

Influencia de la época del año en el desarrollo de síntomas en plantas de 'Grande naine' inoculadas artificialmente con *Mycosphaerella fijiensis* en casa de cultivo

M. Leiva-Mora, Y. Alvarado-Capó, M. Acosta-Suárez, M. Cruz-Martín, C. Sánchez-García, B. Roque

Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830 e-mail: michel@ibp.co.cu

RESUMEN

Los hongos fitopatógenos para invadir y colonizar los tejidos vegetales, requieren condiciones ambientales favorables, las cuales pueden variar en dependencia de la época del año. El presente trabajo tuvo como objetivo: determinar la influencia de diferentes épocas (junio-agosto y agosto-octubre) sobre el desarrollo de síntomas en plantas de Grande naine inoculadas artificialmente con *Mycosphaerella fijiensis* en casa de cultivo. Los ensayos de inoculación fueron replicados durante tres años consecutivos (2005, 2006 y 2007). No se apreciaron diferencias entre las épocas de junio-agosto y agosto-octubre, al evaluar la intensidad de ataque a los 14, 21, 35, 49 y 63 días posteriores a la inoculación (dpi), lo cual demuestra que el desarrollo de los síntomas en casa de cultivo fue similar en el período de junio-octubre. No todos los laboratorios donde se conducen estudios relacionados con *M. fijiensis*, disponen de condiciones controladas de temperatura y humedad; por lo cual elegir la época óptima para efectuar inoculaciones artificiales, es un requisito necesario para reproducir eficientemente el ciclo infectivo de *M. fijiensis* y evitar enmascaramiento en el fenotipo de la resistencia.

Palabras clave: intensidad de ataque, micelio, Sigatoka negra

ABSTRACT

Plant pathogen fungi required favorable conditions to invade and colonize plant tissues, which may change according to the season of the year. This work is aimed to evaluate the influence of different seasons (June-August and August-October) in the development of symptoms in 'Grande naine' artificially inoculated with *Mycosphaerella fijiensis* in greenhouse. Inoculation assays were done during three consecutive years (2005, 2006 and 2007). None differences in attack intensity between different seasons were observed, at 14, 21, 35, 49 y 63 days post inoculation (dpi). This shows that the development of symptoms in greenhouse was similar in the period from June to October. Temperature and humidity have not been controlled by all laboratories that conduct studies related to *M. fijiensis*. Then, to choose the appropriate season for artificial inoculations is a prerequisite for effective development of *M. fijiensis* infective cycle and to avoid masking in the phenotype of resistance.

Key words: attack intensity, Black Sigatoka, mycelia

INTRODUCCIÓN

Los bananos y los plátanos (*Musa* spp.) son componentes importantes de la dieta humana en casi todos los países del mundo, ya sea como alimento cocido o como fruta fresca (Aguilar y Kohlmann, 2006).

La Sigatoka negra es una de las amenazas más grandes a las cuales se enfrenta la industria bananera en todo el mundo (Cintra *et al.*, 2008). Dicha enfermedad foliar afecta la fotosíntesis y reduce el potencial de conservación de los frutos.

En invernadero, se ha logrado la reproducción de los síntomas de la Sigatoka negra mediante diferentes métodos de inoculación artificial (Mourichon *et al.*, 1987; Donzelli y Churchill, 2009).

El desarrollo de enfermedades fúngicas en numerosos cultivos tropicales, incluyendo los bananos, pueden afectarse por los cambios ambientales y climáticos (Ghini *et al.*, 2011). Varios hongos fitopatógenos para su normal desarrollo requieren de la prevalencia de ciertas condiciones ambientales las cuales pueden variar en dependencia de la época del año.

