role of Mineral Nutrition in Defense», *Plant Disease* vol. 5, Chapter 21, Academic Press, New York, 1980, pp. 381- 405.
- Mather, K.: «The Genetical Structure of Populations», Symposia of the Society for Experimental Biology, 7, Cambridge University Press, 1953, pp. 66-95.
- McKinney, H. H.: «Influence of Soil Temperature and Moisture on Infection of Wheat Seedlings of *Helminthosporium sativum*», *Journal of Agricultural Research* 26:195-218, 1923.

Variabilidad de *Mycosphaerella*...

- Meredith, D. S.; J. S. Lawrence: «Black Leaf Streak of Bananas (*Mycosphaerella fijiensis*). Susceptibility of Cultivars», *Trop. Agric. Trinidad*. 47:275-287, 1970.
- Mouliom Pefoura, A.: «First Observation of the Breakdown of High Resistance in Yangambi Km 5 (*Musa* sp.) to the Black Leaf Streak Disease in Cameroon», *Plant Disease* 83 (1):78, 1999.
- Pérez, L.: «Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) de bananos y plátanos (*Musa* spp.) en Cuba. Biología, epidemiología y manejo integrado de la enfermedad», Simposium Internacional sobre Sigatoka Negra, Manzanillo, Colima, México, 8-10 de julio de 1998.
- Pérez, L.; J. M. Álvarez; M. Pérez: «Economic Impact and Management of Black Leaf Streak Disease in Cuba», *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases of Bananas: Present Status and Outlook. Proceedings of the International Workshop on *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases, San José, Costa Rica, 2002, pp. 71-83.
- Pérez, L.; A. Batlle: «Monitoring Procedure to Determine Propiconazole Resistance in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet», Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology, Montreal, 1993.
- Pérez, L.; A. Batlle; A. Hernández; R. Trujillo; C. Álvarez; A. Méndez: «Evolución de la sensibilidad a fungicidas de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en banano en Cuba», *Fitosanidad* 7(3):49-54. 2003.
- Pérez, L.; M. Pérez; M. I. Jiménez; M. Jama: «Ensayo en fragmentos de hojas de bananos y plátanos (*Musa* spp.) para el estudio a nivel monocíclico de la evolución de los síntomas de la sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet», *Fitosanidad*, 2006.
- Rowe, P.: «Latest Developments in the FHIA Banana and Plantain Breeding Program: Bred Hybrids Are Now Being Grown Commercially», *Memorias del Seminario Internacional sobre Producción de Plátano, Armenia Quindío, Colombia, 4-8 de mayo de 1998*.
- Stover, R. H.; J. Dickson: «Leaf Spot of Bananas Caused by *Mycosphaerella musicola*. Methods of Measuring Spotting Prevalence and Severity», *Trop. Agric. Trinidad* 47:289-302, 1970.
- Stover, R. H.: «A Proposed International Scale for Estimating Intensity of Banana Leaf Spot (*Mycosphaerella musicola* Leach)», *Trop. Agric. Trinidad* 48:185-196, 1971.
- Unterstenhöfer, G.: *Las bases para los ensayos fitosanitarios de campo*, Pflanzenschutz, Nachrichten, Bayer, 16, 167, 1963.
- Van der Plank, J. E.: *Plant Disease Epidemiology*, Academic Press, New York, 1963, pp.180 y181.
- : *Disease Resistance in Plants*. Academic Press, New York, 1968.
- Vidal, A.: «Sigatoka negra en Cuba. En nuevos focos de plagas y enfermedades», *Boletín Fitosanitario*. FAO 40:(1-2), 1992.
- Wolfe, M. S.: «Dynamics of Pathogens Populations in Relation to Fungicide Resistance», *Fungicide Resistance in Crop Protection*, Ed. Pudoc, Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 1982, pp. 139-148.