

Estudio de la Susceptibilidad a la Sigatoka Negra *Mycosphaerella fijiensis* en Plantas Micropropagadas de *Musa* cv. 'Falso Cuerno' AAB¹

A.C. Tapia*, J.A. Sandoval*, L. Müller**, J.V. Escalant***, V.M. Villalobos*

ABSTRACT

The Fouré scale was used to evaluate the effect of black sigatoka on *in vitro* plants of *Musa* cultivar 'False Horn' (AAB), derived from five subcultures. The study of the incubation and evolution phases of the disease showed significant differences for the first generation throughout the evolutionary period. This period was longer for materials that subdivided more than twice. No significant differences were observed in the second generation. Analysis of the results showed good performance and yield of the materials under study, as well as a considerable resistance to the disease.

INTRODUCCION

El plátano es un cultivo importante en el trópico húmedo de América Central, el Caribe y parte de Suramérica por ser una fuente básica de alimento y de divisas para las poblaciones de dichos países.

La productividad del plátano en Costa Rica se ha visto afectada después de la aparición de la Sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* ocurrida en 1979. Hubo abandono y deterioro de gran parte de las áreas productivas, las cuales disminuyeron de 10 000 ha antes de 1979 a 5 000 ha aproximadamente en 1987 (4).

¹ Recibido para publicación el 7 de setiembre 1990

Los autores agradecen al Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID) de Canadá, por la ayuda brindada para la ejecución de este estudio mediante el proyecto 3p-86-0105: Evaluación del potencial de la variación somaclonal para la obtención de mutantes en *Musa*. Así como a los asistentes de investigación en *Musa* de la Unidad de Biotecnología del CATIE.

* CATIE, Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales. Apdo. 15. Turrialba, Costa Rica.

** Apartado 336, Centro Colón, 1007 San José, Costa Rica.

*** IRFA/CIRAD-CATIE. Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales. Apdo. 15. Turrialba, Costa Rica

COMPENDIO

Se utilizó la escala de Fouré para evaluar la incidencia de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en plantas *in vitro* de *Musa* cv. 'Falso Cuerno' (AAB), provenientes de cinco ciclos de multiplicación. El estudio del período de incubación y evolución de la enfermedad, evidenció diferencias significativas para la primera generación, a lo largo del período de evolución. Este período fue más largo para los materiales que se subdividieron más de dos veces. En la segunda generación no hubo diferencias significativas para ninguna de las variables evaluadas. La evaluación de los resultados indicó un buen comportamiento de los materiales estudiados ante la enfermedad, obteniéndose rendimientos aceptables.

Durante la evolución y domesticación de los plátanos y los bananos, las mutaciones somáticas espontáneas han tenido un papel importante (8). Sin embargo, existe baja variación genética debido a la condición partenocárpica estéril de la mayoría de las musáceas comestibles, la cual dificulta su mejoramiento por métodos convencionales (13, 14).

Se han observado en plantaciones de *Musa* obtenidas mediante multiplicación de ápices *in vitro*, características diferentes a la planta que les dio origen. Este fenómeno se conoce como variación somaclonal (10, 13, 14). Esta variación puede ser una fuente potencial de variabilidad útil que debe ser estudiada. Así por ejemplo, Hwang y Ko (6) seleccionaron plantas de banano tolerantes a *Fusarium oxysporum* raza 4, después de varios ciclos de multiplicación *in vitro*.

El presente estudio se realizó con el objetivo de sembrar en el campo plantas micropropagadas de plátano cv 'Falso cuerno' (AAB), para analizar su comportamiento en cuanto a la Sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* y se discuten los resultados de dos generaciones del cultivo.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo en la Estación Experimental La Lola, CATIE, ubicada en el bosque tropical húmedo con transición a muy húmedo y situada a 40 msnm, con una precipitación promedio anual de 3 534 mm, temperaturas de 20.3 y 29.9°C y una humedad relativa de 85.7% (5). La estación se encuentra rodeada por plantaciones comerciales de banano.

