

- Carter, C.C. (Eds.). North Carolina State University Graphics, North Carolina, EE.UU. pp.351-352.
8. Gronvold, J. 1989. Induction of nematode-trapping organs in the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* (*Hyphomycetales*) by infective larvae of *Ostertagia ostertagi* (*Trichostrongylidae*). *Acta Veterinaria Scandinavica* 30:77-87.
 9. Jaffee, B.A. and Muldoon, A.E. 1989. Suppression of cyst nematode by natural infestation of a nematophagous fungus. *Journal Nematology* 21:505-510.
 10. Jansson, H.-B. and Nordbring-Hertz, B. 1980. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes: attraction, induction of trap formation and capture. *Nematologica* 26:383-389.
 11. Lima, R.D. 1996. Caracterização de isolados e avaliação da patogenicidade de *Arthrobotrys* spp. a fitonematóides. Tese Doc. Sc. Viçosa, Brasil. Universidade Federal de Viçosa. 88 pp.
 12. Nordbring-Hertz, B. 1977. Nematode-induced morphogenesis in the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Nematologica* 23:443-451.
 13. Olthof, Th.H.A. and Estey, R.H. 1965. Relation of some environmental factors to growth of several nematophagous hyphomycetes. *Canadian Journal of Microbiology* 11:939-946.
 14. Santos, M.A., Ferraz, S. and Muchovej, J.J. 1991. Detection and ecology of nematophagous fungi from Brazilian soils. *Nematologia Brasileira* 15:121-134.
 15. Stirling, G. R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects. Wallingford, CAB International, 282pp.
 16. Tolmsoff, W.J. 1959. The isolation of nematode-trapping fungi from Oregon soils. *Phytopathology* 49: 113-114.
 17. Van Gundy, S.D. 1985. Ecology of *Meloidogyne* spp. - Emphasis on Environmental Factors Affecting Survival and Pathogenicity. In *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 1 - Biology and Control. Sasser, J.N. and Carter, C.C. (Eds.). North Carolina State University Graphics, North Carolina, EE.UU. pp.177-182.

IDENTIFICACIÓN DE *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS* COMO CAUSA DE "PECAS" EN FRUTOS DE PLÁTANO CV HARTÓN EN VENEZUELA

Luis Cedeño^{1,2}, Chrystian Carrero¹ y Kleyra Quintero¹

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apartado 77 (La Hechicera) y ²Centro de Microscopía Electrónica, Apartado 163, Universidad de Los Andes, Mérida 5101-A, Venezuela. E-mail: lurace@telcel.net.ve

Recibido: 23 de febrero de 1999

Aceptado: 02 de noviembre de 1999

RESUMEN

Cedeño, L., Carrero, C. y Quintero, K. 2000. Identificación de *Mycosphaerella fijiensis* como causa de "pecas" en frutos de plátano cv Hartón en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 13:6-10.

Se identificó a *Mycosphaerella fijiensis*, teleomorfo de *Paracercospora fijiensis*, como causa de lesiones (pecas) en frutos de plátano cv Hartón, siendo esta la primera vez que este reconocido patógeno foliar es reportado afectando frutos de musáceas. Las características de los conidióforos y conidios fueron examinadas en detalle con microscopía electrónica de barrido y la identidad del patógeno se confirmó mediante PCR. Todas las pruebas de inoculación realizadas en frutos y hojas fueron positivas. En los frutos aparecieron "pecas" similares a las observadas en el campo y las hojas mostraron lesiones típicas de sigatoka negra. En los frutos, la enfermedad comenzó a manifestarse como diminutas pecas rojizas, las cuales sólo pudieron ser vistas con la ayuda del estereoscopio. Posteriormente, las lesiones se tornaron marrón-oscuras a casi negras rodeadas por un halo de aspecto acuoso, midieron 0,25 a 1,0 mm de diám y fueron fácilmente observables a simple vista. Los aclaramientos realizados con lactofucsina ácida 0,025% demostraron que la penetración se produce a través de los estomas y cada lesión puede alcanzar hasta siete células epidérmicas. Los frutos de una semana de edad fueron los más apropiados para la reproducción experimental de la enfermedad. Las hojas y los frutos utilizados como control permanecieron sanos, al igual que los tejidos de los frutos inoculados donde no se aplicó suspensión fúngica. *M. fijiensis* fue aislado continuamente de los frutos y hojas infectados artificialmente.

