



UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS  
VERITATE SOLA NOVIS INPONETUR VIRILISTOGA. 1948



Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas  
Facultad de Ciencias Agropecuarias

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE MASTER EN AGRICULTURA  
SOSTENIBLE

Respuesta de cultivares de *Musa* spp. a  
*Mycosphaerella fijiensis* Morelet y contribución al  
manejo de la enfermedad mediante el empleo de  
extractos vegetales

**Autor:** Ing. Marcos Antonio Ullauri Espinoza

**Tutora:** Dra.C. Lilián Marisol Morales Romero

*Santa Clara, 2011.*

## PENSAMIENTO

*“Hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay otros que luchan muchos años y son muy buenos. Pero hay quienes luchan toda la vida, esos son imprescindibles.”*

*Bertolt Brecht*

## DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mi madre,  
pues además de la vida supo encaminar  
mis pasos por el estudio y la superación,  
la mayor riqueza que tiene el hombre

A mi tía Alexandra  
por ayudarme desde pequeño  
a encontrar un buen camino en la vida:  
el estudio

A Gerardo  
por ofrecerme su amistad y sabiduría,  
lo cual me ayudará en toda la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por poner en mi la sabiduría necesaria.

A mi madre,  
por toda su entrega y confianza  
en lo que yo podía ser.

A mis amigos, compañeros y profesores  
por la ayuda prestada en mi formación profesional.

A Marilaura y familia  
que me acogieron con cariño y amor.

A los trabajadores del INIVIT y en especial a:  
Dra. C. Liliàn Marisol Morales Romero y Dra. C. Maryluz Folgueras  
MsC. Juliàn Gonzàles, MsC Josè E. Gonzàles y MsC. Nilo Masa  
Ing. Amaurys Dàvila y Ing. Dahert  
A los técnicos, Xiomara, Guillermo y Eliodoro.



## RESUMEN

La Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) es una enfermedad clave, conocida en el mundo, en Cuba desde su aparición tuvo un fuerte impacto marcado en los costos de producción y en la estructura clonal de musáceas. El Programa de Mejoramiento de Banano y Plátano en Cuba, rectorado por el INIVIT, enfatiza en la búsqueda de cultivares resistentes por ser la estrategia más económica y ambientalmente sostenible unido al empleo de extractos vegetales u otros productos biológicos como alternativas para reducir la incidencia de daños por la enfermedad. Con el objetivo de determinar la respuesta de cultivares mejorados de *Musa* spp. frente a *M. fijiensis* en las condiciones edafoclimáticas del INIVIT y evaluar el efecto de extractos vegetales como alternativa para el control de la enfermedad se realiza el presente trabajo en el período comprendido entre febrero de 2009 y diciembre de 2010. La respuesta de las variables relacionadas con la epifitología de la enfermedad: utilizadas en la evaluación de cultivares de *Musa* spp. varió en dependencia de la susceptibilidad del genotipo. El cultivar mejorado de banano 'H-10' (AAAB) manifestó tolerancia a SN superado por el cultivar de referencia 'FHIA 25' (AAA) que resultó ser resistente. El cultivar mejorado 'Manzano INIVIT' (AAB) y 'Selección INIVIT' (AAB) se catalogaron de tolerantes a la enfermedad, igualado al genotipo referenciado 'TMP-3 Nigeria' (AAAB). Los extractos vegetales de Cundeamor, Salvia y Caña Santa (90 mL de EV + 10 mL de aceite Neem) asperjados en el cultivar 'Gran Enano' (AAA) mostraron un efecto antifúngico a *M. fijiensis* en condiciones semicontroladas, con respuesta similar al tratamiento Maconzeb PH (80%).



<b>TABLA DE CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA .....	6
2.1 Generalidades del cultivo de Bananos y Plátanos.....	6
2.2 Importancia de los Bananos y Plátanos para Cuba y Mesoamérica.....	6
2.3 El rayado negro de la hoja o Sigatoka Negra en <i>Musa</i> spp.....	9
2.3.1 Agente causal.....	10
2.3.2 Sintomatología.....	14
2.3.3 Epifitiología.....	14
2.3.4 Medidas de control.....	16
2.3.4.1 Uso de fungicidas.....	16
2.3.4.2 Uso de genotipos resistentes.....	17
2.3.4.3 Control biológico.....	17
2.3.4.4 Uso de extractos vegetales.....	18
2.3.4.4.1 Metodología para realizar Extracciones.....	20
2.4 Variables utilizadas para la evaluación de la Sigatoka negra en condiciones de campo.....	21
2.4.1 Período de incubación.....	22
2.4.2 Período de latencia.....	22
2.4.3 Tiempo de evolución de los síntomas.....	23
2.4.4 Tiempo de desarrollo de la enfermedad.....	23
2.4.5 Severidad de la enfermedad.....	23
2.5 Variables utilizadas para la evaluación de la Sigatoka negra en condiciones semicontroladas.....	23
2.6 Métodos de evaluación de la resistencia de genotipos de <i>Musa</i> spp. frente a <i>M. fijiensis</i> .....	24
2.6.1 Evaluación en campo.....	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de <i>M. fijiensis</i> en genotipos de <i>Musa</i> spp.....	28
3.1.1. Clones de Bananos.....	28
3.1.2. Clones de Plátanos.....	28
3.2. Comparación de la respuesta frente a <i>M. fijiensis</i> , de genotipos mejorados y de referencia de <i>Musa</i> spp.....	31
3.3. Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo de la enfermedad.....	32
3.3.1. Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas.....	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38



4.1. Evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de <i>M. fijiensis</i> en genotipos de <i>Musa</i> spp. ....	38
4.1.1. Clones de Bananos.....	38
4.1.2. Clones de Plátanos.....	43
4.2. Comparación de la respuesta frente a <i>M. fijiensis</i> , de genotipos mejorados y de referencia de <i>Musa</i> spp. ....	48
4.3. Evaluación del efecto de los Extractos vegetales como alternativa de manejo de la enfermedad. ....	52
4.3.1 Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas.....	55
5. CONCLUSIONES .....	61
6. RECOMENDACIONES .....	62
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	63
8. ANEXOS.....	76



## 1. INTRODUCCION

Los bananos y plátanos (*Musa* spp) se encuentran ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del mundo siendo componentes importantes de la dieta humana en casi todos los países, ya sea como alimento cocido o como fruta fresca (Aguilar y Kohlman, 2006), ubicado en el cuarto renglón en la categoría de productos alimenticios de gran demanda después del arroz, el trigo y la leche (FAO 2002).

Se estima que la producción de musáceas en todo el mundo es de unos 108 millones de toneladas métricas por año, de las cuales el 60% corresponde a banano y el 32% a plátano, siendo los mayores productores India, Ecuador, Brasil y China y en menor escala los países tropicales de América, Asia y África (FHIA, 2007).

FAO (2009) estima que a nivel mundial los bananos ocupan un área de 4 817 551ha con un rendimiento promedio de 188 282 hectogramos/ha y una producción de 90 705 922t. Para el caso de los plátanos la referida fuente cita un área de 5 390 731ha y un rendimiento de 63 708 hectogramos/ha con una producción de 34 343 343t.

El área dedicada al cultivo de bananos y plátanos en Cuba en el año 2008, fue cercana a 83 630ha con una producción de 280800 y 477400 t respectivamente. (FAO, 2009).

En Cuba, constituyen un reglón de elevada prioridad dentro del programa alimentario, debido a su capacidad de producir todos los meses del año, su elevado potencial productivo, arraigado hábito de consumo y diversidad de usos (Cuba, 2008).

Las enfermedades de Sigatoka del banano están causadas por dos hongos ascomicetos emparentados: *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, que causa la Sigatoka negra (SN) o raya negra de la hoja y *Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder, que causa la Sigatoka amarilla (SA) o Sigatoka común. Los dos patógenos pueden ser distinguidos morfológicamente esencialmente por las características morfológicas de las conidias y los conidióforos. (Mourichon *et al.*, 1997).

La raya negra de la hoja o Sigatoka negra (SN) como se conoce en el continente americano, es la enfermedad más importante que ataca el área foliar de *Musa* spp. (Fullerton, 1994; Fullerton y Stover, 1990; Mourichon *et al.*, 2000). Produce grandes pérdidas del área fotosintética tanto por la acción del patógeno así como sus toxinas difundidas (El-Hadrami *et al.*, 2005), las cuales afectan severamente los rendimientos productivos de este cultivo (Marín *et al.*, 2003).



En el Continente Americano, la SN se identificó por primera vez en Honduras en el año de 1972 (Stover y Dickson, 1976), de donde se diseminó a todos los países de América Central, México y parte de América del Sur (Stover, 1980; Fullerton y Stover, 1990).

La sintomatología de la SN se caracteriza por la presencia de estados iniciales de pecas rojizas en las hojas enfermas, las cuales progresan hasta convertirse en rayas rojizas a pardas oscuras y éstas a su vez dan lugar a manchas pardas oscuras o negras con halo clorótico. Los primeros síntomas son observables solamente por el envés de las hojas, mientras que los estadios más avanzados son visibles por el haz de las hojas infectadas (Meredith y Lawrence, 1969).

La SN es una enfermedad clave conocida en el mundo bananero como la enfermedad foliar más destructiva de esta fuente de alimentos y divisas (Jacome, 1998). Se propaga inexorablemente a todas las principales regiones de las tierras bajas donde se cultivan los plátanos y bananos (Meredith y Lawrence, 1970). Se ha reportado la reducción de la producción hasta en un 50% (Burt *et al.*, 1997) y pérdidas en el rendimiento en un 76% (Mobambo *et al.*, 1996).

Desde que se reportó por primera vez, se originó gran incertidumbre sobre el futuro de la producción de bananos y plátanos, debido a la compleja naturaleza de este patógeno, pudiendo generar alto potencial para su adaptación a nuevas condiciones climáticas, fungicidas y genotipos de huésped (Ploetz, 2000). Esto fue demostrado ante la pérdida de la eficiencia de algunos productos químicos usados para su control como benzimidazoles y triazoles (Douglas y Ching, 1992; Stover, 1993; y Romero, 2000). Esta situación resalta la magnitud del problema que representa esta enfermedad, que induce al establecimiento de medidas de control integrado donde se incluye el uso de clones resistentes con alto potencial productivo (Rowe y Rosales, 1993).

En Cuba la SN constituye la enfermedad foliar más destructiva de los plátanos y bananos (Pérez *et al.*, 2002), su aparición a finales de 1990 (Vidal, 1992), tuvo un fuerte impacto marcado en los costos de producción pero especialmente en la estructura clonal de la superficie plantada de musáceas (Pérez *et al.*, 2002).

El uso de variedades resistentes es sin duda la estrategia más económica y ambientalmente sostenible de la lucha contra SN. La resistencia de los clones de bananos y plátanos a *M. fijiensis*, ha sido objeto de numerosos estudios (Meredith y Lawrence, 1970; Firman, 1972; Fouré *et al.*, 1984, Fouré *et al.*, 1990; Fouré, 1994; Hernández y Pérez, 2001; y Rowe, 1998).



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

Muchos programas de mejoramiento genético de *Musa* vía hibridación se basan en la utilización de la resistencia encontrada en especies silvestres de *Musa* como: *Musa acuminata* spp. *burmannica*, *Musa acuminata* spp. *malaccensis* y *Musa acuminata* spp. *siamea*; también en los cultivares diploides Paka (AA), Pisan lilin (AA), Calcuta (AA) y algunos triploides como el cultivar Yagambi Km 5 (AAA), Saba (ABB) y Pisang Ceylan (ABB) (Hernández, 1995).

En Cuba, 11 000ha de superficie de bananos y plátanos están cultivadas de híbridos FHIA con resistencia principalmente proveniente de *Musa acuminata burmannica* var. Calcuta 4 (Pérez *et al.*, 2002).

Fullerton y Olsen (1995) señalan que un mejor entendimiento tanto de las estructuras de las poblaciones del patógeno así como su evolución es clave para la asistencia a los programas de mejoramiento de bananos y de manejos de la enfermedad.

El Programa de Mejoramiento Genético de Bananos y Plátanos que se desarrolla en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), ha seleccionado los progenitores masculinos y femeninos más adecuados para la hibridación en *Musa* spp, y ha diseñado esquemas de cruzamientos para la obtención de nuevos híbridos, a partir de los materiales existentes en el Banco de Germoplasma de estos cultivos (Ramírez, 2001). Las evaluaciones en campo bajo condiciones de infección, han sido durante mucho tiempo el único método disponible para evaluar y seleccionar genotipos de *Musa* resistentes a *M. fijiensis* (Chaerani, 2006). Las mismas deben estar validadas por comparación de los genotipos de interés con cultivares de referencia en pruebas multilocales (Mourichon, 1995; Carlier *et al.*, 2003).

La SN se controla fundamentalmente mediante la aplicación de fungicidas, ya que las restantes alternativas no han brindado un control aceptable en el contexto productivo (Herderson *et al.*, 2006). Sin embargo, el alto costo de los fungicidas, la no disponibilidad de éstos para los pequeños agricultores, la continua resistencia del patógeno a los fungicidas convencionales, el impacto medioambiental negativo que provoca su utilización, exigen de medidas de control más eficientes.



Los genotipos resistentes ofrecen el único método de control viable y durable, sin cambiar las técnicas tradicionales y de manejo que utilizan los productores (Rant y Renade *et al.*, 2004).

El control biológico de *M. fijiensis* ha recibido poca atención, propiciado quizás por la efectividad de los fungicidas químicos así como por el poco interés en financiar proyectos para buscar métodos alternativos de control. Sin embargo, la aparición de cepas de *M. fijiensis* resistentes a los fungicidas químicos tradicionalmente usados, así como el incremento mundial de las demandas por lograr mayor limpieza en la producciones, ha propiciado un aumento en el interés de encontrar alternativas biológicas para el control de la SN (Marín *et al.*, 2003).

Estudios realizados por Viveros y Castaño (2006) muestran resultados alentadores para control de *M. fijiensis*, donde el uso de los extractos vegetales de 30 especies evaluadas mostraron efecto sobre el radio de inhibición y desarrollo de colonias de *Pseudocercospora fijiensis* Morelet (Deighton).

Esto conduce a los investigadores a retomar los antiguos métodos de manejo de enfermedades como la utilización de extractos vegetales, que en el marco de proyectos de Manejo Integrado permiten una producción agrícola más sostenible y menos contaminante (Vergara, 1994; Villa, 1999).

Las especies de plantas representan un potencial para disminuir el uso de agroquímicos, que no solo atentan contra la ecología y la salud, sino que además, permanecen en el medio ambiente por años (Castillo 2004).

En el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos, no existe un conocimiento definido de la respuesta a SN en los nuevos cultivares desarrollados por el INIVIT y que se requiere este conocimiento para desarrollar estrategias que permitan el empleo de extractos vegetales u otros productos biológicos como alternativas para reducir la incidencia de daños por la enfermedad, constituyendo esto el **Problema Científico**.

Considerando lo anterior, el presente trabajo se propone como **Hipótesis**:

Conocer la respuesta de diferentes cultivares de *Musa* spp. frente a *M. fijiensis*, y el uso de extractos vegetales como alternativa para su combate, permitirán la explotación comercial de los nuevos cultivares obtenidos en el Programa de Mejoramiento Genético del INIVIT con una notable contribución ambientalmente sostenible de lucha contra SN.



### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la respuesta de cultivares mejorados de *Musa* spp. frente a *M. fijiensis* en las condiciones edafoclimáticas del INIVIT y evaluar el efecto de extractos vegetales como alternativa para el control de la enfermedad.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Conocer el desarrollo y evolución del proceso infectivo de *M. fijiensis* en cultivares de *Musa* spp en condiciones de campo mediante la evaluación de variables relacionadas con la epifitiología de la enfermedad.
2. Conocer la respuesta frente a *M. fijiensis*, de cultivares mejorados de *Musa* spp obtenidos mediante el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos en el INIVIT con cultivares referenciados.
3. Determinar el efecto de extractos vegetales como alternativa para el control de la enfermedad en condiciones semicontroladas.



## 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Generalidades del cultivo de Bananos y Plátanos

Los bananos y los plátanos, pertenecen al género *Musa* de la familia *Musaceae*, orden *Zingiberales*, subclase *Zingiberidae*, Clase *Liliopsida*, División *Magnoliophyta*, Reino *Plantae*. La familia *Musaceae* está constituida a su vez por dos géneros: *Musa* y *Ensete*. El primero comprende todos los bananos y plátanos comestibles con más de 50 especies y se subdivide en cinco secciones: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys*, *Eumusa* e *Ingentimusa* (Stover y Simmonds, 1987) y el segundo agrupa a ocho especies con frutos monocárpicos no comestibles.

La mayoría de los bananos y plátanos comerciales, son híbridos triploides (*Musa* spp. AAA, AAB y ABB), originados de la poliploidización e hibridación interespecífica de las especies diploides *Musa acuminata* (Colla) y *Musa balbisiana* (Colla) (Robinson, 1996, Roux *et al.*, 2006).

### 2.2 Importancia de los Bananos y Plátanos para Cuba y Mesoamérica.

Los bananos y plátanos son componentes importantes de la dieta humana en casi todos los países del mundo, ya sea como alimento cocido o como fruta fresca (Marín *et al.*, 2002). El banano, es fuente de fibra, posee bajo contenido de sodio, y es la fuente más rica de potasio y vitamina B<sub>6</sub> lista para consumir (Chandler, 1995)

Los bananos contienen grandes cantidades de energía (90 calorías por 100g), pero sin colesterol. Un banano proporciona más potasio que los requerimientos diarios de un adulto (380 mg). El banano también es la mejor fuente fresca de vitamina B<sub>6</sub> y proporciona un buen suministro de vitamina C, magnesio y fibra dietética. INIBAP (2002).

Los bananos y plátanos se cultivan en alrededor de 120 países con una producción total aproximada de 95 millones de toneladas del fruto (FAO 2000). Son cultivados en más de 100 países de las regiones tropicales y subtropicales del planeta y son utilizadas más de 10 millones de hectáreas para su cultivo (Marín *et al.*, 2003).

Se encuentran entre las principales plantas que se cultivan en las zonas tropicales y subtropicales de América Latina, Asia y África, lugares donde predominan temperaturas y humedades relativas altas. En Cuba, los bananos y plátanos constituyen un reglón de elevada prioridad dentro del programa alimentario nacional, debido a su capacidad de producir todos los meses del año, su elevado potencial productivo, arraigado hábito de consumo y diversidad de usos. Cuba (2008)



Según estimaciones de FAO (2009) las áreas cosechadas de bananos fueron 4 817 551 ha y 5 390 731 ha fueron destinadas a la producción de plátanos a nivel mundial. (Tabla 1)

Tabla 1: Áreas cosechadas, Rendimientos y Producción de bananos y plátanos a nivel mundial.

	Área (ha)	Rendimientos (Hg/ha)	Producciones (t)
Bananos	4 817 551	188 282	90 705 922
Plátanos	5 390 731	63 708	34 343 343

Fuente: FAO (2009)

Se estima que la producción de musáceas en todo el mundo es de unos 108 millones de toneladas métricas por año, de las cuales el 60% corresponde a banano y el 32% a plátano, siendo los mayores productores India, Ecuador, Brasil y China. (FAO; 2006)

En el año 2008 el mayor país en área y producción de bananos a nivel mundial correspondió a la India y para el caso de los plátanos Uganda. (FAO, 2009) (Tablas 2 y 3).

Tabla 2: País con mayor área y producción de bananos a nivel mundial.

	Área (ha)	Producciones (t)
India	646 900	23 204 800

Fuente: FAO (2009)

Tabla 3: País con mayor área y producción de plátanos a nivel mundial.

	Área (ha)	Producciones (t)
Uganda	1 680 000	9 371 000

Fuente: FAO (2009)

Según estimaciones FAO (2009), como principales productores de bananos en el área de América Central, Suramérica y el Caribe se destacan Brasil, Ecuador y Costa Rica con 7 116 808, 6 701 146 y 1 881 783 toneladas respectivamente.

Brasil y Ecuador también sobresalen por el área cosechada con 508 845 y 210 000 ha de bananos respectivamente. (Tabla 4).



Tabla 4: Áreas cosechadas, Rendimientos y Producción de bananos por países en el área de América Central, Suramérica y el Caribe. (Relacionados por orden de significación)

Áreas cosechadas (ha)		Rendimientos (Hg/ha)		Producciones (t)	
Brasil	508 845	Nicaragua	535 518	Brasil	7 116 808
Ecuador	210 000	Costa Rica	520 930	Ecuador	6 701 146
México	75 000	Guatemala	517 949	Costa Rica	1 881 783
Colombia	65 000	Honduras	433 333	México	2 220 00
Haití	45 000	Panamá	366 667	Colombia	1 800 00
Costa Rica	43 000	Rep. Dominicana	312 147	Guatemala	101 0000
Venezuela	36 000	México	293 333	Honduras	910 000
Cuba	26 000	Ecuador	291 905	Rep. Dominicana	552 500
		Belice	290 323	Venezuela	523 000
		Colombia	276 923	Panamá	440 000
				Cuba	280 800

Fuente: FAO (2009)

Las Áreas cosechadas (ha), Rendimientos (Hg/ha) y Producciones (t) de plátanos por países en el área de América Central, Suramérica y el Caribe estimadas por FAO (2009) reflejan como mayores productores de plátanos a los países de Colombia, Perú y Ecuador.

Cuba, ocupa el cuarto lugar en relación a áreas cosechadas (75 000 ha) y producción (477 400 t), según estimaciones de la referida fuente, antecedida por Colombia, Perú y Ecuador (Tabla 5).

Tabla 5: Áreas cosechadas, Rendimientos y Producción de plátanos por países en el área de América Central, Suramérica y el Caribe. Relacionados por orden de significación.

