

Diagnóstico y distribución de *Mycosphaerella* spp. en musáceas de República Dominicana

Tania Polanco¹
Jean Carlier²
Marie F. Zapater²

RESUMEN. Las enfermedades de las manchas foliares causadas por *Mycosphaerella* spp. afectan los cultivos de musáceas, aumentando los costos de producción y disminuyendo la calidad de los frutos. El estudio consistió en determinar la distribución de las especies de este patógeno en República Dominicana y obtener cultivos monospóricos. Las muestras de hojas afectadas se recolectaron en las zonas productoras de plátano y banano. Estas se procesaron en el Laboratorio de Fitopatología del CIRAD-AMIS, Montpellier, Francia. Se encontró una amplia diseminación de sigatoka, inclusive a regiones que se encontraban libres de la enfermedad. En cuanto a los aislamientos monospóricos *Paracercospora fijiensis* fue más común (60%) seguida de *Pseudocercospora musae* (37%). Los aislamientos obtenidos facilitarían los estudios de la variabilidad de *Mycosphaerella fijiensis* en la región.

Palabras clave: Sigatoka, *Mycosphaerella* spp., Musáceas, República Dominicana.

ABSTRACT. Identification and distribution of *Mycosphaerella* spp. in Musacea of the Dominican Republic. The leaf spot diseases caused by *Mycosphaerella* spp. affect musacea crops, increasing the production costs and decreasing the fruit quality. The study consisted of determining the distribution of species of this pathogen in the Dominican Republic and obtaining monospore cultures. Samples of affected leaves were collected in the zones producing banana and plantain. These were processed in the Plant Protection Laboratory of CIRAD-AMIS, Montpellier, France. A wide dissemination of sigatoka was found, including in regions free of the disease. In respect to the monospore isolates, *Paracercospora fijiensis* was the most common (60%) followed by *Pseudocercospora musae* (37%). The isolates obtained will facilitate studies on the variability of *Mycosphaerella fijiensis* in the region.

Key words: Sigatoka, *Mycosphaerella* spp., Musacea, República Dominicana

Introducción

Las musáceas son cultivos de gran importancia en muchas partes del mundo. Son un alimento básico para millones de personas en los países tropicales en desarrollo y constituyen una fuente importante de ingresos por su comercialización en mercados locales e internacionales (Pérez 1996).

En República Dominicana, el plátano y el guineo son cultivados extensamente. Las unidades de producción varían en tamaño y nivel tecnológico. El área cultivada de plátano es de aproximadamente 39 000 ha; es la musácea de mayor consumo y representa el tercer producto en importancia en la alimentación de los do-

minicanos. El consumo per capita de plátano es de aproximadamente 40 kg por año, situando a este país entre los de mayor consumo en el mundo. La producción promedio de bananos es de 15 000 ha, la cual es dedicada a la exportación y al consumo interno, tanto como fruta madura como verde, en reemplazo del plátano. Además cerca del 90% de la producción de bananos es exportada, principalmente a los países europeos.

La producción de estos cultivos es amenazada por enfermedades, principalmente la sigatoka. La raya negra de la hoja o sigatoka negra es considerada la enfermedad más devastadora de las musáceas en el mundo. En República Dominicana, las variedades

¹ Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Santo Domingo, República Dominicana. tpolanco@idiaf.org.do

² UMR BGPI, CIRAD TA 40/02. Av. Agropolis. Montpellier Cedex 5, France

de plátanos y guineos cultivadas tanto para exportación como para consumo local son susceptibles a esta enfermedad.

Los agentes causales de la Sigatoka amarilla y la Sigatoka negra de las musáceas son *Mycosphaerella musicola* Leach (anamorfo *Pseudocercospora musae* Zimmerman) y *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (anamorfo *Paracercospora fijiensis* Morelet-Deighton).

La Sigatoka negra, *M.fijiensis*, fue reconocida por primera vez en Fiji, en 1963. Posteriormente, se encontró en el Pacífico y ha sido registrada en Asia. En América Latina, la enfermedad fue identificada por primera vez en Honduras en 1972. Desde ahí se ha extendido a América Central, América del Sur y el Caribe (Mourichon *et al.* 1997). En República Dominicana fue detectada por primera vez en 1996, en la región noroeste del país (Fouré 1997).