Palabras clave adicionales: *Musa* AAB, *Paracercospora fijiensis*

ABSTRACT

Cedeño, L., Carrero, C. and Quintero, K. 2000. Identification of *Mycosphaerella fijiensis* as cause of specks on plantain cv Harton fruits in Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 13:6-10.

Mycosphaerella fijiensis, teleomorph of *Paracercospora fijiensis*, was identified as the cause of specks on fruits of plantain cv Harton, being this the first time that this known foliar pathogen is reported affecting fruits of Musaceae. The characteristics of conidiophores and conidia were examined in detail with scanning electron microscopy and the pathogen identity was confirmed by PCR. All the inoculation tests done on both fruits and leaves were positive. On fruits produced specks similar to those observed in the field, and the leaves showed typical symptoms of black sigatoka. On fruits the disease began as reddish specks which later became dark-brown to almost black, with a water-soaked halo, and measured 0.25-1.0 mm in diameter. The tissues cleared with acid lactofucsin 0.025 % demonstrated that the fungus penetrates through the stomata damaging up to seven epidermal cells. One week-old fruits were the more suitable for reproducing the disease. Fruits and leaves used as control remained healthy. On inoculated fruits the untreated tissues did not show lesions, confirming the initial sanitary state of the materials used in pathogenicity tests. *M. fijiensis* was continuously isolated from inoculated fruits and leaves.

Additional key words: *Musa* AAB, *Paracercospora fijiensis*

INTRODUCCIÓN

En el área ubicada al sur del Lago de Maracaibo, Venezuela, la producción de plátano (*Musa* sp., Grupo AAB Hartón) es la actividad agrícola de mayor trascendencia socioeconómica. En la región existen aproximadamente 1.000 ha monocultivadas que anualmente generan el 75% de la producción nacional. Además, la subsistencia de cientos de pobladores depende directa o indirectamente de la siembra de este rubro, cuyos frutos ocupan lugar común en la dieta diaria de los venezolanos.

Desafortunadamente existen dos enfermedades de plátano que afectan las hojas del plátano. La sigatoka, anteriormente llamada sigatoka amarilla, causada por *Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder, fase sexual de *eudocerospora musae* (Zimm.) Deighton, y la sigatoka negra causada por *M. fijiensis* Morelet, teleomorfo de *tracerospora fijiensis* (Morelet) Deighton. El diagnóstico de las sigatokas por los síntomas es bastante difícil y sólo pueden ser distinguidas mediante la observación detenida de las estructuras reproductivas asexuales de los patógenos (17). La sigatoka negra es la más destructiva, ya que en casos de ataque severo retarda la floración y la cosecha, afectando, además, la cantidad y calidad (peso y tamaño) de los frutos, los cuales generalmente se maduran prematuramente (11).

La sigatoka negra ingresó al país desde Colombia por el sector Río de Oro, Municipio Autónomo Catatumbo, estado Mérida. Su presencia fue anunciada públicamente en noviembre de 1992 y actualmente está presente en los estados Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Mérida, Miranda, Monagas, Portuguesa, Sucre, Táchira, Trujillo, Yaracuy y Zulia (Información suministrada por el Servicio Autónomo de Sanidad Vegetal, Mérida).

El 25-11-95, en un sector de El Chivo, Municipio Autónomo Francisco Javier Pulgar del estado Zulia, se observó que en la mayoría de los racimos los frutos presentaban lesiones ("pecas") que no dañan la pulpa. Debido a la presencia de estas lesiones, las compañías exportadoras estaban rechazando los frutos. Las lesiones se apreciaron marrón-rojizas a marrón-oscuras rodeadas por un halo de aspecto acuoso (Fig. 1). Los productores y técnicos agropecuarios de la zona opinaban que las lesiones eran provocadas por el aceite mineral aplicado con los productos fungicidas.