Áreas cosechadas (ha)		Rendimientos (Hg/ha)		Producciones (t)	
Colombia	450 000	Belice	512 500	Colombia	3 600 000
Perú	160 000	Guatemala	392 857	Perú	1 837 384
Ecuador	105 000	El Salvador	311 711	Ecuador	590 000
Cuba	75 000	Martinico	204 545	Cuba	477 400
Venezuela	48 000	Puerto rico	177 778	Bolivia	450 000
Hatí	44 000	Jamaica	170 370	Rep. Dominicana	415 000
Bolivia	42 500	Honduras	134 884	Venezuela	337 000
Rep. Dominicana	41 000	San Vicente	120 000	Honduras	290 000
Honduras	21 500	Perú	114 837	Haití	280 000
Costa Rica	11 500	Guadalupe	107 143	Guatemala	275 000

Fuente: FAO (2009)



La producción de plátanos y bananos posee gran significación dentro de la producción de viandas en Cuba, pues representan más del 40% de este indicador anualmente. Actualmente esta producción está basada en varios clones pertenecientes a los subgrupos Cavendish (AAA), Plantain (AAB), Burros (ABB) y tetraploides (AAAA, AAAB, AABB), introducidos de la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA). (Cuba, 2008)

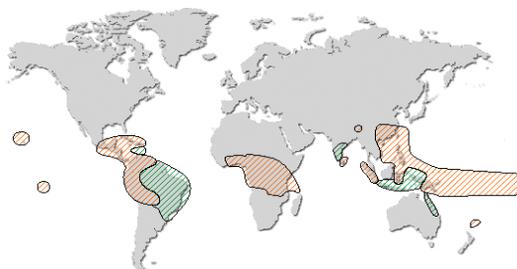
### **2.3 El rayado negro de la hoja o Sigatoka Negra en Musa spp.**

Dentro de los patógenos fúngicos que causan manchas foliares en los bananos; *Mycosphaerella musicola* (R. Leach ex J.L. Mulder) cuyo anamorfo es *Pseudocercospora musae* (Speg) Syd., causante de la enfermedad Sigatoka amarilla, *Mycosphaerella fijiensis* (Morelet) cuyo anamorfo es *Pseudocercospora fijiensis* (Deighton) causante de la enfermedad de la raya negra de la hoja (Sigatoka negra) y *Mycosphaerella eumusae* cuyo anamorfo es *Pseudocercospora eumusae* (Zimm) Deighton; se caracterizan por producir síntomas muy similares en las hojas infectadas, por lo que algunos autores lo denominan el complejo Sigatoka (Crous y Mourichon, 2002; Jones, 2003).

La Sigatoka Negra (SN) identificada como la enfermedad del rayado negro de la hoja, fue reconocida por vez primera en el sureste de Viti Levu, a 60 kilómetros del valle de Sigatoka en Fiji, en 1963 (Rhodes, 1964). Sin embargo, exámenes realizados a herbarios de especies de *Musa* han indicado la posible existencia de este patógeno mucho antes en áreas de Asia y el Pacífico (Jones, 2003).

El primer estudio detallado sobre la enfermedad y el patógeno causante de ésta fue hecho por Meredith y Lawrence, en 1969. La primera aparición de la SN fuera de Asia ocurrió en Honduras en 1972. En África, fue registrada en Zambia, en 1973, y desde entonces, se ha expandido hacia los territorios bajo el Sahara. (Stover, 1978).

Entre 1977 y 1980 se diseminó por el sur de México y por toda la América Central. En América del Sur se encuentra en Bolivia y la parte noroccidental de Brasil, y en el Caribe (Cuba, Jamaica, República Dominicana y el sur de Florida). En la mayoría de las áreas, la Sigatoka negra ha reemplazado a la amarilla, para convertirse en la enfermedad predominante del banano (Figura 1). Entre 2000 y 2002, el patógeno fue identificado por primera vez en Madagascar, Las Bahamas y las Islas Galápagos de Ecuador y en el área de cultivo bananero en el norte de Queensland donde se están haciendo intentos para erradicarla.



S N 

SA 

Figura 1: Distribución de *M. musicola* (SA) y *M. fijiensis* (SN) en el mundo.

La SN es la enfermedad foliar más destructiva de los plátanos y bananos. Causa una reducción significativa en el área fotosintética de la hoja, pérdidas en el rendimiento de hasta el 50%, y madurez prematura, un defecto muy serio de la fruta para exportación. Se ha reportado la reducción de la producción hasta en un 50% (Burt *et al.*, 1997) y pérdidas en el rendimiento en un 76% (Mobambo *et al.*, 1996).

Orozco (1998) señala que dicha enfermedad puede ocasionar pérdidas en el rendimiento entre un 50 y 100%, afectando de manera notoria la economía del productor. Ya que es capaz de ocasionar severos daños al follaje de la planta destruyendo su capacidad de respiración y fotosíntesis, reduciendo con ello el rendimiento y calidad de la fruta; si el ataque se produce sobre todo en las hojas jóvenes de la planta, la pérdida de la producción es total.

En Cuba constituye la enfermedad más nociva presente en las plantaciones de musáceas (Pérez *et al.*, 2002). Según Vidal (1992) su aparición a finales de 1990 tuvo un fuerte impacto marcado en los costos de producción pero especialmente en la estructura clonal de la superficie plantada de musáceas. 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 11 mil ha. Así mismo, en la actualidad solo se mantiene un 18% de las más de 43 mil ha de plátanos (AAB) existentes en 1993. Los plátanos han sido sustituidos por el cultivo a gran escala del clon Burro CEMSA (ABB), que ocupa unas 63 mil ha y por el FHIA 3 (AABB) (Pérez *et al.*, 2002).

### 2.3.1 Agente causal

Según Aptroot (2006), *Mycosphaerella* es uno de los géneros más amplios dentro del *Phyllum Ascomycota* el cual agrupa cerca de 3 000 especies, cuyos anamorfos se ubican en más de 30 géneros de forma (Crous *et al.*, 2007). Crous y Braun (2003) propusieron un



sistema de clasificación mediante el cual, la morfología asexual podía ubicarse en diferentes géneros de forma, afines con los holomorfos de *Mycosphaerella*.

Por su parte Schoch *et al.* (2006) ubicaron la familia *Mycosphaerellaceae* dentro del orden *Capnodiales*. Posteriormente se encontraron algunas variaciones dentro de esta familia, lo cual apoyó los resultados basados en los datos a partir de las secuencias de genes (LSU), obtenidos por Hunter *et al.* (2006) y Batzer *et al.* (2007); con ello se incluyeron las familias: *Teratosphaeriaceae*, *Schizothyriaceae*, *Davidiellaceae*, *Capnodiaceae* y *Mycosphaerellaceae*.

El género *Mycosphaerella* se consideró monofilético (Crous *et al.*, 2001; Goodwin *et al.*, 2001); sin embargo, la secuenciación del ADN y los datos derivados de otros genes (LSU), permitieron distinguir varios grupos y familias, expresando su carácter polifilético (Crous *et al.*, 2007).

Este hongo se disemina básicamente por ascosporas (Burt, 2003) aunque también los conidios pueden contribuir a la infección en condiciones naturales (Meredith y Lawrence, 1969), sin embargo en dichas condiciones el micelio no es una estructura infectiva importante.

*M. fijiensis* es un hongo heterotálico (Mourichon *et al.*, 1990; Conde-Ferraéz *et al.*, 2007). El ciclo de vida de este patógeno está caracterizado por dos estados: perfecto (teleomorfo) e imperfecto (anamorfo) (Alexopoulos y Mims, 1979).

Estado perfecto: (Teleomorfo): Phylum: *Ascomycota*, Subclase *Euascmycetae*, Orden *Capnodiales*, Familia *Mycosphaerellaceae*, Género *Mycosphaerella*, Especie *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.

Estado imperfecto: Phylum: *Hongos mitospóricos o anamorfos*, Subclase *Hyphomycetae*, Orden *Hyphomycetales*, Familia *Dematiaceae*, Género *Pseudocercospora*, Especie *Pseudocercospora fijiensis* Morelet (Deighton).

Aunque la fase anamorfa de *M. fijiensis*, inicialmente se colocó en el género *Cercospora*, se ha clasificado en diferentes momentos como: *Paracercospora fijiensis* y *Pseudocercospora* respectivamente (Deighton, 1976; Deighton, 1979). Crous *et al.* (2003) secuenciaron la región intergénica (ITS1 y ITS2) del Ácido desoxiribonucleico ribosomal (ADNr) y mostraron que *Paracercospora* es sinónimo de *Pseudocercospora*, por lo tanto *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton es el nombre más aceptado en la actualidad del estado anamorfo de *M. fijiensis* Morelet (Crous *et al.*, 2003).



## Identificación de *M. fijiensis*

### *Identificación basada en morfología y síntomas que ocasiona*

Tradicionalmente la identificación de *M. fijiensis*, se ha basado en la morfología de las estructuras de esporulación (presencia o no de cicatriz en la base de los conidios), en la evaluación de las características del crecimiento *in vitro* y en menor medida por la sintomatología observada en campo, la cual es similar tanto para *M. musicola* como para *M. fijiensis* y dependen del genotipo de *Musa* y de las condiciones ambientales (Stover y Simmonds, 1987).

### *Empleo de métodos bioquímicos*

Algunos ensayos bioquímicos han utilizado el análisis isoenzimático para identificar *M. fijiensis*, sin embargo el desarrollo y crecimiento no uniforme de los aislados así como la actividad débil de los sistemas isoenzimáticos utilizados han conducido a la obtención de resultados variables (Johanson, 1993). Otros autores han utilizado ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA mediante el uso de anticuerpos monoclonales para diagnosticar pre-sintómicamente *M. fijiensis* (Otero *et al.*, 2007). A pesar de la efectividad de estas técnicas para un diagnóstico rápido, su aplicación a gran escala implica costos elevados, por lo que solo pocos laboratorios pueden aplicarlas.

### *Métodos basados en ADN*

En la actualidad estas son las técnicas más utilizadas y que mayor nivel de confiabilidad brindan para la identificación de *M. fijiensis*. Las mismas se basan en las técnicas de amplificación del ADN mediante RCP cualitativa (Johanson y Jeger, 1993) y RCP cuantitativa en tiempo real (Henderson *et al.*, 2006), las cuales son capaces de diferenciar entre las especies *M. fijiensis*, *M. musicola* y *M. eumusae*. La primera es la que mayor utilización ha tenido en la identificación molecular de *M. fijiensis*.

## Patogenicidad, agresividad y virulencia

En general la terminología utilizada en la patología vegetal es amplia, diversa y en ocasiones ambigua o contradictoria; si se compara con su contraparte en animales y humanos (Reignault y Sancholle, 2005). Asimismo un mismo concepto puede variar en dependencia de la naturaleza del patógeno (bacteria, hongo, virus, nemátodos, etc) (Lenne, 2002). Los conceptos que más comúnmente se confunden y se utilizan indistintamente en la patología vegetal son: patogenicidad, agresividad y virulencia.



La patogenicidad en general se define como: a) la capacidad cualitativa de un parásito de infectar y causar enfermedad en un hospedante dado. Es una característica de un organismo capaz de producir enfermedad (Lenne, 2002). En los últimos años se ha avanzado sustancialmente en el estudio de las bases moleculares de la patogenicidad (Sacristán y García-Arenal, 2008), la capacidad o habilidad de un patógeno dado de causar enfermedad en un hospedante particular (propiedad cualitativa), asumiendo que está negativamente correlacionada con la salud del hospedante (Darcy *et al.*, 2001). En el caso particular de *M. fijiensis* aún no se han encontrado aislados no patogénicos (Balint-Kurti *et al.*, 2001).

Por su parte la agresividad se define como: a) el efecto cuantitativo negativo de un patógeno en su respectivo hospedante (Vanderplank, 1968), b) la propiedad de un patógeno de reflejar la cantidad relativa del daño causada a un hospedante sin considerar los genes de resistencia R presentes en el hospedante dado (Shaner *et al.*, 1992).

Sin embargo, la virulencia puede definirse como: a) la capacidad de un patógeno de infectar un genotipo dado del hospedante (Vanderplank, 1968), b) la habilidad genética de una raza de un patógeno de sobrepasar la resistencia genética de un hospedante dado, el cual es resistente a otras razas del patógeno (Shaner *et al.*, 1992), c) el grado del daño causado a un hospedante por la infección de un parásito, lo cual se asume que esté negativamente correlacionado con la salud del hospedante en cuestión (D'arcy *et al.*, 2001), d) el grado o medida de la patogenicidad (Lenne, 2002), e) el grado del daño causado a un hospedante particular (propiedad cuantitativa) asumiendo que está negativamente correlacionada con la salud del hospedante (Sacristán y García-Arenal, 2008), f) en las interacciones gen-por-gen con pareja de alelos el término virulencia se utiliza para definir aquel genotipo del patógeno capaz de romper un factor de resistencia en el hospedante (Sacristán y García-Arenal, 2008). En general poco se ha avanzado en el estudio de las bases moleculares de la virulencia aplicada a la patología vegetal.

Los fitopatólogos en la práctica han usado diferentes caracteres fenotípicos para diferenciar cepas del patógeno ya sea dentro de una misma población o entre poblaciones diferentes. Tradicionalmente la determinación de la variación de la virulencia entre cepas del patógeno, se realiza mediante la inoculación de las cepas en una serie de genotipos diferenciales del hospedante, los cuales poseen diferentes genes de resistencia. Como resultado se observan fenotipos de respuesta compatible e incompatible (Slusarenko *et al.*, 2001).



Desafortunadamente dichos ensayos solo pueden agrupar las cepas en virulentas y avirulentas en dependencia del hospedante en particular que se trate, pero no pueden indicar la variación existente entre y dentro de las poblaciones de patógeno. Igualmente, los ensayos de virulencia son difíciles de comparar entre diferentes laboratorios puesto que los mismos son afectados por las variaciones ambientales o las condiciones experimentales utilizadas (Leung *et al.*, 1993).

En *Musa* spp. aún no se dispone de un conjunto diferencial de genotipos, que estén genéticamente caracterizados en relación con sus respectivos genes de resistencia; por lo cual los estudios de virulencia en las poblaciones de *M. fijiensis* no se pueden realizar. A pesar de ello, Fullerton y Olsen (1995) observaron diferencias entre aislados de *M. fijiensis* al inocularse sobre genotipos de *Musa* con diferentes niveles de resistencia. Asimismo, Donzelli y Churchil (2007) desarrollaron un ensayo cuantitativo para evaluar la virulencia entre diferentes aislados de *M. fijiensis*.

### **2.3.2 Sintomatología**

Aunque la SN fue descrita por primera vez en 1964 por Rhodes, en realidad Meredith y Lawrence (1969) fueron quienes realizaron la descripción detallada de los síntomas basada en observaciones realizadas por dichos autores. Fouré (1985), redefinió los síntomas y propuso seis estadios de desarrollo de la enfermedad acorde con la evolución de los síntomas en plantas adultas cultivadas en condiciones naturales.

### **2.3.3 Epifitiología**

Según Burt (2003) las ascosporas y los conidios de *M. fijiensis* juegan un papel importante en la diseminación de la enfermedad (Figura 2), aunque los conidios se producen en cantidades inferiores. Meredith y Lawrence (1969), observaron que estas estructuras, se producen tanto en el haz como en el envés de las hojas. Sin embargo, Gaulh *et al.* (2000), encontraron que existen mayor número de pseudotecios en el envés de las hojas de bananos.

Rodríguez-García *et al.* (2007), plantearon que los conidios también son importantes en el desarrollo de la enfermedad y los síntomas que ocasionan, son similares a los causados por las ascosporas.

La cantidad de inóculo disponible influye sobre la velocidad de evolución de la enfermedad para condiciones ambientales similares. Una elevada presión de inóculo acorta el tiempo de evolución de los síntomas, mientras que condiciones climáticas



desfavorables frenan la evolución de la enfermedad (Porras y Pérez, 1997). Además, da lugar al rápido desarrollo de sectores necróticos en las hojas e induce en estas la formación de grandes cantidades de pseudotecios y ascosporas (Pérez, 1997).

A pesar de que todas las hojas de la planta son igualmente susceptibles a *M. fijiensis*, las mayores infecciones ocurren sobre las hojas nuevas entre las emergentes y la completamente desarrolladas (Gauhl, 1994). Este autor, observó que las hojas de la primera a la tercera más jóvenes abiertas son más susceptibles que el resto, a la infección natural.

Algunos factores climáticos como la temperatura y la humedad en forma de película de agua depuesta sobre la superficie de las hojas (básicamente el número de horas que la superficie de la hoja permanece humedecida), son factores determinantes en la velocidad con que evolucionan los síntomas de la enfermedad (Porras y Pérez, 1997). Quizás por ello, las precipitaciones condicionan la elevada incidencia y severidad de la enfermedad (Gauhl, 1994).

El hongo se disemina desde la fuente de inóculo primaria (hojas infectadas que liberan ascosporas y conidios) a través del aire hacia las principales regiones productoras donde se cultivan los bananos y los plátanos (Meredith y Lawrence 1970). El viento se ha considerado como el principal medio de transportación de los conidios y ascosporas hacia las plantas cercanas (Burt, 2003) (Figura 2).



Figura 2. Ciclo sexual y asexual de *M. fijiensis* en plantas adultas cultivadas en campo, ilustrado mediante detalles histológicos que describen las diferentes estructuras producidas por este patógeno durante el desarrollo del proceso infeccioso (BAYER, 2007). (1) Fase de deposición de las ascosporas. (2) Fase de germinación de las ascosporas. (3) Fase de penetración estomática.



(4) Fase de colonización, (4D) liberación de los conidios, (4A) Diseminación y deposición de los conidios, (4B) Penetración estomática. (5) Inicio de la formación de los espermogonios. Formación de los primeros espermogonios maduros. (7) Liberación de los espermacios y formación de los primeros pseudotecios. (8) Pseudotecios maduros y liberación de las ascosporas.

La precipitación acumulada tiene una relación inversa con el período de incubación y de evolución de los síntomas, esto significa que al aumentar los volúmenes de lluvia acumulados semanalmente, los períodos de incubación y de evolución de los síntomas de la enfermedad disminuyen, al provocar mayor severidad y por consiguiente mayor producción de inóculo (Aguirre *et al.*, 1998).

La distribución de este patógeno está determinada también por la altitud (Mouliom-Pefoura, 1995). La Sigatoka negra puede afectar al cultivo desde el nivel del mar hasta los 1940m de altitud (Belalcázar *et al.*, 1994). Se ha demostrado que *M. fijiensis* ha reemplazado a *M. musicola* en altitudes localizadas en Costa Rica, como evidencia que este patógeno puede competir aún en condiciones menos favorables (Gauhl *et al.*, 2000).

Fouré (1994) indica la existencia de relaciones entre parámetros climáticos y el desarrollo de la enfermedad que permiten un mejor entendimiento de la dinámica de la misma en zonas productoras y el potencial para iniciar infecciones futuras. La liberación de ascosporas ante la presencia de lluvias es alta, atribuido a la existencia de una capa de agua en la superficie de la hoja donde existe una mayor cantidad de manchas en el envés. Las hojas secas adheridas a las plantas representan una excelente fuente de inóculo (Gauhl 1994). En relación a la temperatura, se estima que las ascosporas de *M. fijiensis* germinan entre 10 a 38°C, considerándose óptimo 27°C; observándose que la velocidad relativa del crecimiento de los tubos germinativos de estas se deprimen fuertemente en temperatura menores de 20°C (Pérez y Mauri citados por Pérez, 1996). Con respecto al efecto del viento, se ha observado que la concentración de las conidiosporas en las plantaciones es alta en las capas inferiores del aire, en comparación con el follaje, mientras que la concentración de las ascosporas en el aire es la misma en ambas alturas, lo cual indica su importancia en el ciclo de la enfermedad (Stover 1984, Gauhl, 1994).

## 2.3.4 Medidas de control

**2.3.4.1 Uso de fungicidas:** La Sigatoka negra se controla fundamentalmente mediante la aplicación de fungicidas, ya que las restantes alternativas no han brindado un control aceptable en el contexto productivo (Henderson *et al.*, 2006). El manejo de esta



enfermedad basado solamente, en el uso de productos químicos es posible; pero implica un costo muy elevado, especialmente para los pequeños y medianos productores que son los más afectados (Cordeiro *et al.*, 1998).

**2.3.4.2 Uso de genotipos resistentes:** Debido al alto costo de los fungicidas, a la no disponibilidad de estos por parte del pequeño agricultor, al problema recurrente de la resistencia del patógeno a los fungicidas convencionales y a los daños medioambientales que provoca su utilización, está claro que ante dicha situación, los genotipos resistentes ofrecen el único método de control viable y durable, sin cambiar las técnicas tradicionales de manejos que utilizan los productores (Raut y Ranade, 2004).

Los bananos y plátanos son cultivos difíciles de mejorar genéticamente, debido a que la mayoría de las variedades importantes y populares son estériles, no producen semillas y en su mayoría son partenocárpicas (Heslop-Harrison y Trude, 2007). A pesar de esto, los programas de mejoramiento genético por hibridación, han obtenido cierto progreso en años recientes y como resultado empiezan a aparecer nuevas variedades disponibles para su evaluación. Por ejemplo, la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA) ha desarrollado híbridos resistentes (FHIA-01, FHIA-03, FHIA-18, FHIA-21, FHIA-25) (FHIA, 2007) a la SN, así como el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) en Nigeria ha desarrollado híbridos de plátanos (TMPx 548-4 OL x C4, TMPx 548-9 OL x C4, TMPx 582-4 BT x C4, TMPx 1621-1 OL x C4, TMPx 1658-4 OL x PL, TMPx 2637-49 OL x C4, TMPx 2796-5 BT x PL, TMPx 4479-1 BT x C4, TMPx 4698-1 OL x C4, TMPx 4744-1 OL x C4, TMPx 5511-2 OL x C4, TMPx 5706-1 OL x C4, TMPx 6930-1 OL x C4, TMPx 7002-1 OL x C4) (Ortiz y Vuylsteke, 1994). A pesar de estos resultados, aún se consideran insuficientes los resultados en materia de mejoramiento genético de *Musa*, y se continúan las investigaciones para obtener plantas resistentes a través de la transformación genética.

**2.3.4.3 Control biológico:** Marín *et al.* (2003) refieren que en la actualidad ha aumentado el interés de encontrar alternativas biológicas para el control de la SN.

Algunos géneros y especies bacterianas tales como: *Pseudomonas*, *Serratia entomophyla*, *Serratia marcescens* y *Bacillus cereus* han sido utilizados para el control de *M. fijiensis* (Riveros *et al.*, 2003). Sin embargo, en ninguno de estos casos, los metabolitos con actividad antifúngica han sido identificados y la mayor parte de los experimentos se realizan en condiciones *in vitro* y en casa de cultivo.



Serenade (Edgecomb y Manker, 2005), elaborado a partir de *Bacillus subtilis*; es el único producto biológico con resultados discretos en el control de *M. fijiensis*, o al menos que haya sido referido en la literatura científica hasta la fecha.