En Cuba, la Sigatoka negra en condiciones de verano, logra acortar el tiempo de evolución de los síntomas cuando existe una presión de inóculo elevada y prevalecen altas temperaturas así como numerosas precipitaciones (Porras y Pérez, 1997). Estas condiciones, favorecen el rápido desarrollo de sectores necróticos en las hojas infectadas e inducen la formación de grandes cantidades de pseudotecios y ascosporas (Pérez, 1997). Sin embargo, en casa de cultivo aún no se ha estudiado la influencia de la época del año en el desarrollo de síntomas en plantas de 'Grande naine' inoculadas artificialmente con *M. fijiensis*. Esto, constituye una gran limitante para la evaluación temprana de la respuesta de cultivares de *Musa* procedentes de programas de mejoramiento genético.

Tomando en cuenta lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la influencia de diferentes épocas del año sobre el desarrollo de síntomas en plantas de 'Grande naine' inoculadas artificialmente con *M. fijiensis* en casa de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se evaluaron la influencia de dos épocas del año (junio-agosto y agosto-octubre) en el desarrollo de la Sigatoka negra en casa de cultivo, mediante la inoculación artificial de *M. fijiensis*. Los ensayos de inoculación fueron replicados durante tres años consecutivos (2005, 2006 y 2007).

Material vegetal

Se emplearon plantas de banano 'Grande naine' (*Musa* spp. AAA) obtenidas por cultivo *in vitro*. Estas se aclimatizaron en casa de cultivo con sustrato compuesto por 50% de humus de lombriz, 30% de compost y 20% de zeolita en una razón de 5:3:2 (v/v) en recipientes de 500 ml de volumen y se mantuvieron hasta alcanzar como mínimo, 20 cm de altura y al menos tres hojas activas. La intensidad luminosa se reguló mediante una malla sombreadora plástica de color negro, que permitió el paso del 70.0% de la luz solar ($3\ 361\ \mu\text{mol m}^2\ \text{s}^{-1}$, medido con Extech Light Meter 401025). Transcurrido este período de tiempo, las plantas fueron colocadas en un cuarto de inoculación en el cual la intensidad luminosa era de $3841\ \mu\text{mol m}^2\ \text{s}^{-1}$.

Preparación de suspensiones miceliales

Se empleó el aislado CCIBP-Pf80, procedente de la Colección de Cultivos Microbianos del IBP. Las suspensiones miceliales se prepararon acorde a lo descrito por Leiva-Mora *et al.* (2010).

Inoculación y evaluación

La inoculación artificial, se realizó con un pincel sobre el envés de las tres hojas más jóvenes totalmente extendidas, utilizando gelatina 0.1% (m/v) como adherente. Posteriormente, se dejaron secar durante dos horas las hojas inoculadas y luego se elevó la humedad relativa al 100% (riego constante) durante los tres primeros días y después se mantuvo por encima del 70% con riegos varias veces al día. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 25 plantas de 'Grande naine' para cada una de las épocas evaluadas. Se determinó la intensidad de ataque a los 14, 21, 35, 49 y 63 días posteriores a la inoculación artificial (dpi), acorde con la escala evaluativa descrita por Alvarado-Capó *et al.* (2003).

Registro de variables meteorológicas

Diariamente, se registró la temperatura y la humedad relativa en tres momentos del día (8:30 am, 12:30 pm y 4:30 pm), mediante un termohigrómetro electrónico (EM-913, Oregon Scientific).

Procesamiento estadístico de los datos

El procesamiento estadístico de los datos de las variables evaluadas se realizó con el paquete estadístico *Statistic Package for Social Science* (SPSS) versión 16.0 para Windows. Para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Kruskal Wallis para $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se demostró que mediante la inoculación artificial de suspensiones miceliales de *M. fijiensis* en las épocas de junio-agosto y de agosto-octubre durante los tres años evaluados, se logró el desarrollo de síntomas típicos de la enfermedad en plantas de 'Grande naine' en casa de cultivo. Al evaluar la intensidad de ataque a los 14, 21, 35, 49 y 63 dpi, entre las diferentes épocas no se apreciaron diferencias significativas, lo cual

reafirma que el desarrollo de los síntomas en casa de cultivo fue similar entre las épocas de junio-agosto y agosto-octubre.