Motivado por el ambiente de alarma existente y con el propósito de conocer la causa del problema, se realizaron numerosos aislamientos en placas contentivas de agua-agar 2% acidificado con ácido láctico (AAA), a partir de tejidos cortados de la porción más interna de las lesiones. De los tejidos sembrados crecieron dos hongos, los cuales fueron identificados, tentativamente, como *M. fijiensis* y *Cercospora* no-virulenta. En pruebas preliminares de inoculación, sólo el hongo identificado como *M. fijiensis* produjo síntomas similares a los observados en el campo. *M. fijiensis* es un mundialmente reconocido patógeno foliar de bananos y plátanos, en los cuales ocasiona pérdidas considerables; sin embargo, en la literatura especializada no se encontró información que lo relacionara como causa de lesiones en frutos de musáceas.

Varias especies de hongos han sido reportadas como causantes de daños en frutos de banano y plátano: *C. hayi*, *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx, *Deightonella torulosa* (Syd.) Ellis, *Fusarium* spp, *Hendersonula toruloidea* Nattras, *Lasiodiplodia* (= *Botryodiplodia*) *theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) Mason, *Phyllosticta* (= *Phyllostictina*) *musarum* (Coyle) van der Aa, *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., *Trachysphaera fructigena* Taber & Bunting y *Verticillium theobromae* (Turconi) Mason & Hughes (14,15,16). De las especies señaladas sólo *D. torulosa* (pecas) (9), *P. grisea* (mancha Jhonston o enfermedad de huecos) (1) y *C. hayi* (mancha marrón) (6), originan lesiones con halo acuoso.

El objetivo principal del presente estudio fue confirmar si *M. fijiensis* es el causante de la enfermedad antes mencionada. Adicionalmente, se visitaron algunas regiones del país donde se comercializan los frutos de plátano procedentes de la zona al sur del Lago de Maracaibo, a los fines de detectar la posible presencia de propágulos del hongo en esos sitios. Un resumen del presente trabajo ha sido publicado (2).

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación. En una siembra comercial ubicada en El Chivo, Municipio autónomo Francisco Javier Pulgar, estado Mérida, se colectaron frutos de plátano que presentaban los síntomas característicos de la enfermedad. Los frutos fueron primeramente lavados frotándolos suavemente con una esponja y solución detergente y luego colocados durante 1h bajo agua corriente. De la parte más interna de las lesiones se cortaron pequeños fragmentos, los cuales fueron tratados por 1 min con solución 0,5% de hipoclorito de sodio, lavados en tres cambios de agua destilada estéril (ADE) y sembrados asépticamente a placas de AAA. Las placas se incubaron a 28 ± 2 °C y fotoperíodos de 12 h de luz blanca fluorescente. Los aislamientos obtenidos se transfirieron a tubos que contenían papa-zanahoria-agar (PZA: papa, 75 g; zanahoria, 75 g; agar, 20 g), los cuales se incubaron en las mismas condiciones señaladas anteriormente. Para inducir la esporulación se realizaron siembras en placas de PZA, utilizando como inóculo suspensiones preparadas con cultivos en tubos de PZA y ADE (4 ml/tubo). Las placas se incubaron invertidas en los mesones del laboratorio (22°C) y en condiciones de 12h de luz/oscuridad. La identificación del patógeno se hizo comparando las características morfométricas de las estructuras reproductivas asexuales con las reportadas por Meredith y

