

PRESENCIA DE LA SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis*) EN LAS PRINCIPALES ZONAS PLATANERAS DE VENEZUELA

Juan B. Pineda* Adalberto Carrasco* Reinaldo Cardona** y Rafael Cooz***

RESUMEN

El cambur y el plátano (*Musa spp*) en Venezuela son afectados por varios patógenos y desde 1991 se ha mencionado la presencia de la enfermedad Sigatoka Negra causada por *Mycosphaerella fijiensis*. En el año 1994 se realizaron muestreos en plantaciones comerciales de plátano ubicadas al sur del Lago de Maracaibo, estado Zulia, y en el sector Macagua-Jurimiquire, del estado Yaracuy. Se tomaron muestras de hojas enfermas en plantas de 2, 5, 6 y 9 meses de edad, y en cada hoja se seleccionaron 10 puntos de 4 cm² para su observación y procesamiento. En agar conejarina (AC) se desarrollaron colonias de color verde oscuro y conidios subcilíndricos, obclavados, con presencia de hilum basal a nivel de la cicatriz, septados, con base truncada, sobre conidióforos en fascículos, sin tejido estromático, lo cual permitió identificar el hongo como *Paracercospora fijiensis* (Teleomorfo: *Mycosphaerella fijiensis*), siendo un hecho la presencia y establecimiento en Venezuela del patógeno causante de la enfermedad Sigatoka Negra.

Palabras claves: *Paracercospora fijiensis*, *Cordana musae*, *Musa acuminata* x *M. balbisiana*, AAB.

ABSTRACT

Presence of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) in plantain plantations of Venezuela

In Venezuela, banana and plantain (*Musa spp*) are affected by various pathogens, and from 1991 the presence of black sigatoka disease caused by *Mycosphaerella fijiensis* has been mentioned. Leaf plantain samples were collected from commercial plantations located at south of Maracaibo Lake, Zulia state, and Macagua- Jurimiquire, Yaracuy state, in 1994. Samples of diseased leaves were taken from 2, 5, 6 and 9 months old plants, and in each leaf ten target areas of 4cm² were selected to be processed. Dark green colonies grew on rabbit food agar (AC) with the following characteristic, conidia subcylindrical, obclavate, with presence of basal hilum to level of sear, septate, base truncate on conidiophores in fascicles, none stromatic tissue. The characteristics mentioned suggested that the fungus present on the plantain leaves samples was *Paracercospora fijiensis* (Teleomorph: *Mycosphaerella fijiensis*). The results obtained give a clear idea that the black sigatoka disease is present in Venezuela.

Key words: *Paracercospora fijiensis*, *Cordana musae*, *Musa acuminata* x *M. balbisiana* AAB.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela las musáceas son afectadas por diversas enfermedades foliares, entre las que se encuentran la "Sigatoka amarilla" causada por *Mycosphaerella musicola* Leach, que afecta las plantas adultas a partir de la quinta a sexta hoja, siendo favorecida por las altas temperaturas y la alta humedad relativa. "La mancha Cordana" causada por *Cordana musae* (Zimm) Van Hohn, afecta severamente a las plantas de plátano desde su estado joven causando mermas considerables en la producción, y es favorecida por las altas temperaturas y alta humedad relativa.

Existen otras enfermedades menores presentes en las zonas plataneras como son *Veronea musae* y *Helminthosporium* sp. (Díaz Polanco, 1973; Urdaneta, 1991). Desde el año 1991 se ha especulado sobre la presencia de la "Sigatoka negra" causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, considerada la enfermedad más importante que afecta a las musáceas en el mundo; sin embargo no ha sido publicado un reporte en Venezuela donde se compruebe la existencia de dicha enfermedad.

La Sigatoka negra apareció por primera vez en Fiji en el año 1963. El primer estudio detallado sobre la enfermedad y el patógeno causante de

* Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Posgrado de Agronomía. Apdo. 400. Barquisimeto.