El material de plátano evaluado, se multiplicó asépticamente en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del CATIE, mediante la metodología descrita a continuación: Hijuelos de cv 'Falso cuerno' (AAB) fueron separados de plantas cultivadas en el campo, ubicadas en un mismo lote. Se le eliminaron a los hijuelos las partes externas del corino y las vainas foliares hasta obtener secciones de aproximadamente 5 cm de largo y diámetro, que contenían al ápice vegetativo. Este material fue sometido durante 20 minutos, a una primera desinfección con hipoclorito de sodio (5.25%) sin diluir, seguido por dos lavados de cinco minutos con agua estéril. En condiciones asépticas se redujo el tamaño del material aún más, hasta 2 cm aproximadamente; este explante consistió entonces de una parte del corno y varios primordios foliares envolventes del meristema (12).

Seguidamente, se realizó una segunda desinfección por espacio de 10 minutos con hipoclorito de sodio 0.5% (v/v) más dos gotas de Tween 20 por cada 100 ml de solución desinfectante. Después se practicaron dos lavados de tres minutos cada uno con agua estéril y se procedió asépticamente a reducir el tamaño de los ápices hasta 5 mm de longitud y diámetro.

Los explantes fueron sometidos a un tratamiento antioxidante mediante su permanencia durante 10 min. en una solución acuosa estéril de cisteína HCL (50 mg/l) (12), luego fueron inoculados.

Los explantes se cultivaron en el medio básico de Murashige y Skoog (7), suplementado con: sacarosa 30 g/l, mio-inositol 100 mg/l, ácido nicotínico 0.5 mg/l, piridoxina-HCL 0.5 mg/l, tiamina HCL 0.1 mg/l, glicina 2 mg/l, 6-benciladenina (BA) 1 mg/l y bacto agar (Difco) 7 g/l. El pH del medio se ajustó a 5.7 con NaOH 1 N antes de colocar alícuotas de 10 ml en tubos de vidrio de 11 x 2.5 cm. La esterilización se realizó en autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² durante 15 min.

La etapa de iniciación duró aproximadamente 30 días, luego los explantes fueron transferidos al medio anteriormente descrito, pero con mayor cantidad de citocinina (4 mg/l de BA). Se realizaron cinco ciclos

(S₁-S₂-S₃-S₄-S₅) de multiplicación a intervalos de 30 días cada uno. De cada subcultivo se tomaron 100 brotes que fueron separados e inoculados en el medio básico, en ausencia de citocinina para estimular el crecimiento y el enraizamiento.

Durante las tres fases de cultivo (iniciación, multiplicación, enraizamiento), los explantes se incubaron a 27 ± 2°C, 70% de humedad relativa, un fotoperíodo de 16/8 horas y una iluminación de 3 000 lux al nivel de los cultivos. Una vez ocurrida la rizogénesis, el total de plantas obtenidas en los subcultivos fueron transferidas a condiciones de suelo en invernadero para su aclimatación y 90 días después se sembraron en el campo.

Esta metodología se utilizó para observar si existía relación entre el número de subcultivos y la incidencia de Sigatoka Negra.

De cada tratamiento (Subcultivos S₁, S₂, S₃, S₄, S₅) se escogieron al azar 10 plantas a las cuales se les realizaron semanalmente las evaluaciones sobre la incidencia de la enfermedad, según la escala de Fouré (1) (Cuadro 4). El subcultivo S₁ se consideró como testigo.

Las variables evaluadas fueron:

- Período de incubación (días transcurridos desde la salida de la hoja número uno (en estado de cigarro) y la aparición del primer síntoma de la enfermedad (1)).
- Período de evolución (días transcurridos desde la aparición del primer síntoma hasta el estado cinco o seis de la enfermedad (necrosis en más del 30 o 50% del área foliar afectada respectivamente) (1)).
- Número de hojas presentes a la cosecha.
- Componentes del rendimiento (peso del racimo (kg), número de dedos por racimo, y número de manos por racimo).

RESULTADOS

La interpretación de los resultados para las dos generaciones de cultivo indican que no se obtuvieron diferencias significativas para el período de incubación (P.I) de la enfermedad (Cuadro 1). Este comportamiento no se presentó en el caso del período de evolución (P.E) de los síntomas, en el cual hubo diferencias significativas para la primera generación en aquellos materiales que fueron multiplicados más de dos veces. Sin embargo, esta situación no fue estable en la

Cuadro 1. Período de incubación (P.I) y de evolución (P.E) de la Sigatoka Negra, para dos generaciones de plantas micropropagadas del cv. 'Falso Cuerno'. CATIE. Estación Experimental La Lola, Limón. 1990.

