

## RESPUESTA DE CULTIVARES DE MUSA SPP. A *Mycosphaerella fijiensis* MORELET Y CONTRIBUCIÓN AL MANEJO DE LA ENFERMEDAD MEDIANTE EL EMPLEO DE EXTRACTOS VEGETALES.

Lilián M. Morales Romero<sup>1</sup>, Marcos Antonio Ullauri Espinoza<sup>2</sup>, Amaurys Dávila Martínez<sup>3</sup>, y Nilo Maza Estrada<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba. E-mail: [lili@inivit.cu](mailto:lili@inivit.cu)

<sup>2</sup> Estudiante de Maestría Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV), Facultad de Ciencias Agropecuarias. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. E-mail: [ing.ullauri@hotmail.com](mailto:ing.ullauri@hotmail.com)

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba. E-mail: [adávila@inivit.cu](mailto:adávila@inivit.cu)

<sup>4</sup> Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Apartado 6, Santo Domingo, CP 53 000, Villa Clara, Cuba. E-mail: [nilo@inivit.cu](mailto:nilo@inivit.cu)

### RESUMEN

La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) es una enfermedad clave, conocida en el mundo. En Cuba desde su aparición tuvo un 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 Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (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. 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 *Momordica charantia* L., *Salvia officinalis* L. y *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (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%).

**Palabras claves:** Sigatoka negra, reacción de cultivares, extractos vegetales, combate

### RESPONSE OF MUSA SPP. CULTIVARS TO *Mycosphaerella fijiensis* AND CONTRIBUTION TO DISEASE MANAGEMENT THROUGH THE USE OF PLANT EXTRACTS

#### ABSTRACT

Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) is a key disease, known throughout the world. In Cuba, the Research Institute of Tropical Root and Tuber Crops, Bananas and Plantains (INIVIT) is in charge of the Banana and Plantain breeding programs in Cuba. Such program emphasizes on the searching of resistant cultivars, because this is the most economic strategy and environmentally sustainable together with the use of plant extracts or other biological products as alternatives to reduce the disease/damage incidence. This study is carried out from February 2009 to December 2010 in order to determine the response of improved *Musa* spp. cultivars against *M. fijiensis* in edapho-climatic conditions at INIVIT and to evaluate the effect of plant extracts as an alternative to control the

disease. The banana cultivar 'H-10' (AAAB) expressed tolerance to the disease, exceeded by the reference cultivar 'FHIA 25' (AAA) which proved to be resistant. The improved cultivar 'Manzano INIVIT' (AAB) and 'Selección INIVIT' (AAB) were considered disease-tolerant, equal to referenced genotype 'TMP-3 Nigeria' (AAAB). Plant extracts from *Momordica charantia* L., *Salvia officinalis* L. and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (90 mL PE + 10 ml of Neem oil) sprinkled on cultivar 'Gran Enano' (AAA) showed an antifungal effect on *M. fijiensis* in semi-controlled conditions, with a similar response to Maconzeb (80%) treatment.

**Keywords:** Black Sigatoka, cultivar reaction, plant extracts, combat

## INTRODUCCIÓN

Los bananos y plátanos (*Musa* spp) se encuentran ampliamente distribuidos 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).

En Cuba, constituyen un renglón 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).

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 hongo 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).

Desde que se informó 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 del hospedante (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 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).

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.

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).

Evaluar la respuesta de diferentes cultivares de *Musa* spp. frente a *M. fijiensis*, y el uso de extractos vegetales como alternativa para su combate constituye el objetivo general que tiene dicha investigación.

## 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, 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= 1.81-2.72 kg de peso) 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.

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.

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).

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.

El Índice de Infección (II), fue calculado mediante la fórmula de Towsend y Heuberguer (Orjeda *et al.*, 1998).

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

Donde: II= 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 Resistencia total o inmunidad	IS = 0
Clones Resistente	IS ≤ 10%
Clones que expresan Tolerancia	IS hasta un 30%
Clones Susceptibles	IS mayor de 30%

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 cultivos de manera global teniendo en cuenta las variables de la enfermedad, mediante (*Statgraphics* ver. 5).

#### **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 inhibición 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).

Tabla 1: Especies botánicas empleadas como fuente de los extractos evaluados.

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

#### **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. 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). Después dichas muestras se molinaron mecánicamente, hasta obtener partículas de 0,5 mm de diámetro (Aurora *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 1) 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.

#### **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 fijiensis* (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%. 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.

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.

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 según la metodología descrita por Leiva *et al.* (2004).

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

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); 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).

Para la evaluación cualitativa del desarrollo de los síntomas se utilizó la escala propuesta por Alvarado *et al.*, (2003). Todo el procesamiento estadístico se realizó en el Laboratorio de Biometría del INIVIT.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

#### *Cultivares de Bananos*

Como se pudo 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. (Tabla 2)

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 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 2: 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 3.

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 3: 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		
	(PI) (días)	(TES) (días)	(TDE) (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 (TES), 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 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 3).

En condiciones de campo la severidad causada por *M. fijiensis* en los cultivares de banano en estudio puede observarse en la Tabla 4 que enuncia el índice de infección el cual expresa la magnitud del daño causado por la enfermedad.

Tabla 4: 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
-	-	$X^2 = 61,11^*$

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.