** FONAIAP-Portuguesa. Apdo. 102. Acarigua

*** Universidad Sur del Lago. Santa Bárbara de Zulia. Venezuela

ésta fue hecho por Meredith & Lawrence, en 1969. La primera aparición de la Sigatoka negra fuera de Asia ocurrió en Honduras en 1972 y en Zambia en 1973 (Stover, 1978). Entre 1977 y 1980 la Sigatoka negra se diseminó por el sur de México y por toda la América Central. En 1981 aparece en Colombia, en una localidad productora de bananos cerca de Turbo. Hasta esta última fecha, la Sigatoka negra no se había reportado en Ecuador, Venezuela, Brasil e islas del caribe (Stover et al, 1987).

El nombre de *M. fijiensis* var. *difformis* se le asignó al hongo que causa la "Sigatoka negra" por Stover en 1974, siendo validado por Mulder y Stover en 1976, sobre la base del examen de muestras de *Musa* sp. colectadas en la Lima, Honduras. Para separar a *M. fijiensis* var. *fijiensis* y *M. fijiensis* var. *difformis* se usó como criterio el estado anamorfo, debido a que no existen diferencias morfológicas en el estado teleomorfo. La var. *difformis* se caracteriza por la presencia de un estroma que da origen a pocos o densos fascículos de conidióforos, en contraste con la ausencia de estroma para el estado anamorfo de la var. *fijiensis*. El anamorfo de *M. fijiensis* var. *fijiensis* y *M. fijiensis* var. *difformis* previamente referido al género *Cercospora* Fres (Morelet) Mulder & Stover, fue transferido a un nuevo género, *Paracercospora*, por Deighton bajo la combinación de *Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton y *P. fijiensis* var. *difformis* (Mulder & Stover) Deighton. La diagnosis de estos hongos se basa en observaciones microscópicas debido a la semejanza que existe en los síntomas que producen en los tejidos afectados; igual ocurre con sus diferencias morfológicas que son confusas, siendo difícil su diferenciación, por lo que Pons (1987) sinonimia a estos dos hongos conservando el nombre de *M. fijiensis*.

Se tiene la posibilidad de que exista una estrecha relación entre *Paracercospora fijiensis* y *Pseudocercospora musae* (Zimmerm) Deighton debido a que no existen diferencias morfológicas entre los estados teleomorfos de estos hongos (Cook, 1975), y el comportamiento que presentan los cultivares en cuanto a resistencia a ambas enfermedades es similar al agruparlos y clasificarlos (Stover, 1972). Sin embargo, con la técnica de PCR (cadena de reacción de polimerasas) se están realizando estudios sobre la filogenia de las especies del

género *Cercospora* y géneros relacionados (Liu et al, 1991), al igual que en la diagnosis de tejidos afectados por mancha Sigatoka de la hoja, con el fin de determinar de una forma segura el agente causal de la enfermedad, ya que es difícil separar los síntomas producidos por *M. musicola* y *M. fijiensis* (Johanson et al, 1993).

Con la finalidad de identificar los patógenos causantes de ciertas manchas foliares que actualmente afectan al platanero (*Musa acuminata* x *M. balbisiana*, AAB) y comprobar la presencia de la Sigatoka Negra en algunas zonas plataneras del país, en 1994 se realizaron muestreos de hojas en plantaciones comerciales ubicada al sur del lago de Maracaibo, estado Zulia y en el sector Macagua-Jurimiquire municipio Veroes del estado Yaracuy, Venezuela. En este trabajo se muestran los resultados obtenidos de dicha investigación.

MATERIALES Y METODOS

Toma de muestras. Se tomaron muestras de hojas en plantas de plátano de diferentes edades (2, 5, 6, y 9 meses) las cuales presentaban síntomas muy peculiares consistentes en un estriado y posterior necrosamiento de la lámina foliar, que en un periodo corto afecta toda su superficie y causa la muerte de la hoja. En las plantaciones ubicadas al sur del Lago de Maracaibo, las muestras se conformaron de la siguiente manera: en plantas de 2 meses de edad se tomaron las hojas número 1 a la 3, de las plantas de 5 y 6 meses de edad se tomaron las hojas número 1 a la 5, de las plantas de 9 meses de edad se tomó desde la hoja número 1 a la 6 (refiriéndose a la hoja 1 como la de mas reciente desarrollo). En las plantaciones ubicadas en el estado Yaracuy se tomaron solamente hojas de plantas de 5 meses de edad.