Pérez (1996) señala que en Cuba, a partir de 1991, se implementó un programa de manejo basado en un enfoque integrado en las principales plantaciones del país. Las plantaciones de clones susceptible que no reciban tratamientos fungicidas deben ser sustituidas con clones resistentes, y como una vía para obtener una drástica reducción de inóculo en los campos que crecen cercanos a plantaciones comerciales importantes.

**2.3.4.4 Uso de extractos vegetales:** La búsqueda de compuestos útiles para el control de plagas y enfermedades de importancia económica en la agricultura ha despertado interés en el estudio de extractos vegetales. Investigaciones han demostrado actividad biológica de extractos de algunas especies de plantas sobre el crecimiento de microorganismos patógenos (Ribeiro y Bendendo, 1999); (Ferreira *et al.*, 2005). Gran parte de estas evaluaciones se basan en el uso de extractos crudos (Ficker *et al.*, 2003).

Los productos naturales son menos agresivos para el ambiente y representan una fuente alternativa de productos naturales en la agricultura. El uso de extractos vegetales actúan como biocontroladores, debido a la presencia de metabolitos secundarios (MS) (Ducrot, 2005).

Actualmente se sabe que estos metabolitos secundarios (MS) tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas, por tanto, en los últimos años, se está retornando al uso de las plantas como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana (Mansaray, 2000; Ottaway, 2001).

Estudios realizados por (Ribeiro y Bendendo, 1999), demuestran que extractos acuosos de bulbos de *Allium sativum* L, hojas de *Mentha piperita*, hojas de *Ricinus communis* y frutos de *Capsicum* spp. Mostraron actividad antifúngica en colonias aisladas de *Colletotrichum gloeosporioides*. Penz. Otros experimentos sobre el uso de extractos vegetales, demuestran que los extractos de *Copaifera langsdorfii* produjeron un efecto inhibitorio del crecimiento de *C. gloeosporioides* y *Bipolaris sorokiniana* (Amorim *et al.*, 2004). *B. sorokiniana* constituye el hongo causante del tizón o mancha foliar en trigo y cebada (Gilchrist-Saavedra *et al.*, 2005).

Según Jonh *et al.*, (2004), extractos acuosos de tamarindo (*Tamarindus indica*, L.) suprimieron el crecimiento de hongos como *Phytophthora palmivora* Butler, *Rhizoctonia bataticola* (Taub), *Sclerotium rolfsii* (Sacc.), en niveles superiores al 81 %.



Zapata *et al.* (2003), evaluaron el efecto de extractos vegetales (EV) de Cardón lefaría (*Cereus deficiens* otto & diert) sobre el desarrollo *in vitro* de 10 hongos fitopatógenos, crecidos en papa-dextrosa-agar (PDA) con 0, 25, 50 y 75 % de los extractos. Los resultados indicaron un efecto significativo de los EV sobre la reducción del crecimiento micelial de todos los hongos.

Estudios realizados por (Viveros y Castaño, 2006) demuestran un aporte al control de *M. fijiensis*, utilizando *in vitro* extractos de 30 especies de plantas en diferentes concentraciones 25, 50, 75 y 100%, donde el uso de los extractos vegetales de las 30 especies evaluadas mostraron efectos por lo menos en una de las concentraciones sobre el radio de inhibición y desarrollo de colonias de *P. fijiensis*; también se resaltó el efecto de canela (*Cinnamomum verum* J.Presl) al 75 y 100% y el extracto de Neem (*Azadirachta indica* Juss) al 75%, cuyos efectos, en particular el de la canela, fueron similares a los de los fungicidas evaluados conservando su persistencia a través del tiempo.

Arciniegas *et al.* (2002) realizaron la evaluación de extractos etanólicos (EE) crudos a partir de diferentes partes de las plantas pertenecientes a trece familias, entre las que se encontraba la Piperaceae. Diferentes concentraciones de estos extractos se estudiaron bajo condiciones *in vitro* y se midió el efecto de la actividad antifúngica contra *M. fijiensis*. De veinte extractos etanólicos, solo los de ocho especies (*Commelina difussa* Burm, *Momordica charantia* L, *Pavonea* sp., *Plenas* sp., *Sida rhombifolia* L, *Syzygium aromaticum* L, *Piper hispidum* Sw y *Piper peltatum* L) mostraron actividad antifúngica, tanto en germinación de esporas como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis*, y en algunos casos eran más efectivos que el fungicida comercial propiconazole, por lo que estos extractos fueron rotulados como promisorios. El fraccionamiento de estos extractos crudos mediante diclorometano reveló que los constituyentes antifúngicos activos en la planta son reencontrados en una u otra de las fracciones analizadas. Estos resultados podrían permitir aislar estos compuestos para utilizarlos como sustancias promisorias para el control de la sigatoka negra.

Obledo *et al.* (2004) evaluaron la actividad anti fúngica *in vitro* del extracto etanólico (EE) de orégano mexicano (*Lippia graveolens* L), ajo (*Allium sativum* L) y pasto limón (*Cymbopogon citratos* (DC.) Stapf) sobre Sigatoka negra, siendo seleccionado este último por su eficiente actividad y bajo costo; aunado a esto fue sugerido en esta investigación como producto comercial, en sustitución de los químicos Bravo 720, Coloso, Calixim y Tilt.



En busca de nuevas alternativas de control de *M. fijiensis* Hernández (2004) evaluó los EE de *Heliotropium indicum*. L, *Lippia origanoides* L y *Phyllanthus niruri* L, asperjados sobre plantas de plátano Hartón y Titiaro de 45 días de edad y sobre hijos de plátano Hartón y cambur manzano. Se determinaron las variables de hoja más joven manchada (HMJM), promedio ponderado de infección (PPI), índice de infección (II), número de hojas totales promedio (NTH) y la emisión foliar (EF), obteniendo diferencias significativas a los 45 días en “Plátano Hartón”, donde se observó que aquellas plantas tratadas con los EE de *H. indicum* presentaron una disminución del PPI e II en un 3,11 y 31,10 %, respectivamente, con relación al testigo, aunado a esto se evidencio un aumento en los valores de EF, HMJM y NTH del 100,47; 41,30 y 7,20 % respectivamente.

En estudios realizados por Marín *et al.* (2008) demuestran que el hongo *M. fijiensis* presenta susceptibilidad a las aplicaciones de extractos naturales de limoncillo (*Swinglea glutinosa* Blanco Merr), salvia (*Salvia officinalis* L.), papaya (*Carica papaya* L.) y neem (*Azadirachta indica* Juss), lo que permite que estos extractos puedan ser utilizados para el control de dicho patógeno en una producción limpia y sostenible del plátano.

#### **2.3.4.4.1 Metodología para realizar Extracciones**

##### **Extracción por el método de lixiviación:**

Con el material vegetal pulverizado se llena una columna de extracción hasta las dos terceras partes de su capacidad. Se adiciona una solución de etanol al 20 % (solvente) hasta llenar completamente la columna y se deja en reposo hasta el día siguiente.

Se abre la llave de la columna para evacuar el etanol-extracto, el cual se colecta en un erlenmeyer de buena capacidad. Una vez evacuado todo el etanol, se agrega más solvente y se deja eluir por la columna. Esta operación se repite hasta que la coloración del solvente eluido sea muy débil, lo cual indica que no se están extrayendo más compuestos. Generalmente ésto se logra con cinco veces el volumen del solvente, en relación con el peso de material vegetal, siendo en este caso de 1kg. Finalmente, el extracto obtenido se somete a evaporación para obtener el extracto bruto.

##### **Extracción por el método de maceración:**

El material vegetal pulverizado se deposita en un recipiente de buena capacidad, de manera que éste no ocupe más de las dos terceras partes del mismo. Se agrega una solución de etanol al 40 % en una proporción de cinco veces el peso del material pulverizado. La mezcla se deja en reposo por 10 días, agitándola periódicamente con movimientos circulares. Después de 10 días, el material se filtra y se colecta en un



erlenmeyer de buena capacidad. El solvente se retira mediante evaporación quedando un extracto semisólido.

#### **Extracción por el método de Soxhlet:**

Se llena completamente con material vegetal pulverizado, la campana de extracción de un equipo Soxhlet. En un balón de vidrio se deposita etanol al 80 % hasta un 75 % de la capacidad del mismo y se conecta a la campana de extracción. El balón con el alcohol es calentado, iniciándose el proceso de extracción continua, hasta que el etanol pierde coloración, lo cual puede tardar varios días.

Al material así obtenido, se le retira el solvente mediante evaporación y se obtiene una pasta semisólida que se denomina extracto bruto.

#### **2.4 Variables utilizadas para la evaluación de la Sigatoka negra en condiciones de campo.**

Para la evaluación de la evolución de la enfermedad en condiciones de campo, los primeros trabajos solamente anotaban las variables: hoja más joven manchada (HMJM) al momento de la floración y el número de hojas erectas (NHE) al momento de la floración y la cosecha (Vakili, 1968).

El proceso infectivo de *M. fijiensis* puede desglosarse utilizando numerosas variables que incluyen: periodo de incubación, tiempo de desarrollo de la enfermedad, período de latencia sexual y asexual, capacidad de esporulación asexual y sexual, número de lesiones necróticas, tamaño de las lesiones necróticas y tasa de desarrollo de los síntomas (Abadie *et al.*, 2003) (Figura 3).

Con estas dos variables se calculaba una tercera denominada índice de hojas no manchadas (IHNM), la cual significa la proporción de hojas en pie sin los síntomas típicos de la última etapa de la Sigatoka negra; o sea, una mancha negra con el centro necrosado (Ortiz y Vuylsteke, 1997).

Adicionalmente, algunas variables relacionadas con la epifitología de la enfermedad en condiciones naturales también han sido utilizadas en la evaluación de la Sigatoka negra.

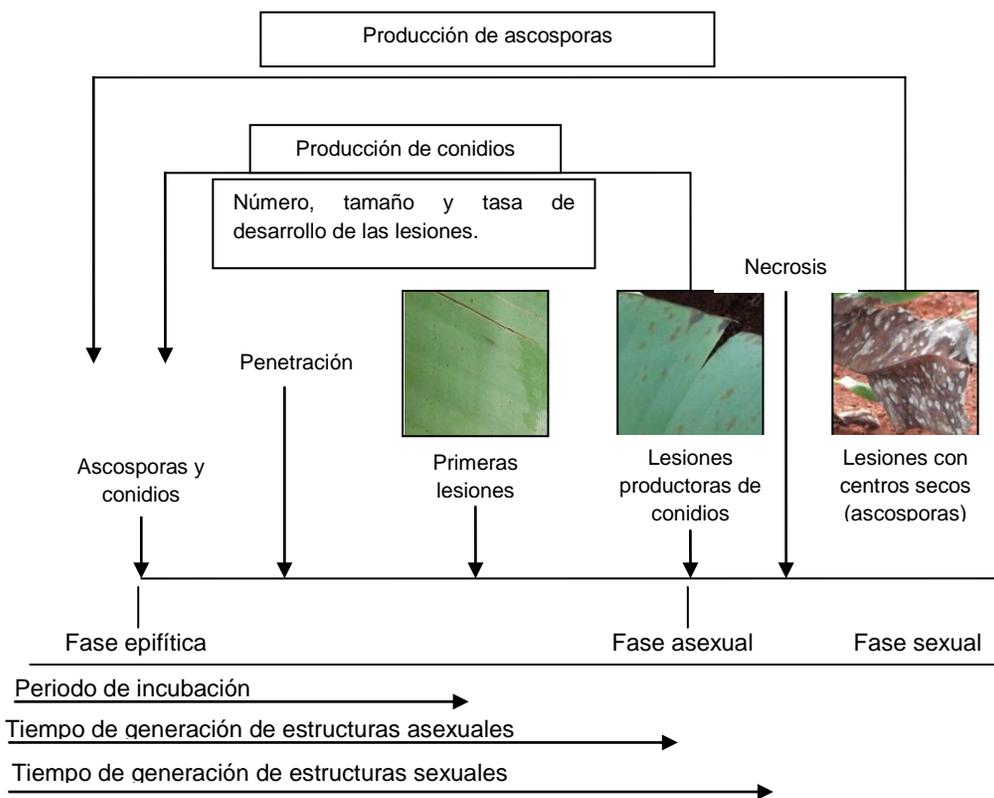


Figura 3. Variables cuantitativas asociadas con el proceso infeccioso de *M. fijiensis*, acorde con lo descrito por Abadie *et al.* (2003).

Entre ellas, el período de incubación, el tiempo de evolución de los síntomas y el tiempo de desarrollo de la enfermedad (Gauhl, 1994).

### 2.4.1 Período de incubación

El período de incubación es el tiempo entre la infección y la aparición de los primeros síntomas sobre la hoja que coinciden con pequeñas marcas despigmentadas de color amarillo o blanco por el envés de las hojas y que no son visibles en luz transmitida. Los resultados de algunas pruebas de campo han indicado que este varía según la susceptibilidad de los genotipos, de las condiciones climáticas, así como del potencial de inóculo y de la intensidad de la infección (Meredith y Lawrence, 1970).

### 2.4.2 Período de latencia

Se define como el tiempo que media entre la infección y la aparición de las primeras estructuras reproductivas producidas por el patógeno. En el caso particular de *M. fijiensis* existe un periodo de latencia asexual (cuando se producen los primeros conidios luego de la infección) y un periodo de latencia sexual (cuando se producen las primeras



ascosporas). El mismo puede variar en dependencia de la susceptibilidad del genotipo, intensidad de la infección así como de las condiciones medioambientales. El periodo de latencia sexual también se define como Tiempo de desarrollo de la enfermedad (Fouré *et al.*, 1984, Gauhl, 1994, Marín *et al.*, 2003).

### **2.4.3 Tiempo de evolución de los síntomas**

El tiempo de evolución de los síntomas, varía con la susceptibilidad del genotipo y las condiciones ambientales predominantes (Gauhl *et al.*, 2000). También se ha definido como la duración en días de la evolución de los síntomas desde el estado 1 al 6 acorde con la escala propuesta por Fouré (1985) (Hernández y Pérez, 2001).

### **2.4.4 Tiempo de desarrollo de la enfermedad**

En condiciones de campo, se define como el tiempo expresado en días entre el estadio B de la hoja candela y la aparición de manchas necróticas con centro grises y secos (aparición de diez o más lesiones discretas, necrosadas y maduras con centro seco).

### **2.4.5 Severidad de la enfermedad**

La severidad de la enfermedad se define como la extensión del área necrosada de la hoja infectada por el patógeno. La misma puede expresarse en porcentaje (escalas cuantitativas) o en grados de afectación según descripciones cualitativas. En condiciones de campo la severidad causada por *M. fijiensis*, se evalúa de acuerdo con la escala de Stover modificada por Gauhl, en la cual se le asigna a cada hoja un valor que se corresponde con el porcentaje del área necrótica que presenta. Para cada planta se puede calcular el índice de infección (Gauhl, 1994), el cual expresa la magnitud del daño causada por la enfermedad.

## **2.5 Variables utilizadas para la evaluación de la Sigatoka negra en condiciones semicontroladas**

Para la evaluación de la evolución de la enfermedad en condiciones semi controladas, Alvarado *et al.* (2003) y Leiva *et al.* (2004) proponen tener en cuenta el período de incubación, período de transición o tiempo de evolución de los síntomas y desarrollo de la enfermedad en el tiempo definiendo las variables mencionadas de la manera siguiente:

**Período de incubación:** Tiempo entre la infección y la aparición de las primeras lesiones puntiformes por el envés de la hoja (días).



**Período de transición o tiempo de evolución de los síntomas:** Número de días entre la aparición de los primeros síntomas (lesiones puntiformes) y la aparición de manchas necróticas con centros secos.

**Desarrollo de la enfermedad en el tiempo:** Período entre la inoculación y la aparición de lesiones maduras (manchas necróticas con centros secos).

Leiva *et al.* (2004) constataron que mediante el empleo de una escala cualitativa del estado de los síntomas y las variables cuantitativas tiempo de evolución de los síntomas y tiempo de desarrollo de la enfermedad se pudieron diferenciar cultivares de banano que mantuvieron en casa de cultivo una respuesta similar a la observada en campo.

## **2.6 Métodos de evaluación de la resistencia de genotipos de *Musa* spp. frente a *M. fijiensis***

### **2.6.1 Evaluación en campo**

La evaluación en campo fue durante mucho tiempo el único método disponible para seleccionar los genotipos de *Musa* resistentes a la SN. Aunque es relativamente simple, está condicionada por factores medioambientales (clima, suelo, temperatura, humedad) que pueden afectar el fenotipo de la resistencia (Chaerani, 2006). Además, un gran número de observaciones se requieren debido a irregularidades en la distribución de la densidad de inóculo y el desarrollo de la infección. Las condiciones variables y el alto costo del mantenimiento de las plantaciones en condiciones de campo, hacen que los procesos de evaluación sean inconvenientes como una prueba rápida para identificar genotipos resistentes. Las evaluaciones en el campo además deben estar validadas por la comparación de los genotipos de interés con genotipos de referencia en pruebas multilocales.

INIBAP entre sus principales resultados ha elaborado documentos que proveen información útil para la evaluación de la resistencia a *M. fijiensis*, en las cuales se proporciona un listado de los genotipos referenciados contra los cuales deben ser evaluados los genotipos locales de interés (Orjeda, 1998; Carlier *et al.*, 2002 y Carlier *et al.*, 2003). Además, se han proporcionado esquemas para el establecimiento de las parcelas experimentales en sitios con la suficiente presencia del patógeno, se han publicado guías prácticas que describen caracteres morfológicos claves para la identificación de *M. fijiensis* y se han facilitado los diseños experimentales más apropiados con sus prácticas agronómicas. También se describen las variables necesarias para la evaluación de la enfermedad y la recolección de la información ambiental que debe ser registrada (Carlier *et al.*, 2003).



Sin embargo, en campo no solo se han evaluado plantas adultas sino también plantas jóvenes, aunque sin control en la presión de inóculo. En este sentido, Mobambo *et al.* (1994) validaron el uso del método sobre todo para países donde se dificulta el empleo de la evaluación *in vitro* o la evaluación temprana de plantas jóvenes de *Musa*. Sus resultados fueron comparables con los obtenidos en plantas adultas y contribuyeron a disminuir al menos la mitad del tiempo necesario para conocer la respuesta de las plantas a la enfermedad.

Sin embargo, las evaluaciones en condiciones de campo pueden ser interferidas por la presencia de otros hongos fitopatógenos y plagas, el desarrollo de la enfermedad puede limitarse en dependencia de las condiciones ambientales que se presenten durante el ciclo del cultivo o durante el período de evaluación, la presión de inóculo no es uniforme (Chaerani, 2006); lo cual puede enmascarar la expresión de la resistencia.

El INIBAP a través de sus guías técnicas, mantiene un listado de material vegetal disponible e indizado contra virus (Yangambi km 5 Altamente resistente ITC1123, Calcutta 4 Altamente resistente ITC0249, Pisang lilin Parcialmente resistente (alto) ITC1400, Pisang Ceylan Parcialmente resistente ITC1441, Pisang Berlin Susceptible ITC0611, Grande naine Susceptible ITC1256), los cuales deben incluirse en los experimentos como controles o referencias para la evaluación de la resistencia de los nuevos genotipos mejorados (Carlier *et al.*, 2003).

Pérez *et al.* (2004) estudiaron la variabilidad de *M. fijiensis* y estabilidad de la resistencia a SN de los clones híbridos de la FHIA en Cuba en condiciones de campo y concluyeron que los clones de la FHIA en la provincia de La Habana y Baracoa mostraron resistencia elevada a la enfermedad, mientras los niveles de ataques y producción de peritecios en la provincias de Ciego de Ávila fue similar a la de los clones susceptibles y mucho más intensa que la observada en los años 1994 y 1995 cuando los clones con resistencia parcial fueron introducidos en Cuba por primera vez.

La aparición de nuevos genotipos virulentos de patógenos capaces de vencer la resistencia de variedades resistentes, es un fenómeno de presión de selección direccional, determinado en gran medida por las 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 derplank, 1963, 1968).



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), ubicado en el Municipio Santo Domingo, provincia Villa Clara, situado a una latitud 22° 35' Norte, longitud 80° 18' Oeste y altitud 45.35 msnm; el mismo se desarrolló en el período comprendido entre febrero de 2009 y marzo de 2010.

El experimento se realizó en un suelo Pardo Mullido Medianamente Lavado, según la nueva versión de clasificación de los suelos de Cuba (Hernández *et al.*, 2006).

El diseño experimental empleado fue un Bloque al Azar con cuatro repeticiones, con la distribución aleatoria de cultivares de *Musa* spp. (banano, primer bloque y plátano, segundo bloque) (Anexo 1), evaluándose cinco plantas por cultivar.

Los cultivares objetos de estudio fueron:

1. 'Gran Enano' (AAA)	Cultivar de referencia
2. 'FHIA 18' (AAAB)	Cultivar de referencia
3. 'FHIA 25' (AAA)	Cultivar de referencia
4. 'H-10' (AAAB)	Cultivar mejorado
5. 'Manzano INIVIT' (AAB)	Cultivar mejorado
6. 'CEMSA ¾' (AAB)	Cultivar de referencia
7. 'INIVIT PV 06-30' (AAB)	Cultivar mejorado
8. 'TMP-3 Nigeria' (AAAB)	Cultivar de referencia
9. 'FHIA 21' (AAAB)	Cultivar de referencia
10. 'Selección INIVIT' (AAAB)	Cultivar mejorado

Como material de propagación se emplearon cormos (calibre B) de los cultivares mejorados (híbridos obtenidos por el Programa de Mejoramiento Genético de Bananos y Plátanos del INIVIT) y de los cultivares de referencias procedentes del Banco de Germoplasma de bananos y plátanos del INIVIT.

En relación a los cultivares mejorados en los Anexos 2, 3, 4 y 5 se brinda información de las principales características morfoagronómicas de dichos genotipos.



Tabla 6: Datos generales del diseño experimental en áreas del INIVIT.

<b>Campo # 9</b>	
Fecha de plantación	22/febrero/09
Distancia de plantación	3,60 m X 2,00 m
Área bruta	0,47 ha
Área neta	0,30ha
Relleno	0,17 ha
Parcelas	10 plantas por parcela
Cantidad de surcos	Ocho

Para determinar la respuesta de susceptibilidad de los cultivares a la enfermedad se comenzó a evaluar la evolución de esta a partir del mes de noviembre del mismo año. Se efectuaron monitoreos semanales y toda la información fue dispuesta en modelos elaborados al efecto. (Anexo 6).