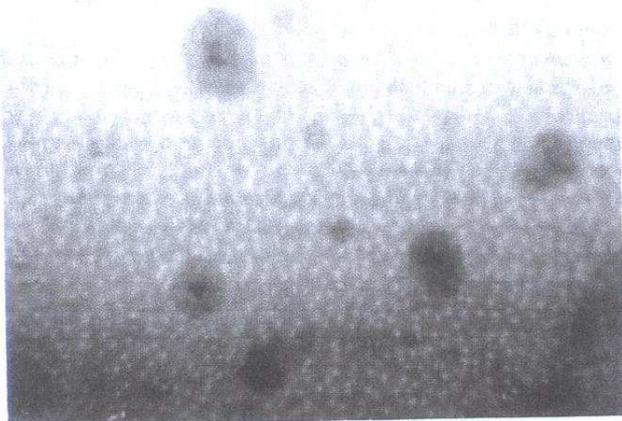


Fig. 1. "Pecas" causadas por *Mycosphaerella fijiensis* en fruto de plátano cv Hartón.

Lawrence (10) y Mulder y Stover (13) y mediante análisis de la reacción en cadena de la polimerasa.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El hongo se cultivó por 14 d en placas de PZA incubadas a temperatura ambiente y bajo un régimen de 12 h luz/oscuridad. El ADN genómico se extrajo de piezas de micelio procesadas de acuerdo al protocolo de Lloyd-Macgilp *et al.* (8) con algunas modificaciones (M. San Román; comunicación personal). Durante la precipitación el acetato de sodio fue sustituido por acetato de amonio. El ADN purificado se diluyó en agua a concentraciones 1/10, 1/100, 1/1000 y 1/5000 (volumen/volumen) y de cada dilución se utilizó 1 µl. Los cebadores usados fueron MF137 (5' GGCGCCCCGGAGGCCGTCTA 3') y MM137 (5' GGCGCCCCGGAGGTCTCCTT 3'), en combinación con R-635 (5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG 3') (Genosys, USA). MF137 y MM137 son específicos para *M. fijiensis* y *M. musicola*, respectivamente; R-635 es no específico, proveniente de la región conservada 25S del rADN. Las reacciones de amplificación se condujeron en 50 mM-KCl, 2,0 mM-MgCl₂, 10,0 mM de tampón Tris-HCl, pH 9,0, conteniendo 200 µM de dATP, dCTP, dGTP y dTTP, 0,4 µM del cebador R-635, 0,4 mM del cebador MF137 o MM137, 0,2 µl (5 unidades/µl) de Taq polimerasa (Promega), 1,0 µl de la plantilla del ADN genómico y agua hasta un volumen final de 50 µl.

La PCR se realizó en un termociclador Modelo PTC-100HB de M. J. Research, programado para un ciclo inicial de 4 min a 94 °C, seguido por 35 ciclos de 1min a 94 °C, 1min a 65 °C y 2 min a 72 °C. Adicionalmente, la extensión se continuó por 5 min a 72 °C y los productos de amplificación se conservaron a 4 °C hasta el inicio de los análisis. Las muestras de PCR (10 µl) fueron mezcladas con el tampón y separadas por 1 h en gel de agarosa 1,3 %, teñido por 3 min con bromuro de etidio (0,5 µg/ml agua). El gel fue lavado brevemente con agua desmineralizada y las bandas fotografiadas con cámara Minolta (película y papel Ilford, ASA 100) incorporada a un transiluminador de luz ultravioleta.

Microscopía electrónica de barrido (MEB). Esta técnica se utilizó para obtener información precisa y detallada de los conidióforos y conidios. Las muestras examinadas fueron discos de micelio y conidios extraídos de cultivos de 14 d en PZA, los cuales se fijaron por 48 h con vapores de tetraóxido de osmio (OsO₄) 2% en cápsulas de Petri incubadas por 24 h a temperatura ambiente (22 °C). El procedimiento fue el siguiente: colocar las muestras en los portaespecímenes y luego fijar estos en la parte interna de la tapa de las cápsulas, depositar 1-2 ml de OsO₄ en la base, sellar los bordes con Parafilm™ y cubrir todo el sistema con papel de aluminio. Al finalizar la fijación, la tapa se transfirió a la base de otra placa estéril, dejando secar el material al ambiente durante 72 h. Los especímenes fueron sombreados con nitrato de plata y examinados en un microscopio Hitachi S-2500 de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes.