Tratamientos	Generaciones			
	Primera		Segunda	
	P.I.	P.E.	P.I.	P.E.
S1	14 77 a*	28 63 a	16 90 a	28 88 a
S2	14 77 a	28 82 a	14 60 a	29 75 a
S3	14 30 a	33 22 b	14 80 a	25 20 a
S4	14 80 a	36 09 b	15 70 a	24 20 a
S5	15 82 a	37 22 b	16 90 a	27 25 a

* Letras iguales no difieren significativamente al 5% según la prueba de Test T Student. LSD

segunda generación donde no se encontraron diferencias para ninguno de los tratamientos con respecto a esta variable.

El número de hojas que presentaron las plantas al momento de realizar la cosecha, no difirió entre tratamientos, pero sí entre generaciones. El número de hojas totales en las plantas al momento de la cosecha, fue mayor durante la primera generación y luego disminuyó ligeramente en una o dos hojas durante la segunda generación (Cuadro 2)

Los componentes del rendimiento para la primera generación no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3) En contraste, en la segunda generación sí se observaron diferencias para las variables, número de dedos y peso del racimo en aquellos materiales que se multiplicaron más de dos veces.

DISCUSION

Por las condiciones en que se realizó este experimento se deduce, que el período de incubación de la enfermedad no sobrepasó los 17 días en ambas generaciones (Cuadro 1) Esto no concuerda con lo encontrado por otros autores (2) en condiciones diferentes De acuerdo con Fouré (1), el período de incubación es una variable que está supeditada a condiciones ambientales y que las variaciones eventuales encontradas pueden ser debidas a estos factores y no a la sensibilidad del genotipo que se estudia. El período de incubación no difirió estadísticamente para el tratamiento testigo (S₁) en relación con los demás tratamientos en ambas generaciones (Cuadro 1) Esto indica, junto a lo encontrado para el período de evolución, la susceptibilidad del plátano 'Falso Cuerno' a la Sigatoka Ne-

gra, la cual es menor que la determinada en triploides AAA (banano) donde el período de incubación es de 14 días (2)

En el período de evolución de la enfermedad, el tratamiento testigo fue más corto que los tratamientos restantes en la primera generación; pero fue más corto para los tratamientos S₃ y S₅ durante la segunda generación; en comparación con el tratamiento testigo. En la segunda generación se observó que la enfermedad tuvo una tendencia a evolucionar más rápidamente (Cuadro 1) El período de evolución más lento para los tratamientos S₃, S₄, S₅ en la primera generación debería estar relacionado con un aumento en el número de hojas presentes en las plantas al momento de la cosecha. Esta situación no se dio posiblemente debido a condiciones ambientales, o a que el período de evolución no fue lo suficientemente largo para que las plantas presentaran mayor número de hojas. Para la segunda generación los períodos de evolución de la enfermedad fueron más cortos en S₃, S₄ y S₅, consecuentemente el número de hojas fue menor (Cuadro 2). Los resultados indican (Cuadro 1) que un lapso de 24 a 37 días son suficientes para que las láminas foliares presenten el estado cinco o seis de la escala de sensibilidad a la enfermedad sugerida por Fouré (1) (Cuadro 4)

La lenta evolución de la enfermedad en los subcultivos S₃, S₄ y S₅ sugiere que a medida que se multiplique más el material *in vitro*, hay tendencia a que las plantas presenten cierta tolerancia. No obstante, el comportamiento diferente durante la segunda generación, amerita el análisis del tercer ciclo para obtener conclusiones más sólidas y seleccionar tipos deseables. Cabe destacar que los resultados son promisorios puesto que no se efectuaron en las plantas tratamientos previos de presión de selección *in vitro*.

Cuadro 2. Número de hojas producidas a la cosecha para dos generaciones de plantas micropropagadas del cv. 'Falso Cuerno'. CATIE. Estación Experimental La Lola, Limón. 1990.