Los síntomas de estas enfermedades consisten en manchas pardas al inicio, que se alargan hasta formar lesiones necróticas y halos amarillentos con el centro ligeramente gris. Los síntomas iniciales de la sigatoka negra son más visibles en el envés y en las hojas más jóvenes, produce un mayor daño al tejido fotosintético, por lo que es más destructiva que la sigatoka amarilla (Fig.1). Las lesiones coalescen y pueden destruir grandes áreas del tejido de la hoja, dando como resultado la reducción de la producción y la madurez prematura de la fruta (Fullerton y Olsen 1985).

El objetivo de este trabajo fue identificar y documentar la distribución geográfica de las especies de *Mycosphaerella* presentes en República Dominicana, así como obtener aislamientos de *M.fijiensis* y *M.musicola* para estudios futuros de diversidad genética.

Materiales y métodos

Se recolectaron muestras foliares de banano y plátano, procedentes de República Dominicana. Para facilitar el estudio de las poblaciones de *M. fijiensis* y *M. musicola* se consideraron las diferentes regiones del país, las cuales se agruparon según las condiciones climáticas, teniendo cuatro regiones (Cuadro 1). Las muestras se numeraron desde 1 hasta 43.

Identificación de *P. fijiensis* y *P. musae*

Para la identificación de *P.fijiensis* y *P.musae* se seleccionaron los síntomas típicos de los estados de evolución de ambas enfermedades. En el caso de la sigatoka negra se utilizaron estrías y manchas en estado 2 y 3. Para la Sigatoka amarilla se seleccionaron manchas viejas en estado 4. Los cortes de tejidos de lesiones ne-

crosados fueron sumergidos en una solución de decoloración que contenía ácido láctico (75 %) y glicerol (25 %). Se utilizaron 5 ml de la solución para 4 partes del tejido seleccionado. Luego se colocaron en un calentador a 65°C. Dos días después se hicieron las observaciones microscópicas.

La identificación de ambas especies se basó en el estado asexual. Este estado de *P. fijiensis* produce conidióforos simples con cicatriz, tanto en la base de las conidias como en los conidióforos (Fig. 3). Se consideró el envés de las hojas para hacer la identificación del patógeno. El estado asexual de *P. musae* forma esporodios, tanto en el haz como en el envés, de las hojas, siendo más abundantes sobre el haz y las conidias no tienen cicatriz (Fig. 4). Por tanto, los dos patógenos pueden ser diferenciados microscópicamente por las características de las conidias y los conidióforos. Otra técnica usada fue el calentamiento de los tejidos necrosados y de las hojas viejas en ácido láctico puro, el tiempo dependió de la consistencia y de la edad de las hojas. Igualmente puede calentarse en la solución de la decoloración de los tejidos, con ácido láctico (75 %) más glicerol (25 %).

Los aislamientos se obtuvieron siguiendo el método desarrollado en el laboratorio de fitopatología CIRAD- AMIS. Los aislamientos de *M. fijiensis* se realizaron a partir de muestras foliares que presentaban síntomas en los estados 5 y 6, es decir áreas necrosadas, grisáceas y peritecio maduro. Las hojas fueron secadas completamente. Se seleccionaron tejidos con tamaño de 2 cm² y se colocaron en agua destilada durante 20 min. El fragmento de hoja fue colocado en cajas de Petri que contenían agar al 3% (30 g de agar/L agua). El material se dejó en incubación a 25 °C, durante 24 h, con 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Las ascosporas fueron transferidas a un medio de esporulación V8 (100 ml de V8, 0,2 g de CaCO₃, 900 ml de agua, pH=8 y 20 g de agar; al medio se agregó 60 mg/L de penicilina ó 100 mg/L de estreptomycin). Después se incubaron a 25°C durante 7 días con 12 h de luz y 12 de oscuridad. Posteriormente se colocaron a 20 °C durante 10 días con luz continua.

Los aislamientos monospóricos se obtuvieron siguiendo el proceso: Se preparó una suspensión conidial con 400 microlitros de agua. La suspensión fue colocada en agar al 3%. Se incubaron a 25°C durante 48 horas. Las conidias se depositaron en el medio de esporulación V8. Se colocaron a 25°C durante 7 días. La colonia fue colocada en condiciones de esporulación a 20°C, con luz continua, verificando la especie a los 10 días.

Cuadro 1. Regiones, localidades de República Dominicana, y clima imperante, donde se recolectaron muestras foliares de banano y plátano.

| Región | Localidades | Clima |
|-------------------------|--|-------------|
| Noroeste | Mao, Guayubín y Dajabón | Seco |
| Norte y Norcentral | Bonao, Moca y La Vega | Semi húmedo |
| Este, Noreste y Central | Samaná, Hato Mayor, Sabana de la Mar, Monteplata, Cotuí y La Reforma | Húmedo |
| Sur y Suroeste | Azua, Bahoruco y Barahona | Seco |

Los aislamientos monospóricos correspondientes a *P. fijiensis* y *P. musae* fueron conservados en microtubos a -80 °C, en una solución de glicerol al 15%, esterilizado.