La evaluación en campo para conocer el desarrollo y evolución del proceso infestivo de *M. fijiensis* en genotipos de *Musa* spp. está condicionada por factores medioambientales (clima, suelo, temperatura, humedad) que pueden afectar el fenotipo de la resistencia (Chaerani, 2006).

Es por ello que se registra la información ambiental (temperatura, humedad, y precipitaciones) durante el período que se efectuaron los muestreos. Dicha información fue suministrada por la Estación Meteorológica del INIVIT (Anexo 7).

Las labores de preparación de suelo y el resto de las actividades culturales se efectuaron según los requerimientos del cultivo, de forma tal que permitiera un desarrollo adecuado de las plantas y en correspondencia con lo indicado en el Instructivo Técnico del cultivo del plátano (Cuba, 2008). No se efectuaron aplicaciones de ningún tipo de fungicidas.



### 3.1. Evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de *M. fijiensis* en cultivares de *Musa* spp.

#### 3.1.1. Cultivares de Bananos

#### 3.1.2. Cultivares de Plátanos

Para la evaluación del desarrollo de la enfermedad, se tuvo en cuenta los seis estadios de la misma (Fouré, 1982) y parámetros propuestos por (Orjeda *et al.*, 1998).



Figura 4: **Estadio 1:** Primer síntoma externo de la enfermedad. Aparece como una pequeña mancha de color blancuzco o amarillo. Estos síntomas solo son visibles en el envés de las hojas.



Figura 5: **Estadio 2:** Surge como una raya, generalmente de color café y visible en el haz de la hoja; más adelante este síntoma también aparece como una raya en la parte de arriba del limbo.



Figura 6: **Estadio 3:** Se diferencia del anterior en sus dimensiones. La raya se hace más grande, puede alcanzar una longitud de 2 a 3 cm.

**Estadio 4:** Aparece en el envés de la hoja como una mancha café y en la parte de arriba como una mancha negra.

**Estadio 5:** La mancha elíptica se vuelve totalmente negra y se extiende al envés de la hoja, esta mancha tiene un halo amarillo que la rodea.



Figura 7: **Estadio 6**. El centro de la mancha se seca, adquiere color gris claro y lo rodea un anillo bien definido de color negro, rodeado a su vez por un halo de color amarillo brillante.

Se utilizaron los criterios de Orjeda *et al.* (1998) para evaluar las siguientes variables:

#### Evaluaciones realizadas en campo

- ◆ **Número de hojas / planta:** Se determinó la media de las hojas por planta en cada evaluación en la floración y en la cosecha.
- ◆ **Periodo de Incubación (PI días):** Expresa los días entre la etapa Brun (B) y la aparición de los primeros síntomas.
- ◆ **Tiempo de Evolución del Síntoma (TES días):** Nos referimos a los días entre la presencia de los primeros síntomas y la aparición de manchas con centro seco.
- ◆ **Tiempo de Desarrollo de la Enfermedad (TDE días):** Hacemos referencia, a la cantidad de días entre estado de Brun (B) y la aparición de la mancha con centro seco.
- ◆ **Hoja más Joven Manchada con más de 10 lesiones (HMJM):** Expresa la primera hoja con manchas (10) con un centro necrosado seco.
- ◆ **Índice de Severidad (IS):** Expresa la magnitud del daño causada por la enfermedad. Puede expresarse en porcentaje (escalas cuantitativas) o en grados de afectación según descripciones cualitativas.

En condiciones de campo la severidad causada por *M. fijiensis*, se evaluó de acuerdo con la escala de Stover (1971) modificada por Gauhl (1989), en la cual se le asigna a cada hoja un valor que se corresponde con el porcentaje del área necrótica.



Escala de Stover (1971) modificada por Gauhl (1989).

Clave o grados	
0	Sin síntomas
1	Menos de un 1% de la lámina con síntomas (únicamente líneas y/o hasta 10 manchas)
2	1 a 5 % de la lámina con síntomas
3	6 a 15% de la lámina con síntomas
4	16 a 33% de la lámina con síntomas
5	34 a 50% de la lámina con síntomas
6	51 a 100% de la lámina con síntomas

Teniendo en cuenta el Sistema de Calificación de la Severidad de la Sigatoka Negra (Figura 8).

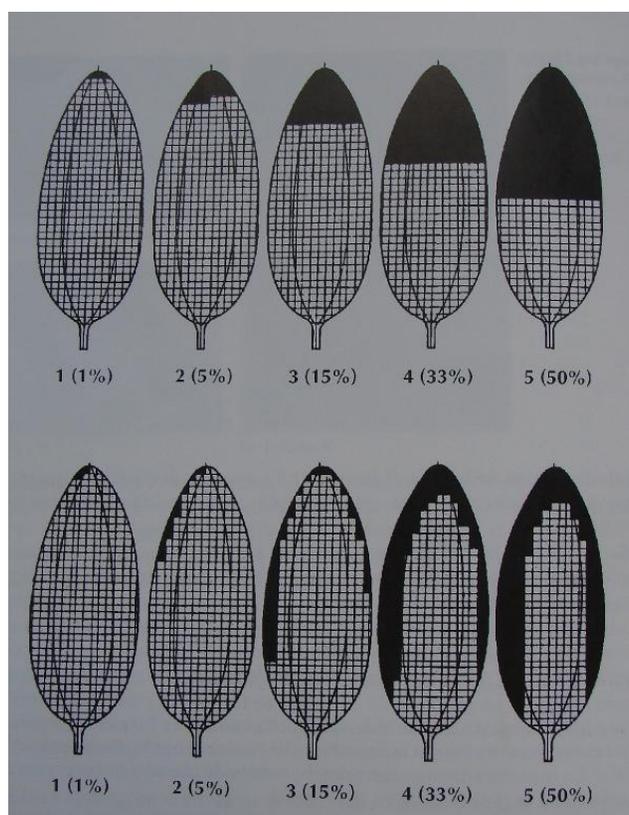


Figura 8: Sistema de calificación de Stover (1971) modificado por Gauhl (1989) para determinar la severidad de la SN.

El Índice de Severidad (IS), fue calculado mediante la fórmula de Townsend y Heuberguer (Orjeda *et al.*, 1998).



$$IS = \sum nb \div (N - 1)T \times 100$$

**Donde:** IS= Índice de severidad

n= Número de hojas en cada grado.

b= Grado.

N= Número de grados empleados en la escala.

T= Número total de hojas evaluadas.

Este índice es utilizado por Krishnamoorthy *et al.* (2004) como expresión de resistencia /tolerancia a la enfermedad, este autor propone la siguiente escala:

Clones con <b>Resistencia total</b> o inmunidad	IS = 0
Clones <b>Resistente</b>	IS ≤ 10%
Clones que expresan <b>Tolerancia</b>	IS hasta un 30%
Clones <b>Susceptibles</b>	IS mayor de 30%

### 3.2. Comparación de la respuesta frente a *M. fijiensis*, de cultivares mejorados y de referencia de *Musa spp.*

La comparación de la respuesta frente a la enfermedad SN de los cultivares de *Musa spp.* mejorados y de referencia objeto de estudio en la presente investigación se realizó mediante un exhaustivo análisis de los resultados de todas las mediciones de los parámetros propuestos por (Orjeda *et al.*, 1998) descritos en el epígrafe 3.1.

Para la presentación de los resultados se tuvo en cuenta la respuesta de los cultivares mejorados a la reacción (Resistencia) según la escala propuesta por (Krishnamoorthy *et al.*, (2004).

Toda la información fue recogida en hojas de datos Excel y procesadas estadísticamente mediante análisis de varianza de clasificación simple y la comparación múltiple de medias según Dunnett 'C para la variable 'días'. En el caso de la variable 'Índice de severidad' el análisis estadístico consistió en el empleo del procedimiento no paramétrico según Kruskal-Wallis con posterior comparación de medias de rango por Mann-Whitney. Para



esto se utilizó el paquete estadístico SPSS/PC ver. 9.00 para Windows. Se complementó el procesamiento estadístico con un método multivariado (análisis de cluster) para graficar las respuestas de los cultivares de manera global mediante (Statgraphics ver. 5).

### 3.3. Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo de la enfermedad.

Para la selección de las plantas se tuvo en consideración resultados obtenidos por diversos autores que demuestran el efecto alelopático y la actividad antifúngica con efectos significativos sobre la reducción del crecimiento micelial y desarrollo de colonias de *P. fijiensis*.

De estos resultados reportados en la literatura tomados como referencia para la selección del material vegetal empleado en el estudio, sobresalen el empleo de Cundeamor (Arciniegas *et al.* 2002), Caña Santa (Obledo *et al.* 2004), Limoncillo y Salvia (Marín *et al.* 2008).

La descripción botánica de las especies anteriormente citadas y usadas en el estudio se refleja en el Anexo 8.

Tabla 7. Especies botánicas empleadas como fuente de los extractos evaluados.

Nombre vulgar	Nombre Científico	Familia
Cundeamor	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae
Caña Santa	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Poaceae
Salvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiáceae
Limoncillo	<i>Swinglea glutinosa</i> (Blanco) Merr	Rutaceae

#### Colecta y preparación del material vegetal.

El material vegetal fue colectado en áreas del *campus* universitario de la Universidad Central “Martha Abreu” de las Villas, Santa Clara, provincia Villa Clara. Creciendo sobre un suelo Pardo Sialítico (Hernández *et al.*, 2006), entre las 9:00 am y 11:00 am en el período de Junio a Julio de 2010.

De las plantas colectadas se utilizaron las partes aéreas (hojas jóvenes y viejas), en fases fenológicas de floración y/o fructificación. El proceso de secado tardó 72 horas en condiciones naturales y un ligero secado a 60°C en estufa durante 24 horas (Puente, 2007) Anexo 9. Después dichas muestras se molinaron mecánicamente, hasta obtener



partículas de 0,5 mm de diámetro (Arora *et al.*, 2003; Hoque *et al.*, 2004; Macías *et al.*, 2005).

El proceso de preparación del material vegetal se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Alelopatía en el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), perteneciente a la Universidad Central de La Villas.

### **Obtención de los extractos**

El proceso de extracción se realizó siguiendo la metodología descrita por An *et al.* (1997); Sandoval (2005); y Palma *et al.* (2006). Para lo cual se tomaron 100g del material seco y molido de cada una de las especies de plantas especificadas (Tabla 7) y se le adicionaron 2000 mL de agua destilada a cada una de estas. Luego las soluciones acuosas obtenidas se colocaron en un baño ultrasónico (Branson1500, México) durante 30 min. a una frecuencia de 72 Hz, y fueron filtrados a través de un papel de filtro 389 de filtración rápida (Filtrak, Alemania) con el objetivo de eliminar los restos de tejidos vasculares de las plantas. Para posteriormente ser envasados en recipientes plásticos y almacenados en refrigeración, hasta el momento de su aplicación. De esta forma quedaron preparados los extractos.

#### *3.3.1. Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas*

El estudio se realizó en el Laboratorio de Manejo de Plagas del INIVIT, para lo cual se utilizó el aislado CCIBP-Pf5 de *Pseudocercospora fijjensis* (Morelet) Deighton perteneciente a la colección de cultivos microbianos del Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Biotecnología de las Plantas. El medio de cultivo utilizado para su multiplicación fue Agar Papa y Dextrosa (BioCen) (Mourichon *et al.*, 1987; Leiva *et al.*, 2004).

Se inocularon 300µl de una suspensión micelial ( $10^5$  fragmentos micelio.mL<sup>-1</sup>) en tubos de ensayo de 150 x 22 mm con 15 mL del medio de cultivo PDA Estos se incubaron a 27°C en una incubadora Memmert (Alemania) durante 20 días.

Transcurrido este período de tiempo, se adicionaron a los tubos cinco mL de agua desionizada estéril más Tween 80 al 0.05% (Figura 9). Se removieron en agitador Vortex (Heidolph Top Mix 94 323) a 7 rpm durante un minuto para la separación de los conidios del micelio del hongo.



Figura 9. Preparación de suspensiones conidiales de *P. fijiensis*.

Se evaluó la concentración de conidios. mL<sup>-1</sup> en el medio de cultivo empleado; se determinó en cámara de Neubauer por observación al microscopio óptico Olympus (aumento 100x).

### **Inoculación de plantas en condiciones semicontroladas**

Se utilizaron plantas del cultivar Gran Enano (susceptible a la enfermedad) de tres meses de edad que tenían aproximadamente 30cm de altura con más de 3 hojas activas, sembradas en bolsas de polietileno (15 x 20 cm.) con orificios para el drenaje del agua de riego y que contenían un sustrato compuesto por 50% de cachaza, 30% humus de lombriz y 20% de zeolita. (Figura 10). Las plantas procedían de la fase de aclimatización de la Biofábrica ubicada en la provincia de Sancti Spíritus.



Figura 10. Plantas aclimatizadas del cultivar Gran Enano empleadas para el estudio.

Las mismas se inocularon con suspensiones conidiales ( $10^5$  conidios.mL<sup>-1</sup>) con gelatina al 1%. La inoculación se realizó con un pincel sobre el envés de las tres hojas más jóvenes totalmente extendidas (Figura 11) según la metodología descrita por Leiva *et al.* (2004).



Figura 11. Inoculación de suspensiones conidiales de *P. fijiensis* por el envés de hojas del cultivar Gran Enano.

Se esperaron dos horas hasta que se secan las hojas, luego se elevó la humedad relativa al 100% durante tres días y después se garantizó una humedad relativa por encima del 70%. Se inocularon 10 plantas por tratamiento y, además, se incluyeron 10 plantas inoculadas sin tratar para ser utilizadas como controles. Las mismas se ubicaron completamente al azar en una casa de cultivo perteneciente al INIVIT. Diariamente se registró la temperatura y la humedad relativa mínima y máxima (Anexo 10) mediante un Hidrotermógrafo Alemán marca Fitcher.



Los tratamientos (T) que se utilizaron en esta investigación fueron los siguientes:

- **T<sub>1</sub>**= 90 mL extracto de Cundeamor + 10 mL de aceite de Neem.
- **T<sub>2</sub>**= 90 mL extracto de Salvia + 10 mL de aceite de Neem.
- **T<sub>3</sub>**= 90 mL extracto de Caña Santa + 10 mL de aceite de Neem.
- **T<sub>4</sub>**= 90 mL extracto de Limoncillo + 10 mL de aceite de Neem.
- **T<sub>5</sub>**= 3.84 g de Maconzeb PH (80%) en 500 mL de agua.
- **Control**= Aplicación con agua

Con el fin de evitar el fácil lavado de los productos naturales al momento de la aplicación se empleó como adherente natural en la aplicación de los extractos, el aceite de Neem, procedente del CREE “Rosa Elena Simeòn” ubicado en la provincia Mayabeque.

Se realizaron cinco aplicaciones de los productos (EV y fungicida), con intervalos de 15 días, iniciando en octubre y finalizando en diciembre de 2010.

El experimento se evaluó cada siete días desde la inoculación hasta los 71 días posteriores a la inoculación (dpi).

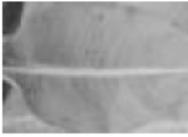
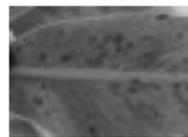
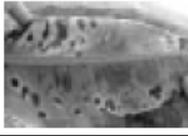
Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- **Período de incubación:** Tiempo entre la infección y la aparición de las primeras lesiones puntiformes por el envés de la hoja (días).
- **Período de transición o tiempo de evolución de los síntomas:** Número de días entre la aparición de los primeros síntomas (lesiones puntiformes) y la aparición de manchas necróticas con centros secos.
- **Desarrollo de la enfermedad en el tiempo:** Período entre la inoculación y la aparición de lesiones maduras (manchas necróticas con centros secos).

Para la evaluación cualitativa del desarrollo de los síntomas se utilizó la escala propuesta por Alvarado *et al.*, (2003).



Escala para la evaluación cualitativa del desarrollo de los síntomas en hojas de *Musa* spp. inoculadas con *P. fijiensis* (Alvarado *et al.*, 2003).

Estado	Descripción de los síntomas	
0	Hoja sin síntoma.	
1	Hoja con pequeñas lesiones puntiformes de coloración rojiza por el envés y sin síntomas por el haz.	
2	Hoja con manchas de contornos regulares o irregulares de coloración pardo-rojiza por el envés de la hoja y sin síntomas por el haz.	
3	Hoja con manchas de contornos regulares o irregulares de coloración pardo-rojiza por el haz.	
4	Hoja con manchas negras (elípticas o redondeadas) con bordes cloróticos y halo acuoso. La hoja mantiene áreas de tejido verde.	
5	Hoja con manchas negras con centros secos grises, las hojas pueden estar completamente necrosadas y colgar del pseudotallo.	

Los datos se analizaron estadísticamente, mediante el análisis de varianza de clasificación simple; en el caso de la variable evaluación que se realizó a los ocho días, los datos sufrieron una transformación igual a  $\sqrt{x+0.5}$  por la presencia de ceros en la muestra. La comparación múltiple de medias se realizó según la d'écima de Dunett´C por no encontrarse homogeneidad de varianza. Todo el procesamiento estadístico se realizó en el Laboratorio de Biometría del INIVIT.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de *M. fijiensis* en cultivares de *Musa* spp.

#### 4.1.1. Cultivares de Bananos

El proceso infestivo de *M. fijiensis* puede desglosarse utilizando numerosas variables (Abadie *et al.*, 2003)

En la Tabla 8 se puede observar la respuesta de la hoja más joven manchada (HMJM) y del número de hojas en la etapa de floración en cultivares de bananos.

Como se puede constatar, la primera hoja totalmente abierta que presentaba 10 ó más lesiones discretas necrosadas y maduras o un área grande necrosada con 10 centros secos de color gris claro, contando las hojas de arriba hacia abajo en los clones de bananos en estudio, arrojó que en los cultivares 'Gran Enano'; 'FHIA - 18'; 'FHIA - 25' y 'H 10', la HMJM apareció en las posiciones 5,90; 7,40; 10,2; y 9,16 respectivamente.

Los cultivares 'FHIA - 25' y 'H-10' respecto a esta variable como se observa en la referida tabla no presentaron diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ). El cultivar 'Gran Enano' presentó diferencias estadísticas significativas con respecto a los demás clones de banano en estudio.

Durante las observaciones se pudo comprobar que a pesar de que todas las hojas de la planta son igualmente susceptibles a *M. fijiensis*, las mayores infecciones ocurrieron sobre las hojas nuevas entre las emergentes y las completamente desarrolladas. Se pudo corroborar además, que de la primera a las terceras hojas más jóvenes abiertas son más susceptibles que el resto a la infección natural. Dichos resultados coinciden con lo expresado por Gauhl (1994).

En cuanto al número de hojas en el momento de la floración, el valor más favorable se manifestó en el cultivar 'FHIA 25' con 12,00 hojas sin mostrar diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ), con los cultivares 'H-10' y 'FHIA-18', (11,52 y 11.45 hojas respectivamente).



El cultivar 'Gran Enano' al llegar a la etapa de floración presentó 9,85 hojas, mostrando el valor más bajo en relación a los demás cultivares estudiados.

Valores inferiores a ocho hojas en el periodo de floración, pueden llegar a producir afectaciones en el correcto llenado del dedo y con ello una considerable disminución del peso del racimo, o sea, la planta requiere más de ocho hojas activas para un correcto desarrollo del fruto (Pérez *et al.*, 1993; Pérez, 1996; Pino, 1996; Álvarez, 1997; Craenen, 1998; Orjeda, 1998 y Cayón *et al.*, 1999).

Las variables: hoja más joven manchada (HMJM) al momento de la floración y el número de hojas erectas (NHE) al momento de la floración y la cosecha han sido tomadas en consideración para la evaluación de la evolución de la enfermedad en condiciones de campo y expresión de la susceptibilidad de cultivares a la SN por diferentes autores (Vakili, 1968; Pino, 1996).

En condiciones de campo, cuando genotipos susceptibles van a cosecharse, puede que no se observen hojas funcionales y todas estén completamente necrosadas. (Mourichon *et al.*, 2000).

En los casos en que se manifiesta una resistencia parcial extrema, el desarrollo de la enfermedad desde el estadio de rayas hasta la aparición de manchas necróticas es muy lento y la tasa de esporulación es baja. Como resultado las plantas al momento de la cosecha llegan con un mayor número de hojas funcionales y con ello el rendimiento no se ve tan afectado. (Mourichon *et al.*, 2000).

Sin embargo otros estudios de clones procedentes de programas de mejoramiento se ha observado, que este aspecto llega en ocasiones a enmascarar el resultado real (Cohan *et al.*, 2003)



Tabla 8: Comportamiento de la hoja más joven manchada (HMJM) y del número de hojas en la etapa de floración en cultivares de bananos.

Cultivar	HMJM	Hojas en floración
<b>Gran Enano</b>	5,90 c	9,85 b
<b>FHIA 18</b>	7,40 b	11,45 a
<b>FHIA 25</b>	10,2 a	12,00 a
<b>H-10</b>	9,16 a	11,52 a
<b>ES±</b>	0,39*	0,37*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ ).

En los bananos, el desarrollo de los racimos depende del potencial fotosintético de las hojas (Krishnamoorthy *et al.*, 2004). En el periodo que culmina con la emisión de la bellota o pámpana, en esta etapa la planta requiere un determinado número de hojas las cuales son fundamentales para llevar a cabo el llenado del dedo sin dificultad y de esta forma garantizar en gran medida el resultado reproductivo esperado según el potencial que tenga cada cultivar.

Coincidiendo con lo expresado por Gauh (1994), adicionalmente en la investigación se estudiaron algunas variables relacionadas con la epifitología de la enfermedad, entre ellas: el período de incubación, el tiempo de evolución de los síntomas y el tiempo de desarrollo de la enfermedad, que son expuestos en la Tabla 9.

Como se observa en la referida tabla, los valores de periodo de incubación de la enfermedad más altos se aprecian en el cultivar 'FHIA 25' con un intervalo de 51,65 días sin diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) con los cultivares 'H-10' (51,18 días) y 'FHIA 18' (47,90 días).

Es necesario destacar que en el cultivar 'Gran Enano' el período de incubación se produjo a los 26,43 días, mostrando diferencia estadística significativa con el resto de los cultivares estudiados.