Tratamientos	Generaciones	
	Primera	Segunda
S1	6 a*	4 1 a
S2	5 a	4 6 a
S3	6 a	4 0 a
S4	5 a	4 0 a
S5	6 a	4 2 a

* Letras iguales no difieren significativamente al 5% según la prueba de Test T de Student. LSD

Cuadro 3. Componentes del rendimiento para dos generaciones de plantas micropropagadas del cv. 'Falso Cuerno' (AAB). CATIE. Estación Experimental La Lola. Limón. 1990.

Tratamientos	Generaciones **	Variables del rendimiento por racimo		
		Número de manos	Número de dedos	Peso (kg)
S1	1	6.5 a*	46.0 a	12.7 a
	2	7.8 a	44.2 a	13.1 a
S2	1	6.6 a	47.0 a	13.0 a
	2	7.5 a	45.1 a	14.1 a
S3	1	6.8 a	44.0 a	13.6 a
	2	7.5 a	37.2 b	10.6 b
S4	1	6.5 a	47.0 a	13.3 a
	2	7.2 a	42.3 ab	11.2 b
S5	1	6.3 a	44.0 a	14.1 a
	2	8.0 a	39.5 ab	11.1 b

* Letras iguales no difieren significativamente al 5% según prueba de T de Student, LSD

** 1: primera generación 2: segunda generación

El número promedio de manos osciló entre seis y ocho con un número de dedos por racimo de 37 a 47 y peso del racimo de 10 a 14 kg. El número de manos en algunos casos fue ligeramente mayor al mencionado por Tezenas (15) y Salvador *et al.* (11). Esto se relacionó con un mayor número de dedos por racimo, pero se presentaron menores valores de peso que los indicados por estos autores. (Cuadro 3). Estas relaciones se pueden explicar, al observar el número de hojas que presentan las plantas al momento de la cosecha (Cuadro 2). Esta situación se debe a que durante los dos ciclos de cultivo no se utilizaron fungicidas para el control de la enfermedad. Empero, los valores obtenidos de producción son una alternativa para el pequeño productor de plátano, el cual no tiene posibilidades económicas para combatir químicamente a la Sigatoka Negra. No se puede generalizar manifestando que estos materiales posean un grado mayor de tolerancia que el material original. Sin embargo, la evaluación de los resultados para el subcultivo 1 (testigo) señala un buen comportamiento ante la enfermedad en ambas generaciones (Cuadro 1), obteniéndose rendimientos aceptables al realizar prácticas culturales de manejo de la enfermedad (Cuadro 3).

Los promedios de producción obtenidos en ambas generaciones, concuerdan con las informaciones de

Cuadro 4. Escala para determinar la incidencia de Sigatoka Negra según Fouré.

Grado de la enfermedad	Descripción del sintoma en las hojas
1	Despigmentaciones y presencia de pizcas de coloración rojiza
2	Presencia de estrias (menores de 2 mm de longitud)
3	Presencia de estrias (4 a 5 mm de longitud y 2 mm ancho)
4	Presencia de manchas (coalescencia de síntomas).
5	Necrosis en más del 30% del área foliar afectada
6	Necrosis en más del 50% del área foliar afectada

Fuente: Fouré (1). *Fruits* 37(12):749-759.

Tezenas (15), quien mencionó que en el cv 'Horn Plantain' (AAB) el racimo puede llegar a pesar entre 5 y 15 kg y poseer de tres a seis manos. Salvador, *et al.* (11) indicaron que bajo las condiciones de Colombia, para el mismo cultivar se obtienen usualmente racimos con un peso entre 15 y 18 kg, un promedio de seis manos y 32 dedos.

En la literatura se encuentra poca información con respecto a los componentes del rendimiento de plantas de banano micropropagadas (3, 9, 10). Más escasa aún es la información para plátano. Este trabajo aporta información al respecto y apoya el uso del cultivo de tejidos para micropropagar genotipos de plátano con características deseables.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que hubo variabilidad entre tratamientos durante la primera y segunda generación. Esta variabilidad se manifestó en el período de evolución de la enfermedad, número de hojas en las plantas al momento de realizarse la cosecha y, en los componentes del rendimiento.