Aislamiento e identificación de patógenos. De las distintas hojas seleccionadas, se cortaron segmentos de 4 cm² de área en diez zonas diferentes distribuidas en toda la superficie de la hoja. Estos trozos se lavaron con agua destilada estéril, recogiendo el lavado en una plato de Siracusa previamente esterilizado, luego se hicieron observaciones microscópicas para constatar la presencia de estructuras reproductivas en la suspensión y por último se procedió al

contaje de los conidios presentes y siembra en agar agua (AA), agar conejarina (AC) y agar papa dextrosa (PDA) con el fin de obtener cultivos monospóricos y lograr la formación de estructuras reproductivas para proceder a establecer la identidad del patógeno. También se realizaron observaciones microscópicas de estructuras reproductivas presentes en la superficie de las hojas. Los aislamientos obtenidos se conservaron en tubos de ensayo estériles contentivos de PDA hasta el momento de su utilización.

Inoculación y reisolamiento. Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo en plantas de plátano Harton de 2 meses de edad, las cuales se sembraron en bolsas plásticas negras y colocadas en umbráculo por 4 semanas; durante este tiempo se le aplicaron aspersiones de fungicidas e insecticidas para mantenerlas libres de plagas. Transcurrido este lapso las plantas se sometieron a cámara húmeda por 72 horas antes de la inoculación y por 48 horas después de ésta. El inóculo usado provino de colonias desarrolladas por dos semanas en cajas de Petri estériles contentivas de PDA en condiciones de laboratorio (mantenidas en estufa a 26-27 °C), de donde se tomaron trozos de 1 cm² y se colocaron en el envés de las hojas; estos trozos de PDA contenían micelio y conidios (en el caso que los hubiera). Las plantas se mantuvieron en umbráculo, bajo un régimen de humedad relativa de 100% hasta la aparición de los síntomas. De los tejidos enfermos se realizaron aislamientos para así comprobar los postulados de Koch.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de patógenos. A partir de la siembra de la suspensión conidial en los medios de cultivo se desarrollaron dos tipos de colonias de hongos: en una de ellas se observaron estructuras reproductivas creciendo bien en PDA, la colonia presentó un color marrón; mientras que la otra colonia, de color verde oscuro y de desarrollo lento, creció mejor en AC observándose también estructuras reproductivas. La colonia que desarrolló mejor en PDA se obtuvo a partir de conidios oscuros, uniseptados y de forma obovoide, que midieron

6 - 10 x 12 - 21 m m, sobre conidióforos de color marrón, septados, rectos y lisos, que midieron de 80 a 220 m m de largo. Los conidios se presentan compactados en el ápice de los conidióforos, encontrándose en los medios agarificados, conidios y conidióforos con estas mismas características.

La colonia que creció mejor en AC, produjo estructuras reproductivas y se desarrolló a partir de conidios coloreados sub-cilíndricos, obclavados lisos, con presencia de hilum basal a nivel de la cicatriz, rectos o curvos, septados, con la base truncada, que midieron 35 - 120 x 2,5 - 5 m m (Figura 1). Los conidióforos en el tejido examinado se observaron en pocos a densos fascículos, lisos, cilíndricos, marrones, no se observó tejido estromático; los conidióforos midieron 30 - 50 x 4 - 5 m m y el número de septos varió de 1 a 8 (Figura 2 y 3). La germinación de los conidios ocurrió en forma apical, lateral o basal (Figura 4). En las muestras tomadas en la zona sur del Lago de Maracaibo, se observaron los dos tipos de conidios descritos anteriormente, encontrándose los conidios obclavados solamente en los tejidos necrosados de las hojas estudiadas, mientras que los conidios sub-cilíndricos se observaron en mayor cantidad en la zona de interfase tejido enfermo-tejido sano. La cantidad de conidios y conidióforos encontrados en estas últimas muestras puede verse en los Cuadros 1 y 2.