El tiempo entre la infección y la aparición de los primeros síntomas sobre la hoja, o sea el período de incubación, como se pudo comprobar en la presente investigación varió en dependencia de la susceptibilidad de los cultivares en estudio, estos resultados coinciden con los obtenidos en algunas pruebas de campo por Meredith y Lawrence (1970) quienes concluyen que esta variable varía según la susceptibilidad de los genotipos.



Este parámetro en niveles muy bajos es característico en cultivares susceptibles a la enfermedad. Se ha comprobado que la resistencia también en muchos casos se explica por tener períodos de incubación y desarrollo mucho más prolongados, con relación a los clones conocidos como susceptibles. (Pérez *et al.*, 2002).

Tabla 9: Variables: Período de incubación **PI**, Tiempo de evolución del síntoma **TES** y Tiempo de desarrollo de la enfermedad **TDE** en cultivares de banano.

Cultivar	Variables		
	Período de Incubación (días)	Tiempo de evolución del síntoma (días)	Tiempo de desarrollo de la enfermedad. (días)
<b>Gran Enano</b>	26,43 b	36,85 c	65,28 c
<b>FHIA 18</b>	47,90 a	54,90 bc	102,80 b
<b>FHIA 25</b>	51,65 a	115,90 a	167,65 a
<b>H-10</b>	51,18 a	50,02 bc	99,96 b
<b>ES±</b>	2,04*	2,95*	3,14*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ )

Estudios realizados en cultivares de bananos por Armario *et al.* (2005) expresan que los valores más favorables en cuanto al índice de hojas en la escala de más joven manchada correspondieron a los clones FHIA 01 con un valor que no sobrepasó el 14,97% sin diferencia significativa con el clon FHIA 18 a pesar de presentar un porcentaje mayor (15,15%). Estos resultados coinciden con los criterios acerca de la tolerancia presente en estos cultivares a la Sigatoka negra reportados por otros investigadores como Cayón *et al.* (1996); Guzmán y Romero, (1996); Rowe, (1998); Echeverry y Gómez, (1998).

El Tiempo de Evolución del Síntoma (TES), o sea el número de días entre la aparición de los primeros síntomas y la aparición de lesiones necrosadas con centro gris, más prolongado se observó en el cultivar FHIA 25 (115,90 días), mostrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los cultivares. Los cultivares 'FHIA 18' y 'H-10' necesitaron para la evolución del síntoma un periodo de 54,90 y 50.02 días



respectivamente. Entre estos cultivares no se manifestaron diferencias estadísticas significativas.

El cultivar 'Gran Enano' exhibió el TES menos prolongado (36.85 días), mostrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los cultivares.

Estos resultados coinciden con lo expresado por Gauhl *et al.* (2000) quienes afirman que el TES, varía con la susceptibilidad del genotipo.

En las condiciones donde se evaluaron los cultivares de banano en esta investigación la aparición de diez o más lesiones discretas, necrosadas y maduras con centro seco, o sea el tiempo necesario para el desarrollo de la enfermedad (TDE) en el clon 'FHIA 25' tardó 167,65 días, valor que difiere estadísticamente ( $p < 0,05$ ) del resto de los cultivares.

Sin embargo, el desarrollo de la enfermedad en los cultivares 'FHIA - 18' y 'H-10' se produjo a los 102,80 y 99,96 días respectivamente. Mientras en el cultivar Gran Enano el desarrollo de la enfermedad ocurrió antes de los 70 días, mostrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los cultivares (Tabla 9).

Se pudo constatar que el tiempo de desarrollo de la enfermedad o también conocido como período de latencia varió en dependencia de la susceptibilidad del cultivar en las condiciones donde se efectuó el presente estudio, coincidiendo este resultado con lo expresado por (Fouré *et al.*, 1984); (Gauhl, 1994) y (Marín *et al.*, 2003).

En condiciones de campo la severidad causada por *M. fijiensis* en los cultivares de banano en estudio puede observarse en la Tabla 10 que enuncia el índice de infección el cual expresa la magnitud del daño causado por la enfermedad.

Tabla 10: Índice de severidad (IS) causada por *M. fijiensis* en cultivares de bananos.

Cultivar	Medias (IS)	Medias de rango
<b>Gran Enano</b>	32,98	82,40 d
<b>FHIA 18</b>	26,20	65,63 c
<b>FHIA 25</b>	9,11	15,25 a
<b>H-10</b>	18,57	42,18 b
	-	$X^2 = 61,11^*$



Como se pudo apreciar en el cultivar 'Gran Enano' se expresó el IS más elevado (32,98%) en relación a los demás cultivares en estudio. Es significativo resaltar en cuanto al comportamiento de esta variable que existieron diferencias numéricas y estadísticas visibles.

Los cultivares de mejor respuesta en cuanto a la expresión de magnitud del daño causada por la enfermedad fueron: 'FHIA - 25' (9,11%), seguido del cultivar 'H-10' (18,57%).

Teniendo en cuenta el criterio propuesto por Krishnamoorthy *et al.* (2004) el cultivar de banano 'FHIA - 25' manifestó una respuesta de resistencia a *M. fijiensis*, los cultivares 'H-10' y 'FHIA - 18' mostraron tolerancia a la enfermedad.

Según el criterio de los autores anteriormente citados el cultivar 'Gran Enano' resultó ser susceptible a la SN ya que el índice de severidad mostrado fue superior al 30%.

El comportamiento de las variables PI y TES (Tabla 9) obtenidas en este trabajo guardan una relación estrecha con los resultados exhibidos en relación a la variable índice de severidad. Se observa que el cultivar FHIA 25 (PI= 51,65 días y TES= 115,90 días) fue el que manifestó una mejor respuesta a la enfermedad, contrariamente a la respuesta del cultivar 'Gran Enano' (PI= 26,43 días y TES= 36,85 días) que expresó una magnitud de daño superior.

Lo anterior corrobora lo aseverado por Meredith y Lawrence (1970) que aseguran que la resistencia también en muchos casos se explica por tener períodos de incubación y tiempo de evolución del síntoma mucho más prolongados en relación a los cultivares conocidos como susceptibles.

#### *4.1.2. Cultivares de Plátano*

Los resultados en cuanto al comportamiento de las variables: hoja más joven manchada (HMJM) y número de hojas en la etapa de floración en cultivares de plátano objeto de estudio aparecen reflejados en la Tabla 11.

En relación al comportamiento de la variable HMJM, los cultivares 'TMP-3 Nigeria' y 'Manzano INIVIT' mostraron las primeras hojas con 10 manchas con centro necrosado seco en las posiciones 9,25 y 8,60 respectivamente, mostrando diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) en relación a los demás cultivares de plátano estudiados.



Los resultados expresados para el caso del cultivar 'TMP-3 Nigeria' son similares a los alcanzados por Ramírez *et al.* (2008) quienes refieren que dicho cultivar presentó la primera hoja manchada en la posición 8,76.

Los cultivares 'INIVIT PV- 0630'; 'Selección INIVIT'; 'FHIA-21'; y 'CEMSA ¾' no mostraron entre ellos diferencias estadística significativas en relación a la variable HMJM, exhibiendo valores en las posiciones 7,00; 6,85; 6,3; y 6,65 respectivamente.

Tabla 11: Comportamiento de la hoja más joven manchada (HMJM) y del número de hojas en la etapa de floración en cultivares de plátano.

Cultivar	HMJM	Hojas en floración
<b>CEMSA 3/4</b>	6,65 b	8,35 c
<b>INIVIT PV- 0630</b>	6,73 b	11,36 a
<b>TMP-3 Nigeria</b>	9,25 a	11,76 a
<b>FHIA 21</b>	6,85 b	9,90 b
<b>Manzano INIVIT</b>	8,60 a	11,80 a
<b>Selección INIVIT</b>	7,00 b	9,77 b
<b>ES±</b>	0,24*	0,28*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ )

En cuanto al número de hojas en el momento de la floración, el valor más favorable se observó en el cultivar 'Manzano INIVIT' con 11,80 hojas, sin mostrarse diferencias estadísticas significativas con los cultivares 'INIVIT PV- 0630' (11,36 hojas) y 'TMP-3 Nigeria' (11,76 hojas).

Los cultivares 'FHIA-21' y 'Selección INIVIT' en igual etapa fenológica contaron con (9.90 y 9.77) hojas respectivamente, sin presentar diferencias estadísticas significativas entre ellos.

Se hace necesario destacar que el cultivar 'CEMSA 3/4' al llegar a esta etapa mostró el menor número de hojas en relación a los demás cultivares (8,35), mostrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los cultivares.

La planta requiere más de ocho hojas activas para un correcto desarrollo del fruto (Pérez *et al.*, 1993; Pérez, 1996; Pino, 1996; Álvarez, 1997; Craenen, 1998; Orjeda, 1998 y Cayón *et al.*, 1999).



Armario *et al.* (2005) en estudios realizados en el INIVIT reporta que el cultivar 'CEMSA 3/4' solo contó con seis hojas funcionales en la etapa de floración.

Valores que difieren pueden ser expresados en estudios similares debido a que el comportamiento de las variables empleadas en la evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de *M. fijiensis* en genotipos de *Musa* spp. están en dependencia de la susceptibilidad de los genotipos, de las condiciones climáticas, así como del potencial de inóculo y de la intensidad de la infección (Meredith y Lawrence, 1970).

Las variables relacionadas con la epifitiología de la enfermedad, período de incubación (**PI**), tiempo de evolución de los síntomas (**TES**) y tiempo de desarrollo de la enfermedad (**TDE**) se evaluaron también para el caso de los cultivares de plátano (Tabla 12)

El valor más elevado del periodo de incubación de la enfermedad se aprecia en el cultivar 'Manzano INIVIT' con (49,60 días), mostrando diferencia estadística significativa con el resto de los cultivares.

Los demás cultivares reflejaron valores del período de incubación entre 34 y 39 días, 'Selección INIVIT' (39,60 días), 'INIVIT PV- 0630' (38,45 días), 'FHIA-21' (38,30 días), 'CEMSA 3/4' (35,96 días) y 'TMP-3 Nigeria' (34,05 días).

Tabla 12: Variables: Período de incubación **PI**, Tiempo de evolución del síntoma **TES** y Tiempo de desarrollo de la enfermedad **TDE** en cultivares de plátano.

Cultivar	Variables		
	Período de Incubación	Tiempo de evolución del síntoma	Tiempo de desarrollo de la enfermedad
<b>CEMSA ¾</b>	35,96 b	35,33 c	74,43 b
<b>INIVIT PV- 0630</b>	38,45 b	42,05 b	80,45 b
<b>TMP-3 Nigeria</b>	34,05 b	88,25 a	122,81 a
<b>FHIA 21</b>	38,30 b	54,85 b	87,13 b
<b>Manzano INIVIT</b>	49,60 a	72,00 a	121,60 a
<b>Selección INIVIT</b>	39,60 b	78,75 a	81,95 b
<b>ES±</b>	2,09*	3,55*	3,24*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ )



Con relación al Tiempo de Evolución del Síntoma (TES) se pudo constatar, como se observa en la referida Tabla 12 que los cultivares de plátanos ‘TMP-3 Nigeria’; ‘Selección INIVIT’; y ‘Manzano INIVIT’ expresaron los períodos más prolongados de TES, (88,25; 78,75 y 72,00 días) respectivamente, sin mostrar diferencias estadísticas significativas entre ellos.

Los cultivares ‘FHIA-21’ e ‘INIVIT PV- 0630’ necesitaron para la evolución del síntoma un periodo de 54,85 y 42,05 días respectivamente, sin diferencia estadística entre ambos.

El cultivar ‘CEMSA 3/4’ fue el que mostró el TES de menor duración (sólo 35,33 días) y difirió estadísticamente del resto de los cultivares.

En las condiciones donde se evaluaron los cultivares de plátano ‘TMP-3 Nigeria’; y ‘Manzano INIVIT’ mostraron el tiempo necesario para el desarrollo de la enfermedad (TDE) a los 122,81 y 121, 60 días respectivamente, mostrando diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) con el resto de los cultivares.

El tiempo de desarrollo de la enfermedad en los cultivares ‘FHIA-21’, ‘Selección INIVIT’, ‘INIVIT PV- 0630’ y ‘CEMSA 3/4’ se produjo a los 87,13; 81,95; 80,45 y 74,43 días respectivamente, no existiendo diferencias estadísticas significativas entre los mismos.

Los resultados alcanzados en este estudio con el cultivar ‘TMP-3 Nigeria’ son similares a los obtenidos por Ramírez *et al.* (2008) quienes refieren que en dicho cultivar el tiempo de incubación de la enfermedad se manifestó a los 38,80 días; el tiempo de evolución del síntoma (TES) fue de 97,50 días y el tiempo de desarrollo de la enfermedad de 138,60 días.



La Tabla 13: refleja los resultados de las evaluaciones del Índice de severidad (IS) causado por *M. fijiensis* en los cultivares de plátano estudiados.

Tabla 13: Índice de severidad (IS) causado por *M. fijiensis* en cultivares de plátano

Cultivar	Medias (IS)	Medias de rango
<b>CEMSA ¾</b>	35,76	73,33 c
<b>INIVIT PV- 0630</b>	36,40	74,05 c
<b>TMP-3 Nigeria</b>	17,68	18,40 a
<b>FHIA 21</b>	27,66	45,33 b
<b>Manzano INIVIT</b>	20,18	47,05 b
<b>Selección INIVIT</b>	26,13	41,40 b
	-	$X^2 = 52,70^*$

Al igual de lo analizado en el subacápite 4.1.1 en relación al análisis de la magnitud de daño expresada por el IS el comportamiento de las variables PI y TES (Tabla 12) guardan una relación estrecha con los resultados exhibidos en relación a la variable índice de severidad. El cultivar de plátano 'TMP-3 Nigeria' que exhibió los valores de PI (34,05 días) y TES (88,25 días) fue el que tuvo una mejor respuesta a *M. fijiensis* en las condiciones donde se efectuó el estudio de campo, seguido de los cultivares 'FHIA-21' (27.66 %), 'Selección INIVIT' (26.13 %) y 'Manzano INIVIT' (20.18 %) que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos (Tabla 13).

Teniendo en cuenta el criterio propuesto por Krishnamoorthy *et al.* (2004) los cultivares 'TMP-3 Nigeria'; 'Manzano INIVIT'; 'Selección INIVIT' y 'FHIA-21' presentaron tolerancia a la SN y los cultivares 'INIVIT PV- 0630' y 'CEMSA 3/4' resultaron susceptibles a la enfermedad.

Estos resultados en relación a la respuesta del cultivar FHIA 21 coinciden con los obtenidos por (Echeverry y Gómez, 1998).

Resultados similares fueron obtenidos por Armario *et al.* (2005) quienes expresan la resistencia parcial o tolerancia ante la Sigatoka Negra del cultivar 'TMP-3 Nigeria' en estudios realizados durante el año 2007.



#### **4.2. Comparación de la respuesta frente a *M. fijiensis*, de cultivares mejorados y de referencia de *Musa* spp.**

La evaluación del desarrollo de la enfermedad en condiciones de campo en un ensayo local en las condiciones edafoclimáticas del INIVIT se validó mediante la comparación de cultivares mejorados con cultivares de referencia y de interés.

Durante la evaluación del desarrollo y evolución del proceso infestivo de *M. fijiensis* en genotipos de *Musa* spp. que fue abordado en el epígrafe 4.1 se pudo conocer el comportamiento de todas las variables evaluadas para los cultivares objeto de estudio.

Realizando un análisis detallado para recolectar información sobre resistencia /tolerancia a SN, de los cultivares mejorados, la cual será retroalimentada a los fitomejoradores y fitopatólogos, se pudo constatar que en el caso de cultivares de banano el cultivar H-10 fue catalogado como un cultivar que expresa tolerancia a la enfermedad en comparación con el cultivar Gran Enano catalogado y corroborado en este estudio como susceptible a la enfermedad. El cultivar obtenido mediante el programa de mejoramiento del INIVIT solo fue superado por el cultivar FHIA 25, que resultó tener una respuesta de resistencia a SN.

Los resultados obtenidos coinciden con lo señalado por Mourichon *et al.* (2000) quienes refieren al clon FHIA-25 portador de resistencia parcial u horizontal. La resistencia parcial muestra desde moderados niveles de resistencia parcial hasta alta resistencia parcial.

Las interacciones compatibles se caracterizan por un desarrollo completo del ciclo infectivo del patógeno. Se puede observar un gradiente de fenotipos dentro de este tipo de resistencia (desde la extrema susceptibilidad hasta la resistencia parcial donde se alarga el ciclo de la enfermedad). Varios genotipos de bananos poseen esta respuesta, entre ellos se destacan los genotipos pertenecientes al subgrupo Cavendish con el Grande Naine (*Musa*, AAA) como su mejor representante (Mourichon *et al.*, 2000).

La magnitud del daño causada por la enfermedad se aprecia claramente en la Figura 12 al observarse como el cultivar mejorado H-10 posee menor índice de severidad expresado en porcentaje, o sea la extensión del área necrosada de la hoja infectada por el patógeno fue menor en relación al cultivar referenciado como susceptible a SN.

Estos resultados, aunque no conclusivos resultan promisorios novedosos y de gran utilidad para el Programa de Mejoramiento de Bananos en el INIVIT, pues aportan un conocimiento básico acerca de la respuesta a la principal problemática fitosanitaria que presentan el banano en Cuba y el mundo, y de gran valor para los fitomejoradores.

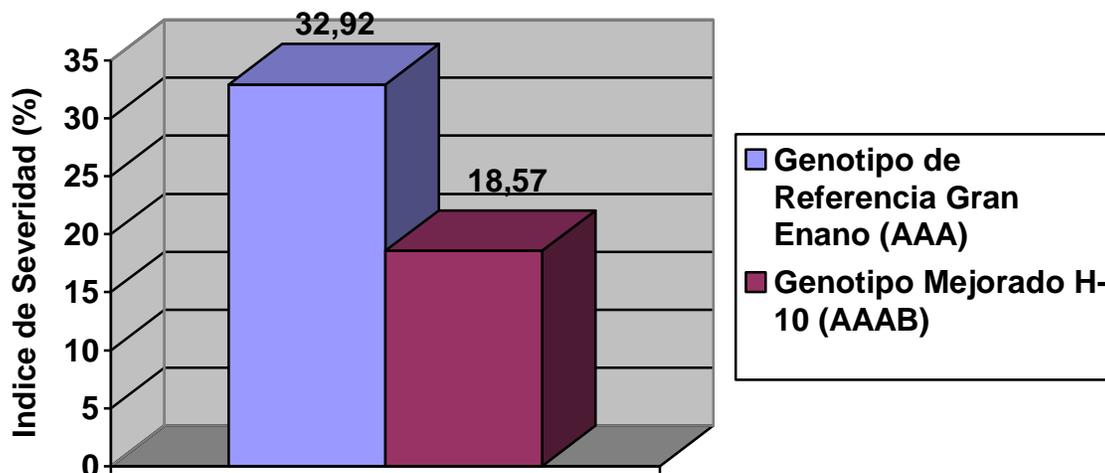


Figura 12: Comparación del **IS** para el cultivar de referencia Gran Enano que resultó susceptible a la enfermedad y el cultivar mejorado H-10 que tuvo una respuesta de tolerancia a la enfermedad.

En el caso de los plátanos, en relación a los cultivares mejorados se destaca el cultivar Manzano INIVIT, el cual tuvo una respuesta de tolerancia a la enfermedad únicamente igualado al clon TMP– 3 Nigeria, nuevo cultivar de plátano vianda introducido en Cuba incorporado desde Bélgica a través de INIBAP, dicho clon tetraploide posee características de tolerancia a la SN, condición esta reafirmada en estudios realizados en el INIVIT (Armario *et al.*, 2005; y Ramírez *et al.*, 2008).

Los cultivares mejorados Manzano INIVIT y Selección INIVIT exhibieron menores índices de severidad (20,8 y 26,13% respectivamente). El cultivar mejorado INIVIT PV – 0630 no manifestó la mejor respuesta, pues de los cultivares evaluados tuvo un IS de 36,6%, superando al resto de los cultivares en estudio incluyendo el cultivar de referencia CEMSA 3/4 (Figura 13).

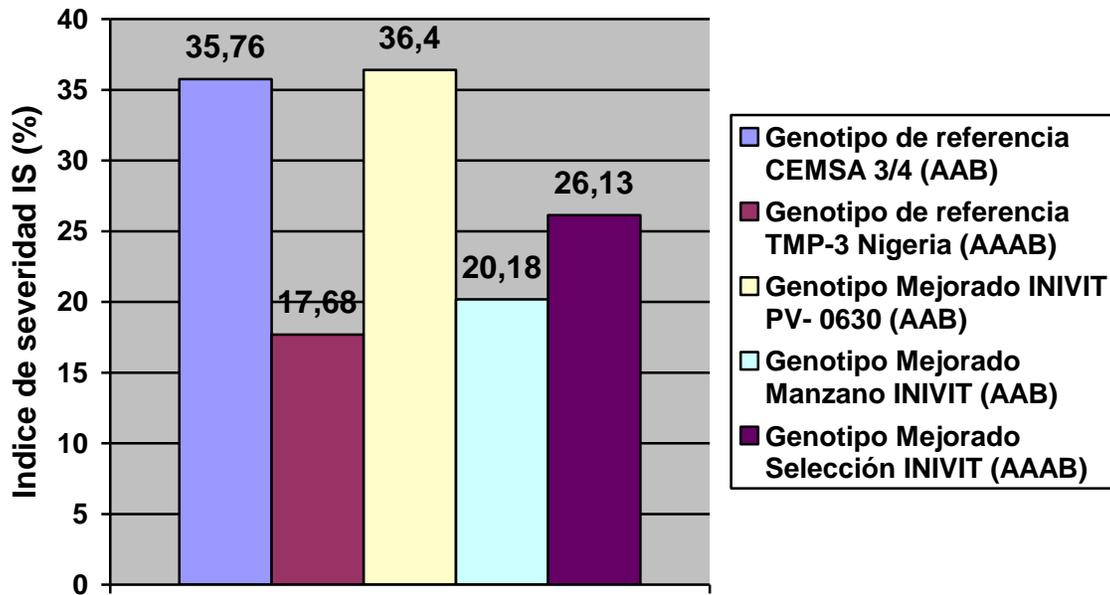
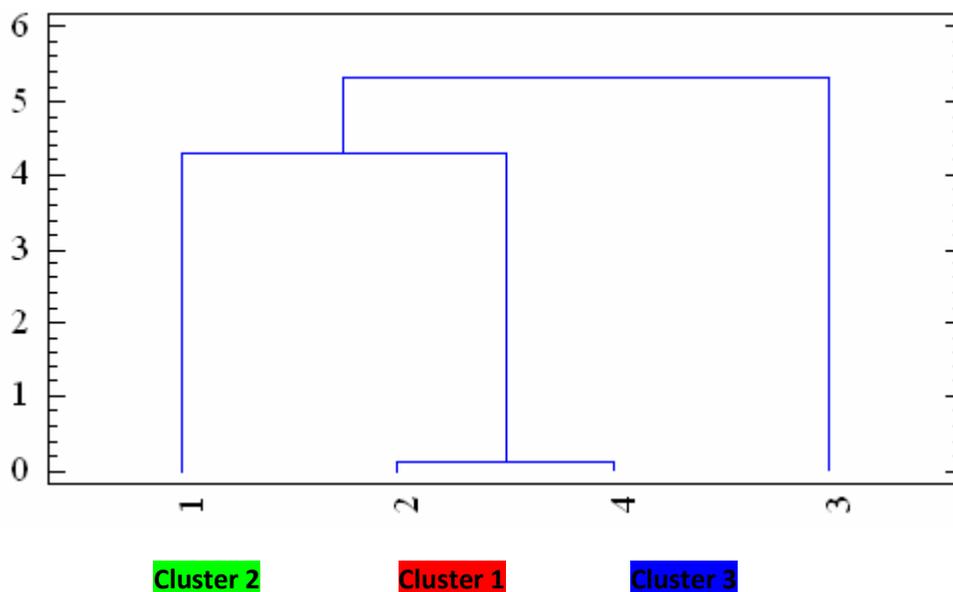


Figura 13: Comparación del **Índice de Severidad** para cultivares de plátano mejorados y de referencias.