El comportamiento de las variables PI y TES (Tabla 3) 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.

*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 5.

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 3/4' 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 5: 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.

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.

Las variables relacionadas con la epifitiología de la enfermedad: (PI), (TES) y (TDE) se evaluaron también para el caso de los cultivares de plátano (Tabla 6).

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 6: 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		
	PI Días	TES Días	TDA Días
<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 ( $p < 0,05$ )

Como se observa en la referida Tabla 6 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 7 refleja los resultados de las evaluaciones del Índice de severidad causado por *M. fijiensis* en los cultivares de plátano estudiados.

Tabla 7: 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

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 7).

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.

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.

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

		Evaluaciones					
Tratamientos		8 días	15 días	22días	29días	36días	43días
	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 9. Evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos a los 50, 57, 64 y 71 días de evaluados.

Tratamientos	Evaluaciones			
	50días	57días	64 días	71días
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 ±	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 deferencias 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. 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. En el caso del limoncillo, los resultados obtenidos no coinciden con los resultados alcanzados por Marín *et al.* (2008).

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 SN.

Resultados similares fueron obtenidos por Arciniegas *et al.* (2002) los que realizaron la evaluación de varios extractos etanólicos entre los que se encontraba el Cundeamor en condiciones *in vitro* y demostraron la 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.

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

Como se puede observar en la Tabla 10, 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.

Tabla 10: 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

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. 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 obtenido 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.

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, 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, atribuido esto a la acción antifúngica ejercida por los extractos naturales sobre *M. fijiensis*.

La escala de evaluación cualitativa permitió diferenciar cada uno de los tratamientos con respecto al Control en el cultivar Gran Enano (susceptible) en casa de cultivo (Tabla 11).

Tabla 11. Estados de los síntomas en el cultivar Gran Enano (desde los ocho hasta los 71 días de inoculados) con suspensiones conidiales de *P. fijiensis*.

	Estado de los síntomas*							
	15d	29d	36d	43d	50d	57d	64d	71d
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.

## CONCLUSIONES

En condiciones de campo en un ensayo local en las condiciones edafoclimáticas del INIVIT los cultivares mejorados 'H-10' (AAAB), 'Manzano INIVIT' (AAB) y 'Selección INIVIT' (AAAB) se catalogaron como tolerantes a la enfermedad, mientras que el cultivar 'INIVIT PV 06-30' (AAB) presentó susceptibilidad a la enfermedad. 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%).

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, F.; Kohlmann, B.** 2006. Willingness to consume and produce transgenic bananas in Costa Rica. *International Journal of Consumer Studies*. 30 (6): 544–551.
- Alvarado, Y., Leiva, M., Rodríguez, M., 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
- An, M.; Pratley, 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, T., 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.
- 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.
- Cuba.** 2008. Instructivo técnico del cultivo del plátano. Biblioteca ACTAF. Segunda edición. 19 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
- 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>
- 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. Comportement des varietés. Etude 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. Programme (D. Jones, ed) INIBAP, Montpellier, France.
- Fullerton, R.** 1994. Sigatoka leaf disease. 12-14p in compendium 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. Untersuchungen zur epidemiologie und ökologie der Schuwargen sigatoka krankheit (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) an kockbananen (*musa* sp) in Costa Rica. Thesis. Univ. Göttingen (west germany), 128p
- Gaulh F, Pasberg-Gauhl C, Jones D.** 2000. Diseases of Banana; Abacá and Enset. Wallingford, UK, CAB International.
- 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, M.** 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
- Marín, D., Romero, R., Guzmán, M., Sutton, T.** 2003 Black Sigatoka: An increasing threat to banana cultivation. Plant disease 87(3): 208-222.
- Meredith, D.S., Lawrence, J.S.** 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.
- 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., Peter, D., Zapater, M.** 1987. Inoculation expérimentale de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, sur jeunes
- 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).
- 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.
- 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.
- 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., Álvarez, J. y Pérez, M.** 2002. Economic impact and management of black leaf streak disease in Cuba. En: Jacome, L, Leioivre 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.
- Pino, J. A.** 1996. Manejo sostenible para el combate de la Sigatoka negra. Informe de investigación. INIVIT. Cuba.
- 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.** 2001. 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.
- Romero, R.** 2000. Control. Host-Patogen interacción. En: Jones, D (Ed.) *Fungal Disease of the Foliage*. Cap. 2, pp 72-75.
- Rowe, P; Rosales, F.** 1993. Mejoramiento genético de diploides. *MUSALIT*. Bananas Bioversity International. FHIA, La Lima (HND)
- Stover, R., Dickson, JD.** 1976 Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. Methods of measuring spotting prevalence and severity. *Tropical Agriculture Trinidad* 47: 289-302.
- Stover, R.H.** 1971. Banana, plantain and abaca diseases commonwealth mycological institute, kew, Surrey, England 316p
- Stover, R.H.** 1980. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. *Plant Diseases repoter* 64(8): 750-758
- Vakili, N.** 1968. Response of *Musa acuminata* species and edible cultivars to infection by *Mycosphaerella musicola*. *Tropical Agriculture Trinidad* 45: 13-22.
- Vidal, A.** 1992. Sigatoka negra en Cuba. En nuevos focos de plagas y enfermedades. *Boletín Fitosanitario de la FAO* 40: (1-2).