Inoculación y reisolamiento. En las plantas inoculadas con las colonias desarrolladas a partir de los conidios sub-cilíndricos se observaron los síntomas tres semanas después de la inoculación (Figura 5). En las lesiones de las plantas infectadas experimentalmente se observaron conidios y conidióforos semejantes a los vistos en los tejidos de las hojas provenientes del campo, que al aislarse y sembrarse en AC desarrollaron colonias con las mismas características culturales que las observadas en el aislamiento original (Figura 6).

En las plantas inoculadas con los conidios obovoides, los síntomas aparecieron dos semanas después de la inoculación; al observarse las lesiones se constató la presencia de conidios y conidióforos semejantes a los observados en el aislamiento original.

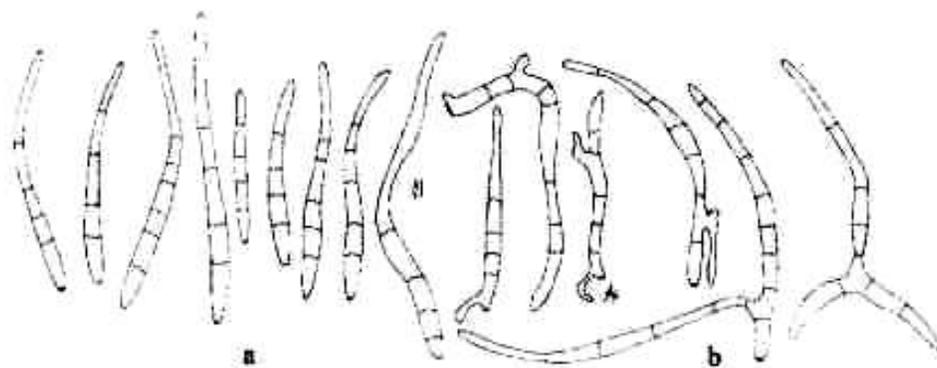


Figura 1. (a). Conidios de *Paracercospora fijiensis* desarrollados en agar-plátano-conejarina (APC). (b). Germinación de conidios.

Las características morfológicas y las dimensiones presentadas por los hongos aislados, conjuntamente con los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad y de reaislamiento, permitieron identificar al hongo que presentó conidios sub-cilíndricos como *Paracercospora fijiensis* cuyo teleomorfo es *Mycosphaerella fijiensis*, y el hongo que produjo conidios obovoides se identificó como *Cordana musae* (Zimm) Hohnel.

De las dos especies de hongos encontradas, *P. fijiensis* causante de la enfermedad conocida como "Sigatoka negra" es el más importante de los patógenos que atacan a las musáceas. El hongo *Cordana musae*, causante de la mancha cordana, es capaz de ocasionar serias defoliaciones en plantas de plátano, bajo condiciones de alta humedad; esta última enfermedad ocurre comúnmente en Venezuela (Urdaneta, 1991).

Cuadro 1. Número de conidios de *Paracercospora fijiensis*/ (4cm² de hoja) presentes en relación con la posición de la hoja en la planta y la edad

Edad planta (meses)	Hoja 1		Hoja 2		Hoja 3		Hoja 4		Hoja 5		Hoja 6	
	Tot.	Germ.										
2	1	1	24	3	1	0	-	-	-	-	-	-
5	9	4	0	0	35	7	16	12	59	8	-	-
6	0	0	2	1	2	0	38	7	46	6	-	-
9	1	0	9	2	18	12	34	29	86	27	54	15

Tot.= No. total de conidios

Germ.= No. de conidios germinados

Cuadro 2. Número de conidióforos de *Paracercospora fijiensis*/ (4 cm² de hoja) presentes en relación con la posición de la hoja en la planta y la edad.