Resultados y discusión

En las muestras foliares de musáceas de las cuatro regiones de República Dominicana se determinó que el 60% correspondió a *P. fijiensis*, el 37% a *P. musae* y 2% a ambos patógenos (Cuadro 2 y Fig. 2). Estos resultados demuestran la diseminación de la sigatoka negra a regiones del país que se encontraban libres de la enfermedad, como el Noreste y la Zona Central (Polanco 1998). Esta situación representa una amenaza para la región más productora de plátanos, donde la mayor parte de la producción está en manos de pequeños productores, y es destinada al consumo familiar o comercialización en mercados locales. También la región sur, productora de banano orgánico para la exportación y plátanos para consumo local, se encuentra libre de la enfermedad. Por tanto, los esfuerzos deben dirigirse a evitar la diseminación de la Sigatoka negra a las áreas libres y a la ejecución de programas de manejo para las zonas donde la enfermedad está presente.



Figura 1. Síntomas de Sigatoka negra en plátano, República Dominicana. (Foto: T. Polanco)

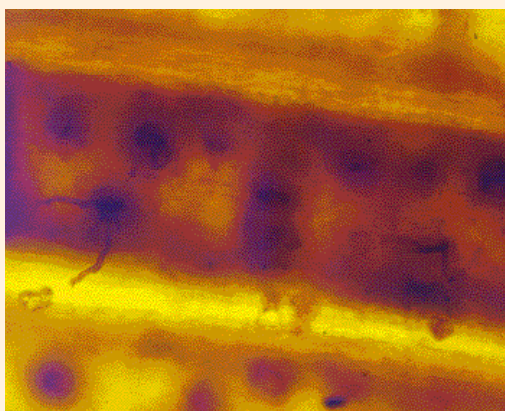


Figura 3. Conidióforos de *M. fijiensis* en plátano. (Foto: T. Polanco).



Figura 2. Distribución geográfica de *Mycosphaerella* spp. en República Dominicana. Regiones: 1) Noroeste; 2) Norte y Norcentral; 3) Este, Nordeste y Central y 4) Sur y Suroeste. (sin *= *M. fijiensis*; *= indica a *M. musicola*). 1999.

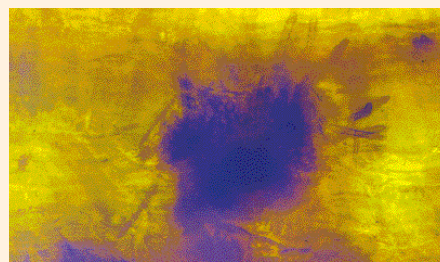


Figura 4. Conidióforo y conidias de *M. musicola* en plátano. (Foto: T. Polanco).

Fueron obtenidos 19 aislamientos, de los cuales 16 corresponden a *M. fijiensis* y tres a *M. musicola* (Cuadro 3). Los aislamientos fueron obtenidos de áreas con altas precipitaciones y temperaturas prome-

dio de 27°C. Estos aislamientos ayudarán para los estudios de la variabilidad de *M. fijiensis*, indispensables en el manejo de la resistencia en las enfermedades de la Sigatoka negra.

Cuadro 2. Muestras foliares de musáceas de República Dominicana evaluadas para el diagnóstico de *M. fijiensis* y *M. musicola*.