Realizando un análisis del comportamiento global de los cultivares de bananos, teniendo en cuenta los valores resultantes de las variables PI, TES, y TDE obtenidos en el presente trabajo se realizó de manera multivariada la asociación de cultivares por grupos.

Se observa en la Figura 14, la formación de tres clusters, en el primero se agruparon los cultivares 'FHIA 18' y 'H-10' que tuvieron una respuesta similar a la enfermedad, es necesario destacar como los cultivares que no se asociaron (FHIA 25 y Gran Enano) fueron los que manifestaron una respuesta de resistente y susceptibilidad a la enfermedad respectivamente.



**Cultivar 1:** Gran Enano

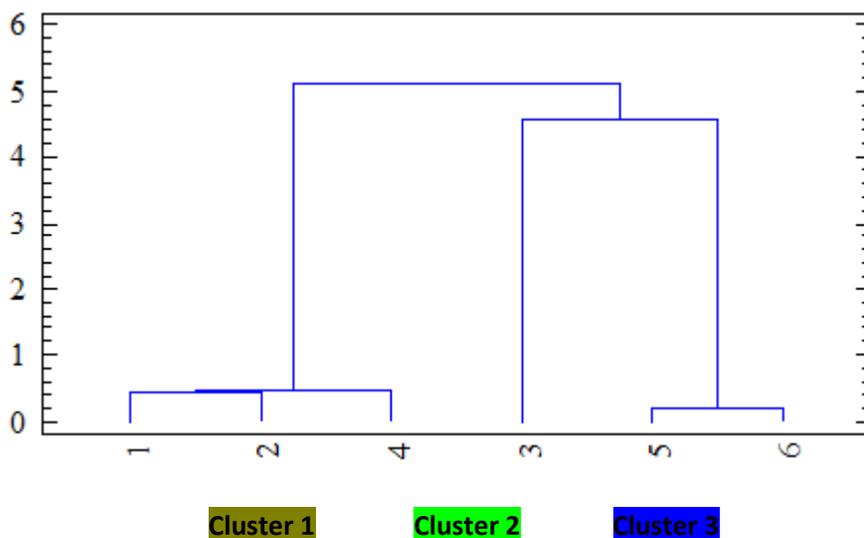
**Cultivar 2:** FHIA 18

**Cultivar 3:** FHIA 25

**Cultivar 4:** H -10

Figura 14: Representación multivariada de cultivares en estudio. Nótese la agrupación de cultivares de banano en relación a la susceptibilidad y tolerancia a la enfermedad Sigatoka Negra.

De igual manera se realizó esta asociación para los cultivares de plátano en estudio, cuyos resultados se reflejan en la Figura 15.



**Cultivar 1:** CEMSA ¾' (AAB)

**Cultivar 2:** INIVIT PV- 0630' (AAB)

**Cultivar 3:** 'TMP-3 Nigeria' (AAAB)

**Cultivar 4 :** 'FHIA 21' (AAAB)

**Cultivar 5:** Manzano INIVIT' (AAB)

**Cultivar 6:** 'Selección INIVIT' (AAAB)

Figura 15: Representación multivariada de cultivares. Nótese la agrupación de cultivares de plátano en relación a la susceptibilidad y tolerancia a la enfermedad Sigatoka Negra.

Como se observa en la Figura 15 se formaron tres cluster, en el primero se agruparon los cultivares 'CEMSA 3/4', 'INIVIT PV- 0630' y 'FHIA-21'; que manifestaron una respuesta similar a la enfermedad, de la misma manera se agruparon los cultivares 'Manzano INIVIT' y 'Selección INIVIT', vale destacar que el cultivar 'TMP-3 Nigeria' no se asoció por presentar la mejor respuesta ante la enfermedad.

#### 4.3. Evaluación del efecto de los Extractos vegetales como alternativa de manejo de la enfermedad.

Los resultados de la evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos se aprecian en la Tabla 14. Los tratamientos (T1), (T2), (T3), (T4), y (T5) no presentaron diferencias



estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) en relación con el control, a los ocho y 15 días después de realizada la primera inoculación conidial.

Tabla 14: Evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos a los 8,15, 22, 29, 36 y 43 días de evaluados.

Tratamientos	Evaluaciones						
	8 días		15 días	22 días	29 días	36 días	43 días
	Media	Media transf.					
T1	0,50	0,97 a	1,00a	1,38 b	1,63 b	1,75 b	1,88 c
T2	1,00	1,22 a	1,00a	1,25 b	1,50 b	2,13 ab	2,13 bc
T3	0,88	1,16 a	1,00a	1,13 b	1,88 ab	2,00 ab	2,00 bc
T4	0,75	1,10 a	1,00a	1,50 ab	2,00 ab	2,00 ab	2,38 bc
T5	1,00	1,22 a	1,00a	1,33 b	1,78 ab	2,44 a	2,56 b
Control	0,71	1,08 a	1,00a	2,00 a	2,29 a	2,57 a	3,57 a
ES $\pm$	-	0,08ns	-	0,21*	0,04*	0,19*	0,21*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ ).

En la tercera evaluación realizada a los 22 días se observaron que los T1, T2, T3 y T5 con valores 1,38; 1,25; 1,13 y 1,33 respectivamente no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos, pero no así el T4 y el control cuyos valores fueron 1,50 y 2,00 quienes si presentaron diferencia estadística significativa con relación al resto.

Para la cuarta evaluación, a los 29 días, con valores 1,63; 1,50 los T1 y T2 no presentaron diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) entre ellos, de igual manera se manifestaron los tratamientos (T3, T4 y T5) con valores 1,88; 2,00 y 1,78 respectivamente quienes no mostraron diferencias estadísticas significativas. Mientras que el control, cuyo valor es de 2,29 manifestó diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ), con relación al resto de los tratamientos.

A los 36 días de iniciado el experimento es decir en su quinta evaluación, observamos que el T1 registró el valor más bajo con (1,75) mostrando así diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos y con el control. Los tratamientos T2, T3 y T4, cuyos valores al momento de esta evaluación fueron de 2,13; 2,00 y 2,00 respectivamente, no manifestaron diferencia estadística significativa entre ellos, pero sí lo



hicieron para el T5 (2,44) y el control (2,57), quienes a su vez no llegaron a presentar diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) entre ambos.

Tabla 15. Evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos a los 50, 57, 64 y 71 días de evaluados.

Tratamientos	Evaluaciones			
	50 días	57 días	64 días	71 días
T1	2,13 c	2,25 c	2,25 c	2,25 c
T2	2,13 c	2,13 c	2,13 c	2,13 c
T3	2,13 c	2,38 c	2,38 c	2,38 c
T4	2,88 b	3,25 b	3,63 b	3,88 b
T5	2,56 c	2,56 c	2,56 c	2,56 c
Control	3,71 a	4,71 a	5,00 a	5,00 a
ES $\pm$	0,18*	0,23*	0,24*	0,23*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ( $p < 0,05$ ).

A partir de la séptima evaluación, es decir de los 50 días en adelante hasta su culminación, los valores de los tratamientos T1, T2, T3 y T5; se mantuvieron de forma constante sin manifestar diferencias estadísticas significativas para ( $p < 0,05$ ) entre ellos, con valores que oscilaron entre 2,13 y 2,56 presentando diferencias altamente significativas con respecto al T4 y el control cuyos valores fueron en ascenso llegando a poner de manifiesto el último grado de la escala propuesta por Alvarado *et al.*, 2003 y citada por Leiva *et al.*, 2004, al momento de su culminación.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio, se corroboran con los realizados por Marín *et al.* (2008) quienes demostraron que el hongo *M. fijiensis* presenta susceptibilidad a las aplicaciones de extractos naturales de salvia y Neem, que en el caso de este último se utilizó más como un adherente natural que como un tratamiento. De igual manera, citando al mismo autor, en el caso del limoncillo, en relación a nuestro trabajo no se obtuvo el resultado esperado, aunque cabe indicar que los resultados alcanzados por Marín *et al.* (2008), se lograron en evaluaciones de campo y no en condiciones semicontroladas.

Para el caso de Caña Santa, nuestros resultados se corroboran con los obtenidos por Obledo *et al.* (2004) quienes evaluaron la actividad anti fúngica aunque en condiciones *in vitro* del extracto sobre Sigatoka negra, siendo seleccionado éste por su eficiente



actividad y bajo costo; aunado a esto fue sugerido en esa investigación como producto comercial, en sustitución de los químicos Clorotalonilo, Tridemorf y Propiconazol.

Resultados similares fueron obtenidos por Arciniegas *et al.* (2002) quienes realizaron la evaluación de varios extractos etanólicos entre los que se encontraba el Cundeamor donde se estudiaron bajo condiciones *in vitro* y se midió el efecto de la actividad antifúngica contra *M. fijiensis*, donde mostraron actividad antifúngica, tanto en germinación de esporas como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis*, y en algunos casos eran más efectivos que el fungicida comercial Propiconazole, corroborando así con nuestros resultados obtenidos en el presente estudio, aunque en condiciones semicontroladas.

#### 4.3.1 Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas

Al inocular suspensiones conidiales de *P. fijiensis* sobre hojas del cultivar Gran Enano se logró reproducir la respuesta de este frente a la enfermedad en condiciones naturales, conjuntamente con el efecto ejercido por los EV, como se puede observar en el anexo 12.

Tabla 16: Resultados de variables cuantitativas evaluadas en el cultivar Gran Enano, inoculado con *P. fijiensis* (CCIBP-Pf5) en casa de cultivo.

Tratamientos	Variables		
	PI (días)	TES (días)	DE (días)
T <sub>1</sub>	15	Nes	nde
T <sub>2</sub>	15	Nes	nde
T <sub>3</sub>	15	Nes	nde
T <sub>4</sub>	15	50	nde
T <sub>5</sub>	15	43	nde
Control	15	36	57

nes= no evolución del síntoma    nde= no desarrollo de la enfermedad

Como se puede observar en la tabla 16, para cada uno de los tratamientos evaluados y el control, los primeros síntomas se observaron a los 15 días después de la inoculación



(periodo de incubación), coincidiendo así con los resultados alcanzados por Leiva *et al.*, (2004), en este mismo cultivar en condiciones semicontroladas.

En inoculaciones artificiales Mourichon *et al.* (1987) determinaron que el período de incubación para plantas *in vitro* de Gran Enano, Fougamou y Yangambi km 5 fue de 19 días. Por su parte Mouliom-Pefoura (1995) al inocular plantas provenientes del cultivo *in vitro* de Gran Enano con suspensiones conidiales de *P. fijiensis* determinó que el período de incubación fue de 17 días.

En el cultivar Gran Enano los síntomas (estado 1), después de su aparición, evolucionaron hacia manchas con contornos regulares e irregulares de coloración pardo rojiza por el haz, (estado 3), en el caso del T5 con 43 días, que posteriormente evolucionaron hacia manchas necróticas (estados 4 ó 5) en 36 días para el caso del control, coincidiendo así con lo propuesto por Leiva *et al.*, (2004).

En lo concerniente al T4 se extendió a 50 días (estado 3) tomando en cuenta el efecto ejercido por el extracto natural.

En cuanto al control, los resultados al final del periodo de evaluación (57 días) difieren de los alcanzados por Leiva *et al.*, (2004) que expresaron un periodo de 49 días, debido a las condiciones de temperatura y humedad expresadas en la casa de cultivo (anexo 11), las cuales influyeron en la evolución del síntoma alargando sus muestreos por siete días más. Para los restantes tratamientos (T1, T2 y T3) no pudieron ser calculados el Tiempo de Evolución de los Síntomas y el Tiempo de Desarrollo de la Enfermedad ya que solamente llegaron a expresar el estado 2 de la enfermedad, dado esto a la acción antifúngica ejercida por los extractos naturales sobre *M. fijiensis* resultados que coinciden con Marín *et al.* (2008) Obledo *et al.* (2004) y Arciniegas *et al.* (2002) aunque en condiciones diferentes de evaluación.

Las variables Tiempo de Evolución de los Síntomas y Tiempo de Desarrollo de la Enfermedad han sido utilizadas para evaluar genotipos de Musa spp. en campo (Mobambo *et al.* 1994; Gauhl *et al.*, 2000), pero poco se han empleado en casas de cultivo con plantas provenientes del cultivo *in vitro*. Molina y Castaño (2003) las usaron para evaluar la resistencia de cultivares FHIA frente a *M. fijiensis* y *M. musicota* inoculados con suspensiones conidiales de estos patógenos. Estos investigadores obtuvieron tiempos de evolución de los síntomas en FHIA-01 y FHIA-17 superiores a los 55 días para el primer patógeno.

La escala de evaluación cualitativa permitió diferenciar cada uno de los tratamientos con respecto al testigo en el cultivar Gran Enano (susceptible) en casa de cultivo (Tabla 17).



Tabla 17. Estados de los síntomas en el cultivar Gran Enano (desde los ocho hasta los 71 días de inoculados) con suspensiones conidiales de *P. fijiensis*.

Cultivo	Estado de los síntomas*							
	15d	29d	36d	43d	50d	57d	64d	71d
Gran enano								
T1	1	2	2	2	2	2	2	2
T2	1	2	2	2	2	2	2	2
T3	1	2	2	2	2	2	2	2
T4	1	2	2	2	3	3	4	4
T5	1	2	3	3	3	3	3	3
Control	1	2	3	4	4	5	5	5

\*Los datos representan el estado de síntoma predominante en el material vegetal inoculado al momento de la evaluación d-días después de la inoculación.

En las evaluaciones realizadas se observó que en las hojas inoculadas predominó un mismo estadio de síntoma. Además, se distribuyeron uniformemente sobre toda la superficie foliar. Esto evidenció que el tipo de inóculo (suspensiones conidiales) y el método de inoculación utilizados (aplicación con pincel sobre el envés de la hoja) fueron válidos para la obtención de síntomas de la enfermedad sobre plantas *in vitro* en casa de cultivo.

Estos aspectos unidos a las condiciones ambientales donde se mantuvo una humedad relativa por encima del 60% y la temperatura media de 27°C, sentaron las bases para profundizar en el estudio de la inoculación artificial con el patógeno como vía para conocer la respuesta de cultivares de Musa a la enfermedad.

En la literatura científica sobre el tema cuando se refiere el uso de suspensiones conidiales, generalmente se hace alusión a la concentración de conidios sin tener en cuenta el número de fragmentos de micelio que pueden estar presentes debido al procedimiento por el cual se hayan colectado (Fullerton y Olsen, 1995). Sin embargo, en este estudio el método utilizado para separarlos del micelio (aplicación de Vortex) garantizó que solo se inocularan dichas estructuras de reproducción asexuales.

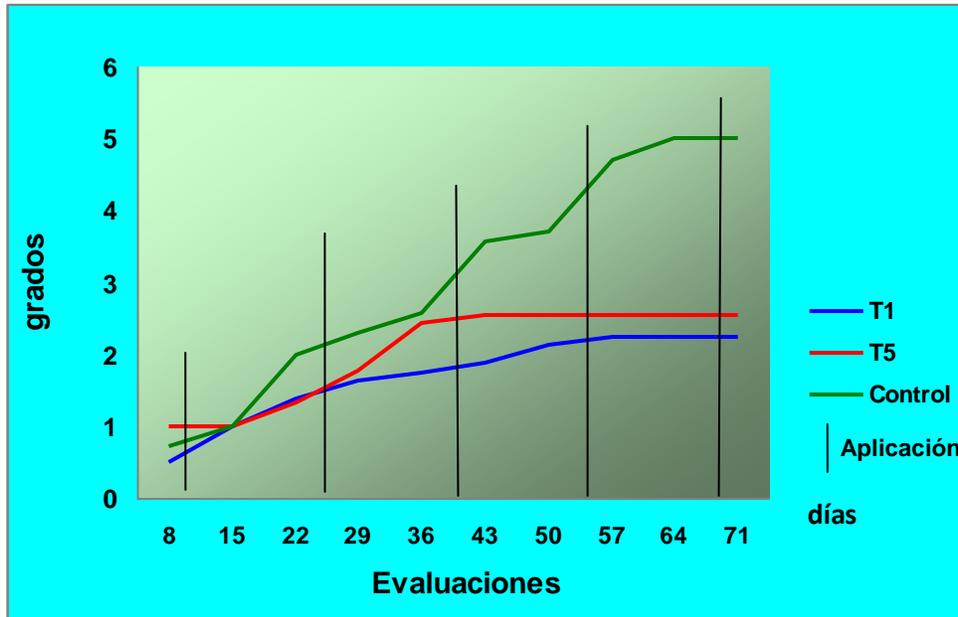


Figura 16. Efecto del EV (Cundeamor) y Maconzeb PH (80%) sobre *M. fijiensis*

Teniendo en cuenta las cinco aplicaciones realizadas a los nueve, 24, 39, 54 y 69 días respectivamente, en el gráfico 16 se puede observar el efecto favorable ejercido por el T1 manteniendo valores inferiores en relación al T5 y el control.

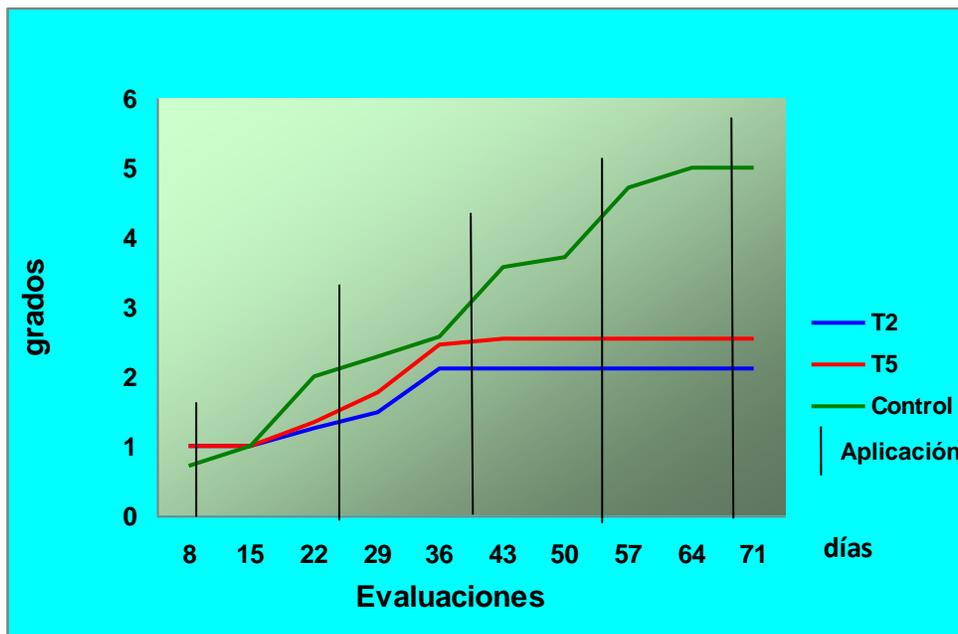


Figura 17. Efecto del EV (Salvia) y Maconzeb PH (80%) sobre *M. fijiensis*



En el gráfico 17 se logra verificar el efecto antifúngico producido por el T2 que se presenta de manera similar al tratamiento anterior manifestando una respuesta inferior en relación al T5 y el control.

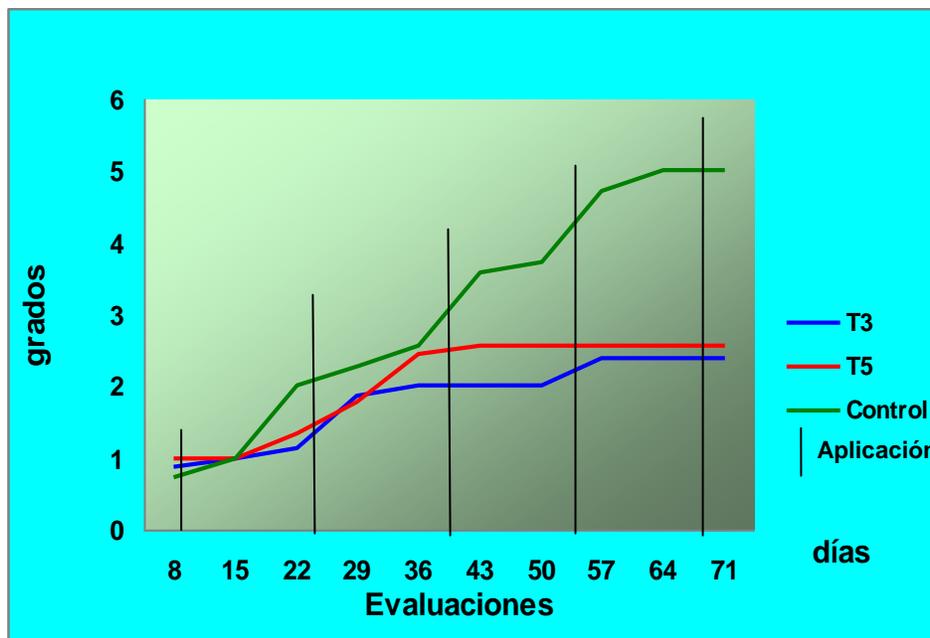


Figura 18. Efecto del EV (Caña Santa) y Maconzeb PH (80%) sobre *M. fijiensis*

En el gráfico 18 se aprecia que el T3 presenta una similitud en cuanto a acción antifúngica en relación a los tratamientos T1 y T2 mencionados anteriormente y por ende manifiesta valores inferiores al T5 y el control.