Edad planta (meses)	Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6
2	0	8	0	-	-	-
5	2	0	7	12	9	-
6	0	0	0	6	7	-
9	0	1	8	8	11	12

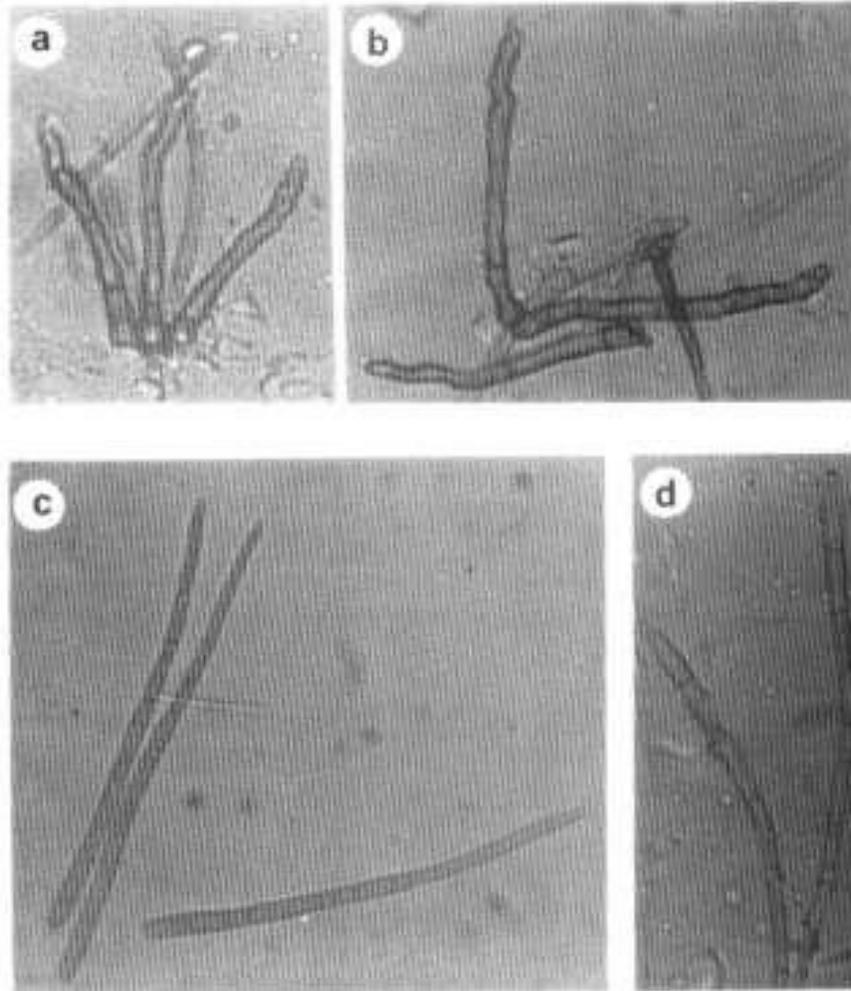


Figura 2. (a) y (b). Conidióforos de *Paracercospora fijiensis* desarrollados sobre hojas de plátano (x 630), poco densos y sin tejido estromático. (c) Conidios de *P. fijiensis*, subcilíndricos, lisos. (d) Se observa el hilum basal en el conidio, a nivel de la cicatriz.

Aunque la "Sigatoka negra" puede reconocerse visualmente, una diagnosis inequívoca es difícil, debido a que la mancha sigatoka de la hoja envuelve dos patógenos muy relacionados: *Mycosphaerella musicola* Leach causante de la sigatoka amarilla y *M. fijiensis* Morelet causante de "Sigatoka negra". El aislamiento del patógeno, el cual es más exitoso lograrlo por descarga de ascosporas del material

necrosado, es frecuentemente confundido por la ausencia de peritecios maduros, y cuando se obtiene en cultivo *Mycosphaerella fijiensis* y *M. musicola* no se diferencian fácilmente (Pons, 1990). Sin embargo el as muestras analizadas en este trabajo no se observaron ascosporas sino conidióforos y conidios de *P. fijiensis*, realizándose el aislamiento a partir de éstos.