Comúnmente la incidencia y severidad de *M. fijiensis* es mayor a medida que la temperatura y humedad es más elevada, lo cual en Cuba coincide con los meses de mayo-octubre y por ello en este ensayo se utilizó dicho período.

Según Pérez *et al.* (2000) además de la temperatura y la humedad es importante tener en cuenta las lluvias y su intensidad; así como la humedad de las hojas y la evaporación Piche para realizar en condiciones naturales el pronóstico bioclimático del desarrollo de la enfermedad y con ello realizar los tratamientos químicos para el control eficiente de esta enfermedad.

El estudio de la influencia de condiciones climáticas en el desarrollo de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos ha sido utilizado en varios patosistemas. Romero y Sutton (1997) evaluaron tres temperaturas de incubación (20°C, 26°C y 30°C) en plantas de *Musa* inoculadas artificialmente con *M. fijiensis* y demostraron que la temperatura influye en la duración del período de incubación. En esta experiencia con la temperatura de 26°C se redujo el período de incubación. Asimismo, otros investigadores han analizado la influencia del ambiente físico en diferentes épocas del año y zonas productoras de plátanos y bananos, coincidiendo que las épocas de lluvia con elevadas precipitaciones y temperaturas; favorecieron el desarrollo de *M. fijiensis* (Jacome y Schuh, 1992; Gauhl, 1994).

El resultado del presente ensayo es importante en la selección de una época adecuada para realizar inoculaciones artificiales de *M. fijiensis* en casa de cultivo y evitar enmascarar el fenotipo de la resistencia en genotipos de *Musa* spp. que se evalúen en períodos desfavorables donde las condiciones del ambiente físico (temperatura y humedad) influyan negativamente. No todos los laboratorios donde se conducen estudios relacionados con *M. fijiensis*, disponen de condiciones controladas de temperatura y humedad; por lo cual elegir la época óptima para efectuar inoculaciones artificiales, es un requisito necesario para reproducir eficientemente el ciclo infeccioso de este patógeno.

CONCLUSIONES

Se determinó que entre las épocas de junio-agosto y agosto-octubre no se observaron diferencias en el desarrollo de los síntomas de Sigatoka negra en plantas de 'Grande naine' obtenidas por cultivo *in vitro* e inoculadas artificialmente con *M. fijiensis* en casa de cultivo. La intensidad de ataque entre épocas fue similar. Estos resultados corroboraron la idea planteada por Mourichon *et al.* (1987), sobre la posibilidad de usar micelio como inóculo artificial de *M. fijiensis* y la reproducción de síntomas en plantas procedentes del cultivo *in vitro*.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación ha sido posible gracias al apoyo financiero de la Fundación Internacional para la ciencia (International Foundation for Science, IFS) en particular al proyecto de investigación NO.C/4296-1 (Research Grant Agreement).

REFERENCIAS

- Aguilar FX, Kohlmann B (2006) Willingness to consume and produce transgenic bananas in Costa Rica. *International Journal of Consumer Studies*. 30 (6): 544–551
- Alvarado-Capó Y, Leiva-Mora M, Rodríguez MA, Acosta-Suárez M, Cruz-Martín M, Portal N, Kosky RG, García L, Bermúdez-Carabaloso I, Padrón J (2003) Early evaluation of Black leaf streak resistance by using mycelial suspension of *Mycosphaerella fijiensis*. En: Jacome L, Leproive P, Martin D, Ortiz R, Romero R, Escalant JV (Eds). *Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook*, pp. 169-175. INIBAP, Montpellier
- Cintra WJ, Valadares R, Avelino RC, Bucker WM, Xavier FRV, Ramos AF, Anderson PP (2008) Worldwide geographical distribution of Black Sigatoka for banana: predictions based on climate change models. *Scientia Agricola*. 65: 40-53
- Donzelli BGG, Churchill ACL (2009) A Dose-Response approach differentiating virulence of *Mycosphaerella fijiensis* strains on banana leaves uses either spores or mycelia as inocula. *Acta Hort*. 828: 153-159
- 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.