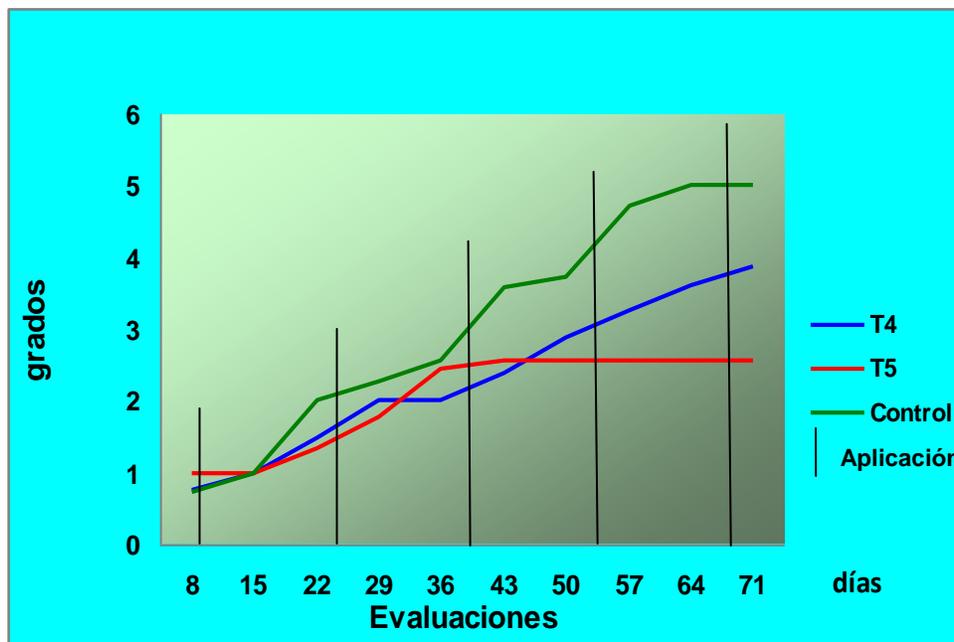


Figura 19. Efecto del EV (Limoncillo) y Maconzeb PH (80%) sobre *M. fijiensis*

En lo concerniente al gráfico 19 el T4 no se manifestó de igual forma que los anteriores T1, T2 y T3, aunque sus valores se presentan inferiores al control pero no así en relación al T5 que se mantuvo por debajo de ambos.



## 5. CONCLUSIONES

1. En los clones de banano 'Gran Enano'; 'FHIA - 18'; 'FHIA - 25' y 'H- 10' la hoja más joven manchada (**HMJM**) al momento de la floración apareció en las posiciones 5,90; 7,40; 10,2 y 9,16 respectivamente. El cultivar 'FHIA 25' fue el de mejor respuesta a Sigatoka Negra con PI de 51,65 días, TES de 115,90 días y TDE de 167,65 días mientras que el cultivar 'Gran Enano' resultó susceptible con valores de PI de 26,43 días, TES de 36,85 días y TDE de 65, 28 días.
2. La variable **HMJM** al momento de la floración en los cultivares de plátano 'TMP-3 Nigeria' y 'Manzano INIVIT' se manifestó en las posiciones 9,25 y 8,60 respectivamente. El cultivar de plátano 'TMP-3 Nigeria' tuvo una mejor respuesta a *M. fijiensis* mostrando valores de PI en 34,05 días, TES de 88,25 días y TES de 122, 81 días.
3. Los cultivares de banano 'Gran Enano' (AAA) y 'H-10' (AAAB), manifestaron una reacción de susceptibilidad y tolerancia a SN respectivamente, al tiempo que los cultivares de plátano 'Manzano INIVIT' (AAB) y 'Selección INIVIT' (AAAB) se catalogaron como tolerantes a la enfermedad, mientras que el cultivar 'INIVIT PV 06-30' (AAB) y 'CEMSA ¾' (AAB) presentaron susceptibilidad a la enfermedad.
4. Los extractos vegetales de Cundeamor, Salvia y Caña Santa (90 mL de EV + 10 mL de aceite Neem) asperjados en el cultivar 'Gran Enano' (AAA) mostraron un efecto antifúngico a *M. fijiensis* en condiciones semicontroladas, con respuesta similar al tratamiento Maconzeb PH (80%).



## **6. RECOMENDACIONES**

- Evaluar la respuesta frente a *M. fijiensis* de los cultivares mejorados de *Musa* spp. 'H-10' (AAAB); 'Manzano INIVIT' (AAB) y Selección INIVIT' (AAAB) en otros ambientes.
- Evaluar el efecto de los extractos vegetales Cundeamor, Salvia y Caña Santa en condiciones de campo.



## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Abadie C, Elhadrami A, Fouré E, Carlier J (2003) Efficiency and durability of partial resistance against black leaf streak disease. Pág. 161-168 En: *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases of Bananas: Present Status and Outlook. L. Jacome, P. Lepoivre, D. Marín, R. Ortiz, R. Romero y J. V. Escalant, eds. Proc Int. Workshop on *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases, 2nd, San José, Costa Rica, 20-23 May 2002. INIBAP, Montpellier, Francia.
- Aguilar FX, Kohlmann B (2006) Willingness to consume and produce transgenic bananas in Costa Rica. *International Journal of Consumer Studies*. 30 (6): 544–551.
- Aguirre M, Castaño J, Zuluaga L (1998) Método rápido de diagnóstico de *Mycosphaerella musicola* Leach y *M. fijiensis* Morelet, agentes causales de la sigatoka amarilla y sigatoka negra. *Infomusa* 8(2): 7-10.
- Alexopoulos CJ, Mims CW (1979) *Introductory Mycology*. En: John y Sons (eds). New York.
- Alvarado, Y, Leiva M, Rodríguez MA, Acosta M, Cruz M, Portal N, Kosky R, García L, Bermúdez I, Padrón J (2003) Early evaluation of Black leaf streak resistance on *Musa* spp. breeding program by the use of mycelial suspension
- Amorim, A.; Cardoso, M.; Das, G.; Pinto, J.; Souza, P. and Filho, N. (2004). Fungitoxic activity avaliation of the hexane and methanol extracts of copaiba plant leaves *Copaifera langsdorffi* Desfon. *Ciência e Agrotecnología* 28 (2): 316-324 pp.
- An, M.; Prately, J. and Haig, T. (1997). "Phytotoxicity of vulpia Residues: Investigation of aqueous extracts", *Journal of Chemical Ecology*; 23 (28): 1980-1993 pp.
- Arciniegas A. y Riveros A. (2002). Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo in Vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. *Memorias XV reunión internacional ACORBAT*, Cartagena, 617p
- Armario D, Herrera L, Hernández M, Espinosa A, Dávila A, Ramírez Teresa, Arredondo I, Triana O (2005). Magnitud del Índice de severidad de la enfermedad Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivar S-INIVIT – 1 en las condiciones edafo-climáticas del municipio Santo Domingo en Cuba.
- Arora, C.; and Kaushik, R. (2003). Fungicidal activity of plants extracts from Uttaranchal hills against soybean fungal pathogens. *Allelopathy Journal*. 11 (2): 217-228 pp.
- Arzanlou M, Groenewald JZ, Fullerton RA, Abeln ECA, Carlier J, Zapater MF, Buddenhagen IW, Viljoen A, Crous PW (2008) Multiple gene genealogies and phenotypic characters



- differentiate several novel species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on banana. *Persoonia* 20: 19–37.
- Balint-Kurti P, May G, Churchill A (2001) Development of transformation system for *Mycosphaerella* pathogens of banana. *FEMS Microbiology Letters* 195: 9-15.
- Batzer JC, Diaz-Arias MM, Harrington TC, Gleason ML, Groenewald JZ, Crous PW (2007) Four species of *Zygothialia* (*Schizothyriaceae*, *Capnodiales*) are associated with the sooty and pycnospora complex on apple. *Mycologia* 100(2): 246-258.
- BAYER (2007) Protección de un Tesoro tropical: el banano. *BAYER CropScience* 1: 2-7.
- Belalcázar CS, Salazar VF, Valencia MJA, Silva SCH, Arcila PMI, Jaramillo R (1994) Reacción de variedades mejoradas de plátano al ataque de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). Pp. 192-214. En: Mejoramiento de la producción del cultivo del plátano. Segundo informe técnico 1984-1994. Región 9, ICACORPOICA. Creced-Quindío, Armenia, Colombia.
- Burt A (2003) Airborne dispersal of *Mycosphaerella fijiensis*. En: *Mycosphaerella* leaf spot disease of bananas, present status and outlook. Proceeding of the Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot disease, San José. Costa Rica, INIBAP.
- Burt. P. J. A., J. Rutter & H. González, (1997). Short distance windborne dispersal of the fungal pathogens causing sigatoka diseases in banana and plantain. *Plant pathology* 46: 451-458.
- Carlier J, De-Waele D, Escalant JV (2003) Evaluación global de la resistencia de los bananos al marchitamiento por *Fusarium*, enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* y nematodos. Evaluación del comportamiento (A. Vézina y C. Picq, eds). Guías técnicas INIBAP 7. Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, Montpellier, Francia.
- Castillo, J. (2004). Determinación de Metabolitos Secundarios en Plantas Silvestres del Parque Nacional Terepaima, Municipio Palavecino, estado Lara. Tesis. Universidad Centro occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 103 pp.
- Chaerani R (2006) Early blight resistance in tomato: screening and genetic study Ph.D. thesis, Wageningen University, the Netherlands ISBN: 90-8504-355-7. 88p.
- Chandler, S (1995) The nutritional value of banana. En: Gowen, S Ed. Bananas and plantains. London, Chapman y Hall. Pp. 468-480
- Cohan J.P, Abadie C., Tomekpé K. Tchangó J. Tchangó. 2003. Evaluación del desempeño agronómico y de la resistencia a la Sigatoka negra del híbrido de plátano 'CRBP-39'. *INFOMUSA* 12(1): 29-32.



- Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agrícola*. 56 (4):1267-1271 pp.
- Conde-Ferrárez L, Waalwijk C, Canto-Canché BB, KEMA GHJ, Crous PW, Andrew CJ, Abeln ECA. (2007) Isolation and characterization of the mating type locus of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black leaf streak disease of banana. *Molecular Plant Pathology* 8 (1): 111–120.
- Cordeiro ZJM, Matos AP (2000) Doenças fúngicas e bacterianas. En: Cordeiro, Z.J.M. (Ed.) *Banana Fitossanidade*. Brasília. Embrapa/SPI. Pp 36-65.
- Craenen, K, Ortiz R, Karamura E y Vuylsteke D (Eds) (1996) Proceeding of the first International conference on Banana and Plantain for Africa. *Acta Horticulturae*. Pp. 540-588.
- Crous PW, Braun U (2003) *Mycosphaerella* and its anamorphs. 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. *CBS Biodiversity Series* 1: 1–57.
- Crous PW, Braun U, Groenewald J (2007) *Mycosphaerella* is polyphyletic. *Studies in Mycology* 58: 1-32.
- Crous PW, Kang JC, Braun U (2001) A phylogenetic redefinition of anamorph genera in *Mycosphaerella* based on ITS rDNA sequence and morphology. *Mycologia* 93: 1081–1101.
- Crous PW, Mourichon X (2002) *Mycosphaerella eumusae* and its anamorph *Pseudocercospora eumusae* spp. nov., causal agent of Eumusae Leaf Spot Disease of Banana. *Sydowia* 54: 35-43.
- Cuba 2008. Instructivo técnico del cultivo del plátano. Biblioteca ACTAF. Segunda edición. 19 pp.
- D’Arcy CJ, Eastburn DM, Schumann GL (2001) Illustrated glossary of plant pathology. The Plant Health Instructor doi: 10.1094/phi-1-2001-0219-01.
- Deighton FC (1976) Studies on *Cercospora* and allied genera. VI *Pseudocercospora* Speg., *Pantospora* Cif. and *Cercoseptoria petri*. *Mycological papers* 140: 1 -168.
- Deighton FC (1979) Studies on *Cercospora* and allied genera. VII. New species and redispositions. *Mycologia* 144: 1–56.
- Donzelli BGG, Churchill AC (2007) A quantitative assay using mycelial fragments to assess virulence of *Mycosphaerella fijiensis*. *Phytopathology* 97: 916-929.
- Douglas M, L. Ching, 1992. Monitoreo de sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* al Benonil. 17-19p. *In informe anual CORBANA*



- Ducrot, P. (2005). Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticidal activity of natural products from higher plants. pp. 47-58. En: Regnault, R.; B.J. Philogene y C. Vincent (eds.). Biopesticides of plant origin. Lavoisier and Intercept, Ltd., Paris and Andover. 313 pp
- Echeverry E. Gómez L, 1998. Evaluación de híbridos y clones de plátano y banano tolerantes a la Sigatoka Negra en el centro-sur del departamento de Tolima, Colombia, INFOMUSA 7 (2); 14-16
- Edgecomb DW, Manker D (2005) *Bacillus subtilis* strain QST 713, bacterial disease control in fruit, vegetable and ornamental production. En: Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. Seeheim/Darmstadt, Germany, 23-26 Octubre. Pp 167-170.
- El-Hadrami A, Kone D, Lepoivre (2005) Effect of juglone on active oxygen species and antioxidant enzymes in susceptible and partially resistant banana cultivars to Black Leaf Streak Disease. European Journal of Plant Pathology. 113: 241-254.
- FAO (2002). <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture&language=ES>
- FAO (2009). FAO Statistics. Anuario 2010. Disponible en <http://www.FAO.org/corp/statistics>. (Consultado Enero 2010).
- Ferreira, J.; Cardoso, M.; Souza, P.; Miranda, J. and Barreto, S. (2005). Inhibitory effect of *Caesalpinia spinosa* leaflets crude extract on *Fusarium solani* and *Phoma tarda*. Acta Scientiarum Biological Sciences 27 (2): 185-188 pp. (Consultado Enero 2010). Disponible en: [http://www.ppg.uem.br/Docs/ctf/Biologicas/2005\\_2/13\\_167\\_05\\_Ferreira%20et%20al\\_I\\_nhibitory%20effect%20of%20the%20crude.pdf](http://www.ppg.uem.br/Docs/ctf/Biologicas/2005_2/13_167_05_Ferreira%20et%20al_I_nhibitory%20effect%20of%20the%20crude.pdf)
- FHIA (2007) Bananos y plátanos de la FHIA para la seguridad alimentaria. FHIA Informa. 15 (1): 6-8.
- Ficker, C.; Smith, M.; Akpagana, K.; Gbeassor, M.; Zhang, J.; Durst, T. and Assabgui, R. (2003). Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. Phytotherapy Research 17: 897-902 pp.
- Firman I (1972) Susceptibility of banana cultivars to fungus leaf diseases in Fiji. Tropical Agricultura. 49: 189-190.
- Fouré E, Grisoni M, Zurfluh R (1984) Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés II. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet et de quelques caractéristiques biologiques de la maladie de raies noires au Gabon. Fruits 39: 365-378.



- Fouré, E (1982) Les Cercosporiose du bananier et leur traitemant. Comportament des varietés. Estude de la sensibilité varietale des bananiers et plantains a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladies de raises noires). I Incubation et evolution de la maladie. II Etude de quelques parametres. *Fruits* 37(12): 749-771.
- Fouré, E, 1994. Leaf spot disease of banana and plantain cause by *Mycosphaerella fijiensis* and *mycosphaerella musicola*. 37-46p in the improvement and testing of musa: A global partnership. Proceedings of the first global conference of the international musa testing. Progranme (D. Jones, ed) INIBAP, Montpellier, France.
- Fullerton R, A, 1994. Sigatoka leaf disease. 12-14p in compendiun of tropical fruit disease. (Ploetz R. C *et al.*, eds). The American phytopathological society, st. Paul, Minnesota.
- Fullerton R, Olsen RH (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.
- Gauhl F (1994) Epidemiology and Ecology of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on Plantain and Banana (*Musa* spp.) in Costa Rica, Central America. Montpellier, Francia, INIBAP.
- Gauhl, F. 1989. Untersuchunge zurepidemiologie un okoloigie de Schuwargen sigatoka krankheit (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) an kockbonanen (musa sp) in Costa Rica. Thesis. Univ. Gottingen (west germany), 128p
- Gaulh F, Pasberg-Gauhl C, Jones D (2000) Diseases of Banana; Abacá and Enset. Wallingford, UK, CAB International.
- Gilchrist-Saavedra, L.; Fuentes-Dávila, G.; Martínez-Cano, C.; López-Atilano, R.; Duveiller, E.; Singh, R.; Henry, M. y García, A. (2005). Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. 2 ed. México, MX, CIMMYT. 68 pp. (Consultado Enero 2010). Disponible en:
- Goodwin SB, Dunkley LD, Zismann VL (2001) Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Phytopathology* 91: 648–658.
- Henderson J, Pattemore JA, Porchun SC, Hayden HL, Van-Brunschot S, Grice RE, Peterson RA, Thomas-Hall SR, Aitken EAB (2006) Black Sigatoka disease: new technologies to strengthen eradication strategies in Australia. *Australasian Plant Pathology* 35: 181–193.
- Hernández A, Pérez L (2001) Reaction of Banana and plantains cultivars to Black Sigatoka disease caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Epidemiological components of the resistance. *Fitosanidad* 5(3): 9-19.



- Hernández, A., Pérez, J.M. y Bosch, I. D. 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ciudad de la Habana.
- Hernández, R (1995) Selección *in vitro* e invernadero de clones de *Musa* sp. para la evaluación de su resistencia a la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). Tesis en opción del grado científico de Master en ciencia. CATIE. pp 97.
- Heslop-Harrison JS, Schwarzacher T (2007) Domestication, genomics and the future for banana. *Annal of Botany* 100: 1073-1084.
- Hoque, A.; Ahmed, R. and Uddin, Hossain (2004). "Allelopathy effects of different concentration of water extract of *Eupatorium odoratum* leaf on germination and growth behavior of six agriculture crop". *Allelopathy Journal* 13 (1): 264 pp.  
<http://www.cimmyt.org/english/docs/manual/guiaTrigoCebada.pdf>
- Hunter GC, Wingfield BD, Crous PW, Wingfield MJ (2006) A multi-gene phylogeny for species of *Mycosphaerella* occurring on Eucalyptus leaves. *Studies in Mycology* 55(1): 147-161.
- INIBAP (2002). *MusaDoc* ISBN: 2-910810-51-8. International Plant Genetic Resources Institute.
- Jácome L, 1998. Sigatoka negra. La situación en América Latina y el Caribe 18-23 p. *In* memorias primer simposio internacional sobre sigatoka negra (M. M Robles et al, compil). Manzanillo, colima, México. 8-10 de Junio 1998. Sagar; INIBAP; Universidad de Colima; IICA.
- Johanson A, Jeger J (1993) Use of PCR for detection of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*, the causal agents of Sigatoka leaf spots in banana and plantain. *Mycology Research* 97 (6): 670-674.
- John, J.; Joy, M. and Abhilash, E. (2004). "Inhibitory Effects of *Tamarindus (Tamarindus indica* L.) on Polipathogenic Fungi " *Allelopathy Journal* 14 (1): 43–50 pp.
- Jones D (2003) The distribution and importance of *Mycosphaerella* leaf spot disease of banana. En: Jacome, L, Lepoivre P, Marín D, Ortiz R, Romero R y Escalant V (eds) *Mycosphaerella* leaf spot disease of bananas, present status and outlook. Proceeding of the Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot disease held in San José, Costa Rica. pp.25-42.
- Krishnamoorthy V, Kumar N, Angappan K, Soorianathasundaram K (2004) Evaluation of new banana hybrids against black leaf streak disease. *InfoMusa* 13 (1): 25-27.
- Leiva, (2004). Evaluación en casa de cultivo de la respuesta a la Sigatoka negra de dos cultivares de *Musa* mediante la inoculación artificial de suspensiones conidiales de *Pseudocercospora fijiensis*. *Biotecnología Vegetal* Vol. 4, No. 2: 77 - 84



- Leiva-Mora M, Alvarado-Capó Y, Acosta-Suárez M, Cruz MM, Roque MB (2008) Variabilidad patogénica de aislados de *Pseudocercospora fijiensis* sobre plantas de banano cv. Grande naine (AAA). Centro agrícola. Año 33. N°4. Oct-Dic: 29-33.
- Lenne JM (2002) Glossary of plant pathological terms. CAB International. Plant pathologist's Pocketbook (eds. Waller JM, Lenne JM, Waller SJ). Pp. 470-486.
- Leung H, Nelson RJ, Leach JE (1993) Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. *Advances in Plant Pathology* 10: 157-205.
- Macías, F.; Torres, A.; Maya, C. and Fernández, B. (2005). "Natural biocides from citrus waste as new wood preservatives (Consultado Enero 2010). Disponible en: [http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/2/2482\\_torresa.htm](http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/2/2482_torresa.htm)
- Mansaray, M. (2000). Herbal remedies food or medicine. *Chem. Ind.* 20 (16), 677- 678 pp.
- Marín D, Romero R, Guzmán M, Sutton T (2003) Black Sigatoka: An increasing threat to banana cultivation. *Plant disease* 87(3): 208-222.
- Marín O, Mass Marelis, Barrera J. y Robles Juana (2008), Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en plátano en Tierralta – córdoba. Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural.
- Meredith DS (1970) Banana leaf spot disease (Sigatoka) caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. *Phytopathological Papers* 11: 147-150.
- Meredith DS, Lawrence JS (1970) Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): Symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. *Transaction British Mycology Society* 52: 459-476.
- Mobambo K, Pasberg-Gauhl C, Gauhl F, Zuofa K (1994) Early screening for black leaf streak / black Sigatoka disease resistance under natural inoculation conditions. *Infomusa* 3(2): 14-17.
- Mobambo, K, Pasberg-Gauhl C, Gauhl F, Zuofa K (1994) Early screening for black leaf streak / black Sigatoka disease resistance under natural inoculation conditions. *Infomusa* 3 (2): 14-17
- Morales, L. (1997). Evaluación del potencial insecticida de cinco especies forestales. Tesis (Maestría en Entomología, Ingeniería Forestal), Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. p. 5-7, 11-16, 34-36.
- Mouliom-Pefoura, A (1995) Les cercosporioses des bananiers et plantains (*Mycosphaerella musicola* Leach et *M fijiensis* Morelet). *Epidémiologie et Ecologie dans le contexte des zones de production du Cameroun*. Ph.D. Thesis. University of Dschang, Cameroon.