No se encontró relación entre el número de veces que se multiplicaron los materiales y el posible grado de tolerancia a la enfermedad. Es decir, la infección fue generalizada sin distinción de tratamientos, pero un poco más lenta en los tratamientos S₃, S₄ y S₅ de la primera generación. La información recopilada se completará con los resultados de la tercera genera-

ción para observar si el comportamiento de la enfermedad es temporal o estable. Debido a los objetivos experimentales las plantas no recibieron tratamientos fungicidas; solamente se realizó la práctica cultural de

deshoja. No obstante, los rendimientos obtenidos son aceptables y se sugiere considerar la metodología utilizada como una alternativa potencial para la selección de plantas agronómicamente deseables.

LITERATURA CITADA

- 1 FOURE, E 1982 Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie des raies noires). I. Incubation et évolution de la maladie. Fruits 37(12):749-759
- 2 FOURE, E ; GRISONI, M. ; ZURFLUH, R 1984. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. comportement des variétés. Etude de la sensibilité des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet et de quelques caractéristiques biologiques de la maladie des raies noires au Gabon. Fruits 39(6):363-424.
- 3 GONZALEZ, A ; RAMCHARAM, C 1988. A three years field performance of tissue cultured Giant Cavendish banana (*Musa* sp. AAA) under varying cultural regimes. In Reunión Internacional sobre Agrobiología del Banano (4 1986. San José, C.R.) Memoria. San José, Costa Rica. ASBANA p. 25-36
4. GUZMAN, CH J. 1987 El banano y el plátano en Costa Rica. In Memoria de la Reunión Regional de INIBAP para América Latina y el Caribe (1987. San José, C.R.) Memoria. Ed por R Jaramillo, N Mateo. San José, C.R. p 75-87
- 5 HOLDRIDGE, L 1978 Ecología basada en zonas de vida. Trad. H. Jiménez. San José, C.R., IICA. 216 p
6. HWANG, S ; KO, H 1987. Somaclonal variation of bananas and screening for resistance to *Fusarium* wilt. In Bananas and Plantain Breeding Strategies. Proceedings of and International Workshop held at Cairns (1986. Australia). Ed by G. Persley; E De Langhe p 151-156 (ACIAR Proceedings no 21).
- 7 MURASHIGE, T ; SKOOG, T 1962 A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15:473-497.
8. NOVAK, F ; VAN DUREN. 1989. Mutagenesis *in vitro* para el mejoramiento genético del banano y el plátano (*Musa* spp) Informe Mensual 88-89 Panamá, UPEB p. 61-80.
- 9 PEREZ, L 1989 Comparación de varios métodos de propagación, en cuanto a algunas variables de producción y crecimiento en el cv "Gran Enano" (*Musa* AAA), durante los tres primeros ciclos de cosecha. Revista de la Asociación Bananera Nacional 13(32):24-27
- 10 POOL, D. ; IRIZARRY, H 1987 "Off type" banana plants observed in a commercial planting of Gran Naine propagated using the *in vitro* culture technique. In Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigaciones de Banano en el Caribe y en América Tropical (ACORBAT) (7, 1985, San José, C.R.) Memorias. Ed. by J. Galindo, R Jaramillo. Turrialba, C.R., CATIE. p. 99-102.
11. SALVADOR, R ; BELALCAZAR, S.; LEON, P. 1988 Caracterización del ciclo vegetativo del clon de plátano Hartón (*Musa* AAB Simonds) In Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigaciones de Banano en el Caribe y en América Tropical (ACORBAT) (8, 1987, Colombia) Memorias. Ed. by R Jaramillo, A. Restrepo, R Bayona. Bogotá, Col p 543-553
- 12 SANDOVAL, J. 1985. Micropropagación de musáceas. Revista de la Asociación Bananera Nacional. ASBANA (C.R.) 9(24):21-23
- 13 STOVER, R. 1987. Somaclonal variation in Grande Naine and Saba bananas in the nursery and field. In Bananas and Plantain Breeding Strategies. Proceedings of and International Workshop held at Cairns (1986, Australia). Ed. by G Persley, E De Langhe p. 136-139 (ACIAR Proceedings no 21)
- 14 STOVER, R. ; BUDDEENHAGEN, I 1986. Banana breeding: polyploidy, disease resistance and productivity. Fruits (Francia) 41(3):175-191
15. TEZENAS DU MONICEL, H. 1987 Plantain bananas. London, MacMillan 105 p.