| No. | Localidad | Región | Síntomas | Diagnóstico | Area (ha) | Cultivo predominante |
|-----|------------------------------------|--------|----------|---------------------------------------|-----------|---------------------------|
| 1 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1* | ? | <i>P. fijiensis</i> | 0,19 | Plátano |
| 2 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N ? | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 3 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N ? | <i>P. fijiensis</i> | 0,37 | Plátano |
| 4 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 0,19 | Plátano |
| 5 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | ? | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 6 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 7 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 8 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 9 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 0,37 | Plátano |
| 10 | Manuel Bueno, El Pino, Dajabón | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 0,19 | Plátano |
| 11 | Guayubín,, Montecristi | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 0,5 | Plátano |
| 12 | Guayubín, Montecristi | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 125 | Banano biológico SN(1996) |
| 13 | Guayubín, Montecristi | 1 | ? | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 14 | Mao | 1 | A | <i>P. musae</i> | | Guineo |
| 15 | Guayubín, Montecristi | 1 | N | <i>P. fijiensis</i> | 125 | Banano biológico |
| 16 | Moca | 2 | A + N | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 17 | Moca | 2 | A+ N | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 18 | Moca | 2 | ? | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 19 | Samaná | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano, SN 1998-1999 |
| 20 | Samaná | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 21 | Samaná | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 22 | Samaná | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 23 | La Vega | 2 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 24 | La Vega | 2 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 25 | La Vega | 2 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 26 | Juma, Bonao | 2 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 27 | Juma, Bonao | 2 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 28 | Río Chiquito, El Valle, Hato Mayor | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 29 | Río Chiquito, El Valle, Hato Mayor | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 30 | El Valle, Hato Mayor, Km 20 | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 31 | Hato Mayor, Km 2 | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> + <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 32 | La Jaqueta, Sabana De La Mar | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 33 | La Jaqueta, Sabana De La Mar | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 34 | Azua | 4 | A | <i>P. musae</i> | | Banano biológico |
| 35 | Tamayo, Bahoruco | 4 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 36 | Tamayo, Bahoruco | 4 | A | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 37 | Vicente Noble, Barahona | 4 | N | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 38 | La Hoya, Barahona | 4 | ? | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 39 | La Hoya, Barahona | 4 | N | <i>P. musae</i> | | Plátano |
| 40 | La Reforma | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 41 | Hato Abajo | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 42 | Don Juan, Monte Plata | 3 | N | <i>P. fijiensis</i> | | Plátano |
| 43 | Cevicos, Cotuí | 3 | ? | <i>P. musae</i> | | Plátano |

A= Sigatoka amarilla; N= Sigatoka negra

* Región: 1= Noroeste; 2 =Norte y Norcentral; 3 =Este, Noreste y Central; 4 =Sur y Suroeste

Cuadro 3. Aislamientos monospóricos de *M. fijiensis* y *M. musae* procedentes de República Dominicana.

| No. | Código de entrada | Procedencia | Código del laboratorio |
|---------------------|-------------------|------------------|------------------------|
| <i>M. fijiensis</i> | | | |
| 1 | 6F1 | Dajabón | RD1 |
| 2 | 6F2 | Dajabón | RD2 |
| 3 | 6F3 | Dajabón | RD3 |
| 4 | 9A1 | Dajabón | RD4 |
| 5 | 9A2 | Dajabón | RD5 |
| 6 | 9A3 | Dajabón | RD6 |
| 7 | 9A4 | Dajabón | RD7 |
| 8 | 9A5 | Dajabón | RD8 |
| 9 | 9D1 | Dajabón | RD9 |
| 10 | 15A1 | Dajabón | RD10 |
| 11 | 15A2 | Dajabón | RD11 |
| 12 | 15A3 | Dajabón | RD12 |
| 13 | 15E1 | Dajabón | RD13 |
| 14 | 28 | Hato Mayor | RD14 |
| 15 | 33 | Sabana de la Mar | RD15 |
| 16 | 33 | Sabana de la Mar | RD16 |
| <i>M. musae</i> | | | |
| 1 | 24 | Moca | MRD1 |
| 2 | 25 | La Vega | MRD2 |
| 3 | 3 | Dajabón | MRD3 |

Agradecimientos

Al CIRAD-FLHOR, Proyecto INCO, Montpellier, Francia por el financiamiento del trabajo. Al Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, de República Dominicana (CEDAF) y a la Secretaría del Estado de Agricultura. (SEA).

Literatura citada

- Fouré, E. 1997. La Maladie des Raies Noires des Bananiers et Plantains en République Dominicaine. Distribution, Incidence et Méthodes de Contrôle. CIRAD-FLHOR. Rapport de mission en République Dominicaine du 28 août au 5 septembre 1997.
- Fullerton, R; Olsen, T. 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.
- Mourichon, X; Carlier, J; Fouré, E. 1997. Les Cercosporioses. Maladies des raies noires (*Cercosporiose noire*). Maladies de Sigatoka (*Cercosporiose jaune*). Musa : fiche technique No. 8. INIBAP
- Pérez, L. 1996. Manual para el manejo integrado de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y Sigatoka Amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder) en banano y plátano. Proyecto FAO-CUBA.48 p.
- Polanco, T. 1998. Situación de la sigatoka negra en la República Dominicana. Informe técnico. Departamento de Sanidad Vegetal. Secretaría de Estado de Agricultura.