- Mourichon X, Beveraggi A, Salle G (1990) Preformed substances as potential protectants against *Mycosphaerella fijiensis* in banana leaves. Leaf Spot Diseases of Bananas, Montpellier, Francia, INIBAP.
- Mourichon X, Lepoivre P, Carlier (2000) Black leaf streak. Host-pathogen interactions. Pp. 67-72 in Diseases of Banana, Abacá and Enset. (D.R. Jones, ed.). CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Mourichon X, Lepoivre P, Carlier J (2000) Host-pathogens interactions. Chapter 2. Fungal disease of the foliage. Pp. 67-72 in Diseases of Banana, Abacá and Enset. (D.R. Jones, ed.). CABI publishing, Wallingford, Oxford, UK.
- Mourichon, X, Lepoivre P y Carlier J (2000) Host-Patogen interacción. En: Jones, D (Ed.) Fungal Disease of the Foliage. Cap. 2, pp 67-72
- Mourichon, X, Peter D, Zapater M (1987) Inoculation expérimentale de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, sur jeunes
- Mourichon, X. (1997) *Mycosphaerella fijiensis*, Diversity and Possibilities for the early screening of germplasm for resistance. En: Jones, D (ed) The improvement and testing of *Musa*: A global partner ship. First Global conference of the international *Musa* testing program, La Lima, Honduras. Pp 47- 53.
- Obledo N.; A. Hernandez y M. López. 2004. Extractos vegetales, una opción en el control de la Sigatoka Negra. XVI Reunión Internacional ACORBAT. México. P. 184-191 (Memorias).
- of *Mycosphaerella fijiensis*. En: Jacome, L, Lepoivre P, Marín D, Ortiz R, Romero R y Escalant V (eds) *Mycosphaerella* leaf spot disease of bananas, present status and outlook. pp 169-175. Proceeding of the Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot disease held in San José, Costa Rica. INIBAP. Montpellier
- Orjeda G (1998) Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka negra y marchitamiento por *Fusarium*. Guías técnicas INIBAP 3. IPGRI, Roma, Italia; Red Internacional para el mejoramiento del banano y el plátano, Montpellier, Francia.
- Orozco, Santos M, 1998. Manejo integrado de la sigatoka negra del plátano. SAGAR, INIFAP, CIPAC. Campo experimental tecomán, Colima, México. Folleto técnico N<sup>o</sup>1 División Agrícola 95p
- Ortiz R, Vuylsteke D (1997) Inheritance of black Sigatoka resistance in plantain-banana (*Musa* spp.) Hybrids. Theoretical and Applied genetics, 89: 146-152.
- Otero AJ, Sarracent J, Hernández H, Sánchez M, Muirragui D, Villamar M, Moreta D, Jiménez MI, Perez L, Maribona RH (2007) Monoclonal Antibody-based TAS-ELISA for



- Quantitative Detection of *Mycosphaerella fijiensis* Antigens Journal of Phytopathology 155: 713–719.
- Ottaway, P. (2001). The roots of a healthy diet. Chem. Ind. 22, 42-44 pp.
- Palma, M.; Piñeiro, Z.; Rostagno, M. and Barroso, C. (2006). "Ultrasound-Assisted Extraction of Compounds From Foods." Ultrasonics Sonochemistry 4: 135-138 pp.
- Pérez, L (1996) Manual para el manejo integrado de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder) en bananos y plátanos. Proyecto TCP/CUB/4454. Control de la Sigatoka negra del banano y del plátano 45
- Pérez, L (1997) Control de la Sigatoka negra en Cuba: un enfoque de manejo integrado de la enfermedad. Infomusa. 7(1): 26-31.
- Pérez, L, Alvarez J y Pérez M (2002) Economic impact and management of black leaf streak disease in Cuba. En: Jacome, L, Leivre P, Marín D, Ortiz R, Romero R y Escalant V (eds) *Mycosphaerella* leaf spot disease of bananas, present status and outlook. Proceeding of the Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot disease held in San José, Costa Rica.pp. 71-84
- Pérez, L, Alvarez J, Pérez M (2002) Sigatoka Negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en Cuba: Impacto económico, Resistencia de los clones y manejo de la enfermedad. Fitosanidad 7(1): 31-41.
- Philbrick, J & Helen, P. (1984). El libro de los insectos, control inofensivo de los insectos. 3<sup>er</sup> ed. México. 119 p.
- Pino, J.A. 1996. Manejo sostenible para el combate de la Sigatoka negra. Informe de investigación. INIVIT. Cuba.
- Ploetz R, 2000. La enfermedad más importante del banano y el plátano una breve introducción a la historia, importancia y manejo de la sigatoka negra. 117p in reunión ACORBAT 2000. Memorias, mesa redonda sigatoka negra.
- Porrás A, Pérez VL (1997) Efecto de la temperatura en el crecimiento de los tubos germinativos de las ascosporas de *Mycosphaerella* spp. causantes de Sigatoka en plátanos. Cálculo de las sumas de velocidades de desarrollo para el pronóstico de los tratamientos a partir de la temperatura máxima y mínima diarias en Cuba. Infomusa 6(2): 27-31.
- Puente, I. Mayra. (2007). "Efecto de diversos extractos de plantas sobre los hongos fitopatógenos del suelo *Rhizoctonia solani* (Kuhn) y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.)". Tesis



- para la obtención de grado de Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias Agropecuarias, pp. 97. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba.
- Ramírez, Teresa, González Lianet , Hernández M, Ventura J, Reinaldo E, GálvezR, Fernández S. 2008. TMP-3 Nigeria: Nuevo clon de plátano introducido en Cuba. Premio ACC 2008. CITMA Provincial. Santa Clara, Villa Clara. 25pp.
- Ramírez, Teresa. 2003. Obtención de Híbridos de Bananos y Plátanos en el Programa de Mejoramiento Genético de *Musa* spp. en el INIVIT. Tesis en opción a Grado Científico de Máster en Agricultura Sostenible. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu de las Villas". Santa Clara.80 pp.
- Raut SP, Ranade S (2004) Diseases of Banana and their Management. En: Naqui, SAMH (ed) [Diseases of Fruits and Vegetables. Volume II](#).Kluwer Academic Publishers, pp. 37-52
- Reignault P, Sancholle M (2005) Plant-pathogen interactions: will the understanding of common mechanisms lead to the unification of concepts? *Comptes rendus biologies* 328(9): 821-33.
- Ribeiro, L. y Bendendo, I. (1999). Efeito inibitório de extratos vegetais sobre
- Riveros A, Giraldo CI, Gamboa A (2003) Microbiological control of black leaf streak disease. *Mycosphaerella* leaf spot disease of banana: present status and outlook. Proceeding of the workshop of the *Mycosphaerella* leaf spot diseases. , San José (Costa Rica) INIBAP.
- Robinson, JC (1996) Bananas and Plantains. Crop production science in Horticulture 5. CAB International. Wallingford, UK, 238 pp.
- Rodes, A, 1964. A new disease in fiji. *Commonwealth phytopathological news* (kew) 10: 30-41p
- Rodríguez-García CM, Navarrete-Mapen RZ, Peraza-Echeverría L (2007) Characterization of the *in vitro* conidial morphology of *Mycosphaerella fijiensis*, a major pathogen of banana. *Australasian Plant Pathology* 36: 369–372.
- Romero, R (2000) Control. Host-Patogen interacción. En: Jones, D (Ed.) *Fungal Disease of the Foliage*. Cap. 2, pp 72-75.
- Roux N, Baurens FCh , Doležel J, Hřibová E, Heslop-Harrison P, Town Ch , Sasaki T , Matsumoto T , Aert R, Remy S, Souza M, Lagoda P (2006) Genomics of Banana and Plantain (*Musa* spp.), Major Staple Crops in the Tropics. En: (Moore PH y Ming R, eds) [Genomics of Tropical Crop Plants](#) Springer New York, pp. 83-111.
- Rowe, P; Rosales, F. 1993. Mejoramiento genético de diploides. *MUSALIT*. Bananas Bioersity International. FHIA, La Lima (HND)



- Sacristán S, García-Arenal F (2008) The evolution of virulence and pathogenicity in plant pathogen populations. *Molecular Plant Pathology* 9 (3): 369–384.
- Sanabria, A. (1983). Analisis fotoquímico preliminar: Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de familia Compositae. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. p. 46-49.
- Sandoval, F. (2005). Caracterisation de la Production et Optimisation du Processus d'Extraction des Colorants de la Plantae de Añil (*Indigofera suffruticosa* MILL).
- Schoch CL, Shoemaker RA, Seifert KA, Hambleton S, Spatafora JW, Crous PW (2006) A multigene phylogeny of the *Dothideomycetes* using four nuclear loci. *Mycologia*, 98(6): 1041-1052.
- Shaner G, Finney RE (1992) The effect of nitrogen fertilization on the expression of show-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- Slusarenko AJ, Fraser RSS, Van Loon LC (2001) Genetics of disease resistance. Basic concepts and application in resistance breeding. En: *Mechanisms of resistance to plant diseases* (Slusarenko AJ, Fraser RSS, Van Loon LC Eds.). Kluwer Academic. Pp 101-160.
- Souza CAJ, Silva CC, Ferreira AVB (2003) Sex in fungi: lessons of gene regulation. *Genetics and Molecular Research* 2(1): 136-147.
- Stover R, 1978. Field observations on benomyl tolerance in ascósporas of (*Mycosphaerella fijiensis*) var. *Difformis*. *Trans.Br. mycal. Soc.* 69: 500-502p
- Stover R, 1984. Las manchas producidas por la sigatoka en hojas de plátanos y bananos. Curso internacional de reconocimiento, diagnóstico y control de sigatoka negra del plátano y banano. Mayo 14-18p. Tulenapa-Colombia 15p
- Stover R, Dickson JD (1970) Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. *Methods of measuring spotting prevalence and severity.* *Tropical Agriculture Trinidad* 47: 289-302.
- Stover RH (1976) Distribution and cultural characteristics of the pathogens causing banana leaf spot. *Tropical Agriculture Trinidad* 53: 111-114.
- Stover RH, (1971) *Banana, plantain and abaca diseases* commonwealth mycological institute, kew, Surrey, England 316p
- Stover RH, (1990) Sigatoka leaf spot: thirty years of changing control strategies; 1959-1989., 66-74p in *sigatoka leaf spot diseases of banana: proceeding of on international workshop held at San José, Costa Rica, March 28-april 1. 1989.* INIBAP. Montpellier, France.



- Stover RH, Simmonds NW (1987) Bananas. Tropical Agriculture Series. Longman, Harlow, UK.
- Stover, RH (1980) Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. Plant Diseases repoter 64(8): 750-758
- Stover, RH y Simmonds N (1987) Bananas. 3rd ed. Longman Scientific & Technical. Essex, England.
- Vakili N (1968) Response of *Musa acuminata* species and edible cultivars to infection by *Mycosphaerella musicola*. Tropical Agriculture Trinidad 45: 13-22.
- Van Der Plank, J. . Disease resistance in plants — New York : Academic Press, 1968.- 206 p.
- Vergara, R (1994). Investigación sobre extractos dfe plantas con propiedades insecticidas. Memorias Primer Seminario Nacional de Plantas Aromáticas. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. p. 48-51, 54, 59-60.
- Vidal, A. 1992. Sigatoka negra en Cuba. En nuevos focos de plagas y enfermedades. Boletín Fitosanitario de la FAO 40: (1-2).
- Villa, M. (1999). Potencial de extractos vegetales. Aconteceres Entomológicos. Segundo seminario, Medellín. p. 32-40.
- Zapata, R.; Sanabria, M. y Rodríguez, D. (2003). Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extracto de cardón lefaria (*Cereus deficiens* Otto & Diert.) *Interciencia*. 28: 302-306 pp.



# *ANEXOS*



## 8. ANEXOS

**Anexo 1:** Diseño de experimento en campo.

RELLENO						
Selección INIVT (10)		CEMSA ¾ (6)		INIVIT-0630 (7)		TMP-3 (8)
FHIA 21 (9)		Selección INIVT (10)		CEMSA ¾ (6)		INIVIT-0630 (7)
TMP-3 (8)		FHIA 21 (9)		Selección INIVT (10)		CEMSA ¾ (6)
INIVIT-0630 (7)		TMP-3 (8)		FHIA 21 (9)		Selección INIVT (10)
CEMSA ¾ (6)		INIVIT-0630 (7)		TMP-3 (8)		FHIA 21 (9)
Manzano INIVT (5)		Gran enano (1)		FHIA 18 (2)		FHIA 25 (3)
H-10 (4)		Manzano INIVT (5)		Gran enano (1)		FHIA 18 (2)
FHIA 25 (3)		H-10 (4)		Manzano INIVT (5)		Gran enano (1)
FHIA 18 (2)		FHIA 25 (3)		H-10 (4)		Manzano INIVT (5)
Gran enano (1)		FHIA 18 (2)		FHIA 25 (3)		H-10 (4)
I	II	III	IV			



**Anexo 2:** Características morfoagronómicas fundamentales del híbrido de banano **H-10** obtenido por el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos del INIVIT



Foto: Cortesía de MSc. Teresa Ramírez.

Altura: 2.27 m

Perímetro del Pseudatallo: 44 cm

No. de Hojas Totales: 9

No. Hojas en Floración: 9

No. de Manos: 10

No. de Dedos Totales: 147

Largo del Dedo: 14

Perímetro del Dedo: 13.5

Peso del racimo: 18 kg.



**Anexo 3:** Características morfoagronómicas fundamentales del híbrido **Manzano INIVIT** obtenido por el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos del INIVIT.



Foto: Cortesía de MSc. Teresa Ramírez.

Hábito foliar: Normal (intermedio)

Altura: Superior a 3m

Color del pseudotallo: Verde- rojizo

Color del fruto: Verde claro

Posición de los frutos: Paralelos al raquis

Duración del primer ciclo vegetativo: 288-310 días

Duración del primer ciclo productivo: 90-110 días

Peso neto del racimo (sin raquis): 19-25 Kg.

Número de dedos por racimo: 200-250.



**Anexo 4:** Características morfoagronómicas fundamentales del híbrido **INIVIT PV\_0630** obtenido por el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos del INIVIT.



Foto: Cortesía de MSc. Teresa Ramírez.

Altura: Media de 2 m

Perímetro del pseudotallo: 44 cm.

Peso neto del racimo: 15-20 kg.

Número de dedos por racimo: 26



**Anexo 5:** Características morfoagronómicas fundamentales del genotipo mejorado **Selección INIVIT** obtenido por el Programa de Mejoramiento de Bananos y Plátanos del INIVIT.



Foto: Cortesía de MSc. Teresa Ramírez.

Hábito foliar: Muy decumbente

Color del pseudotallo: Verde rojizo

Color del fruto: Verde medio

Altura: 3.40 m

Perímetro del pseudotallo: 59.7 cm

Peso del racimo: 23.44 kg.

Número de dedos por racimo: 110

Longitud de los frutos: 21-25 cm

Ciclo productivo: 467.09 días

Color de la cáscara inmadura: Verde medio

Color de la pulpa madura: Crema





**Anexo 7:** Información ambiental del período comprendido entre febrero de 2009 y marzo de 2010.

<b>Acumulado lluvia</b>	<b>Ene</b>	<b>Feb.</b>	<b>Mar</b>	<b>Abr.</b>	<b>May</b>	<b>Jun.</b>	<b>Jul.</b>	<b>Ago.</b>	<b>Sep.</b>	<b>Oct.</b>	<b>Nov.</b>	<b>Dic.</b>
2009	13,9	19,2	8,2	7,4	217,1	228,1	156,4	101,4	220,7	37,9	77,3	65,7
2010	5,8	90	50,4									
<b>Temp. máx.</b>	<b>Ene</b>	<b>Feb.</b>	<b>Mar</b>	<b>Abr.</b>	<b>May</b>	<b>Jun.</b>	<b>Jul.</b>	<b>Ago.</b>	<b>Sep.</b>	<b>Oct.</b>	<b>Nov.</b>	<b>Dic.</b>
2009	26,8	26,9	29,3	32,0	33,2	32,8	34,4	34,5	33,7	32,5	29,8	29,6
2010	26,5	26,5	27,6									
<b>Temp. mín.</b>	<b>Ene</b>	<b>Feb.</b>	<b>Mar</b>	<b>Abr.</b>	<b>May</b>	<b>Jun.</b>	<b>Jul.</b>	<b>Ago.</b>	<b>Sep.</b>	<b>Oct.</b>	<b>Nov.</b>	<b>Dic.</b>
2009	14,5	13,6	15,0	18,6	20,2	22,0	23,2	23,0	22,4	21,4	18,3	18,1
2010	13,8	14,0	14,0									



## **Anexo 8.** Descripción botánica de las Plantas empleadas para los tratamientos.

### **Cundeamor**



**Nombre científico:** *Momordica charantia* L.

**Familia:** *Cucurbitaceae*

**Nombre Común:** Bálsamo, catajera, cundeamor, melón amargo. Melón de ratón, cunde amor, papayiyo y pepino cimarrón.

### **Caña santa**



**Nombre científico:** *Cymbopogon citratus* (DC.) Staff

**Familia:** *Poaceae* (Graminae)

**Nombre común o vulgar:**

Caña Santa, cañita de limón, cañuela de limón, cañita santa, yerba de la calentura, yerba de limón (Cuba), lemongrass (Florida y Antillas Inglesas, limoncillo, matojo de limón, chiendent citronnelle (Antillas Francesas), malojillo (Venezuela), limonera (Guyana).



## **Salvia**



**Nombre científico:** *Salvia officinalis* L.

**Familia:** *Lamiáceas*

**Nombres vulgares:**

Salvia real, té indígena, hierba sagrada, cansaperro, escoba negra, goce de gallina, hierba de cangro, mastranto, mozote de gallina, mozotillo, oreja de perro, pegapega, salvia, quinde, almoraduz, curreto.

**Descripción botánica:**

Arbusto, hasta de un metro de altura, aromático, tallo cuadrangular. Hojas opuestas, perennes, ovales, rugosas, de color gris verdoso. Flores violetas o blancas agrupadas en espigas terminales. Frutos indehiscentes y de forma ovoidal.



## **Limoncillo**



**Nombre científico:** *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr

**Nombre Común:** Limón swinglea, naranja swinglea, limoncillo y swinglea

**Familia:** *Rutaceae*

### **Descripción botánica**

Árbol que crece hasta 15 m en altura y 40 cm DAP, tronco corto, algo torcido y algunas veces acanalado; su copa tiene forma redondeada y es densa; sus ramas nacen a baja altura; sus ramitas son cortas y delgadas, su color es verde y posee espinas.

**Hojas** Miden 15 cm de largo por 40 cm de ancho, son alternas compuestas y están conformadas por tres folíolos, con un folíolo terminal del doble de largo que los otros dos, son helicoidales, de color verde oscuro, poseen puntos traslúcidos de borde entero, no presentan estípulas.

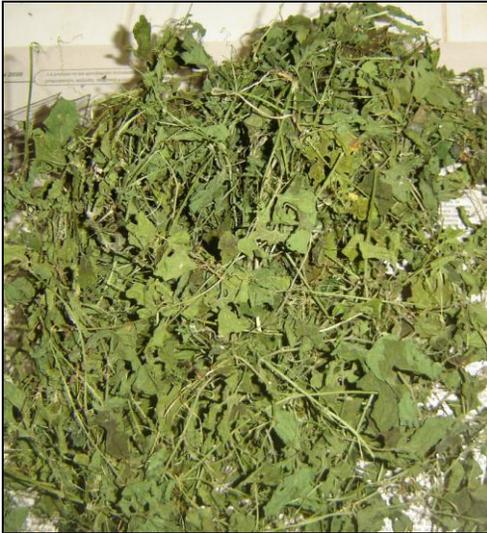
**Flores** Miden 1.5 cm de largo por 1 cm de ancho, sus pétalos son de color verde amarillo, su cáliz es de color verde, su gineceo tiene forma de botellita y están dispuestas en inflorescencias en forma de pequeños racimos terminales.

**Fruto** Miden 10cm largo por 7 cm de diámetro, tienen forma elíptica, su superficie es rugosa y su color es verde, parecidos a un limón grande, su cáscara es gruesa, son fragantes, su pulpa es de color amarillo y cada uno contiene numerosas semillas.

**Semillas** Miden 10 mm de largo, 5 mm de ancho y 1 mm de grosor, de color amarillito algo aplanadas, tienen forma de elipse y conservan algo de fibra en su interior



**Anexo 9.** Material seco (MS) utilizado para la elaboración de Extractos Vegetales



MS Cundeamor



MS Salvia



MS Limoncillo



MS Caña Santa



**Anexo 10.** Modelo utilizado para la recolección de datos.

<b>Fecha:</b>											
<b>tratamientos</b>	<b># Evaluación</b>	<b>Plantas x tratamiento</b>									
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
T1											
T2											
T3											
T4											
T5											
Testigo											

**Anexo 11.** Registro de temperatura y humedad obtenidas en la casa de cultivo.

<b>Mes</b>	<b>Temp. Máx.</b>	<b>Temp. Min.</b>	<b>Media</b>	<b>Humedad %</b>
Octubre	34,5	23,8	29,6	95
Noviembre	30,3	20,7	25.5	85-90
Diciembre	26,3	14,8	20.5	70-80



**Anexo12.** Presencia de síntomas en plantas inoculadas con *P. fijiensis*, bajo el efecto de los EV.