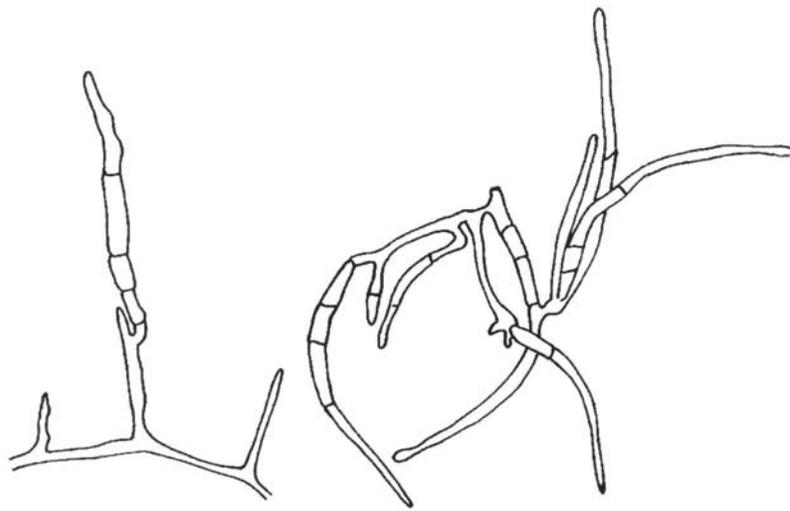


Figura 3. Conidióforos de *Paracercospora fijiensis* observados en medio de cultivo agar-conejarina (AC).

Aún cuando las observaciones sobre la producción de conidios y esporas atrapadas de *M. fijiensis* indican que las ascosporas son la mayor fuente de inóculo (Stover, 1980), en las muestras analizadas aquí no se observaron ni peritecios ni ascosporas, presumiéndose que el inóculo más importante en nuestras condiciones sean los conidios, como puede observarse en el Cuadro 1; sin embargo, esto debe ser corroborado en investigaciones posteriores observando directamente el tejido foliar en las diferentes épocas del año. En plantas de mas de 5 meses de edad y a partir de

la hoja No. 4 es donde se observó mayor número de conidios y conidióforos (Cuadros 1y 2). Los conidios, a diferencia de las ascosporas, pueden germinar en un amplio rango de humedad relativa y en ausencia de agua libre (Jacome et al, 1991), condiciones que le facilitan su redistribución dentro de la plantación y mantener una alta incidencia localizada. Las altas temperaturas y las precipitaciones presentes en nuestras zonas plataneras favorecen el desarrollo de la epidemia, lo cual asegura el establecimiento del patógeno.

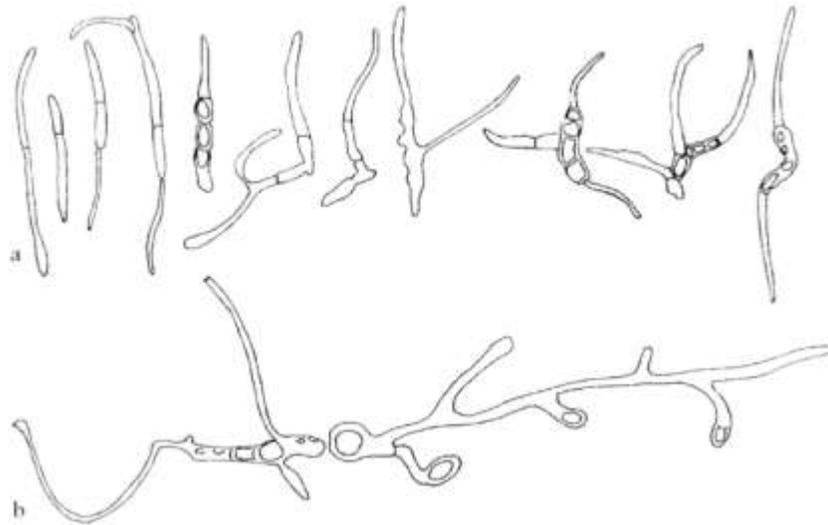


Figura 4. (a). Germinación de Conidios de *Paracercospora fijiensis* (x 630). (b). Formación de clamidosporas (x 1000).



Figura 5. Plantas de plátano Harton de 2 meses de edad, inoculadas con los patógenos. A la izquierda, se observa el daño producido por *Cordana musae*. A la derecha, la planta muestra el daño producido por *Mycosphaerella fijiensis*.

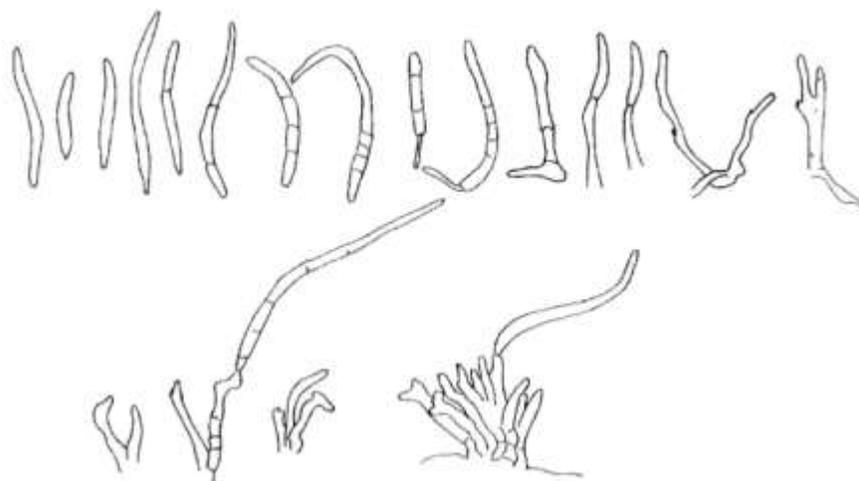


Figura 6. Conidios y conidióforos de *Paracercospora fijiensis* observados en hojas de plátano Harton a los 48 días después de la inoculación.

En Venezuela la presencia y establecimiento del patógeno causante de la enfermedad "Sigatoka negra" es un hecho, y su diseminación a nuevas áreas ha ocurrido en un lapso de tiempo relativamente corto, motivo por el cual se debe trabajar en razón de implementar lo más pronto posible sistemas de control químico y/o biológico efectivos y eficientes, que conjuntamente con el manejo tecnológico del cultivo ayuden a reducir en buena parte el efecto negativo que esta enfermedad pueda ocasionar en la producción nacional de musáceas.

LITERATURA CITADA

1. Cook, A.A. 1975. Diseases of tropical and sub-tropical fruits and Nuts. Hafner Press 317 p
2. Díaz Polanco, C., y Salas, G. 1973. Lista de patógenos de plantas cultivadas en Venezuela. Sociedad Venezolana de Fitopatología. Boletín Especial No. 2. 55p.
3. Jacome, L.H., Schuh, W., and Stevenson, R.E. 1991. Effect of Temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Phytopathology 81: 1480-1485.
4. Johanson ,A. and Jeger , M. S. 1993. Use of PCR for detection of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*, the causal agents of sigatoka leaf spot in bananas and plantain. Mycol Res. 97 (6) 670-674.
5. Liu, Z., Stewart, E. L. & Szabo, L. J. 1991. Polygenetic relationships among *Cercospora* and allied genera on banana based on DNA sequence comparisons. Phytopatology. 81: 1240.
6. Meredith. D.S. & Lawrence, J. S. 1969. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. Trans Br. Mycol. Soc. 52: 459-476.
7. Pons, N. 1987. Notes on *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Trans Br. Mycol Soc. 89 (1): 120-124.

8. Pons, N. 1990. Taxonomy of *Cercospora* and related genera. In: R. A. Fulerton y R. H. Stover (eds.). Sigatoka Leaf Spot Diseases of Banana. Proceedings of an International Workshop. San José, Costa Rica. pp. 360-370.
9. Stover, R. H. 1972. Banana, Plantain and Abaca Diseases. Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 316 p.
10. Stover, R. H. 1978. Distribution and probable origen of *Mycosphaerella fijiensis* in southeast Asia. Trop. Agriculture 55: 65-68.
11. Stover, R. H. 1980. Sigatoka leaf spot of bananas and plantains. Plant Disease 64: 750-755.
12. Stover, R. H., and Simmonds, N. W. 1987. Bananas. Tropical Agriculture Series. Longman Group UK 468 pp.
13. Urdaneta R. 1991. Principales enfermedades en el cultivo de Musaceas del estado Zulia, Maracaibo. FONAIAP-Estación Experimental Zulia. Serie B. No. 19. 40 pp.