Inoculación y reaislamiento. Las pruebas de patogenicidad se realizaron en frutos cortados de 1-3 semanas de edad y en la hoja bandera de plantas que tenían cuatro hojas completamente abiertas. Como inóculo se utilizó una suspensión de micelio y conidios preparada con cultivos de 14 d en PZA y ADE (20 ml/placa). Los frutos fueron lavados durante 1 h con agua corriente, sumergidos por 5 min en hipoclorito de sodio diluido al 0,5% en alcohol etílico 1 %, lavados con ADE, secados y transferidos a bandejas con tapa

de cierre hermético en cuyo interior se habían depositado varias capas de papel absorbente humedecidas con ADE. Los frutos se colocaron sobre cilindros de plástico para evitar contacto con el papel absorbente. Con el propósito de retardar el proceso de deshidratación de los frutos, el pedúnculo cubrió con algodón mojado con ADE, el cual se cubrió con Parafilm. Los sitios seleccionados para la inoculación demarcaron suavemente con marcador de tinta indeleble en el área central se aplicaron 1-2 alícuotas de inóculo. Después de la inoculación las bandejas se cerraron herméticamente inmediatamente fueron transferidas al invernadero. Las condiciones de cámara húmeda se mantuvieron por 7 d. En las áreas inoculadas se cortaron segmentos muy finos de pericarpio, los cuales fueron inmediatamente aclarados por calentamiento durante 5-10 min en lactofucsina ácida 0,025% a los fines de conocer el sitio por donde penetra el hongo. Los frutos se examinaron diariamente para evaluar el desarrollo de la enfermedad.

La hoja bandera con estado de desarrollo 2, según Fou (3), se inoculó aplicando la suspensión por el envés con una pistola eléctrica de alta presión. Seguidamente se cubrió con una bolsa de plástico transparente y en el interior se colocó una pieza de algodón mojado con ADE para mantener la humedad relativa cercana a la saturación durante 5 d. Las plantas transfirieron al invernadero y después de finalizado el período de cámara húmeda se revisaron semanalmente para observar la aparición de los síntomas. Los frutos y las hojas usadas como testigo se asperjaron con ADE. Las inoculaciones en hojas y frutos se hicieron una y tres veces, respectivamente. A partir de los materiales inoculados se realizaron aislamientos para comprobar los postulados de Koch.

La enfermedad en los sitios de comercialización. Con el propósito de detectar la presencia de la enfermedad en algunos sitios del país donde se comercializan los frutos de plátano procedentes de la región al sur del Lago de Maracaibo, en abril de 1996 se realizaron improntas con cinta adhesiva en Maracay (Edo. Aragua), Valencia y Puer Cabello (Edo. Carabobo), San Felipe y Chivacoa (Edo. Yaracuy) y Barquisimeto (Edo. Lara).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación. Los numerosos aislamientos realizados a partir de frutos infectados originaron consistentemente dos hongos que ocasionalmente se encontraron creciendo en la misma colonia. Uno de los hongos resultó ser el llamado *Cercospora* no virulenta, el cual fue fácilmente distinguido porque produce conidios moderadamente verrugosos en conidióforos simples con cicatriz (13). El otro hongo se identificó como *M. fijiensis* e función de las características morfológicas de los conidióforos y conidios (10, 13). Los principales criterios de diagnóstico tomados en consideración fueron la presencia de cicatrices conspicuas y engrosadas en los conidióforos (10) y la formación de conidios que se adelgazan hacia la punta y presentan cicatriz en la base (13). Estos parámetros permiten distinguir rápidamente *M. fijiensis* de *M. musicola*, los cuales producen pseudotecios, ascosporas y espermagonios similares (17). En el microscopio electrónico de barrido las cicatrices en los conidióforos y el hilio conidial presentaron forma de disco mientras que los conidios mostraron la superficie lisa y los septos sobresalientes. El hilio conidial promedió 1,44 µm de diám, siendo este valor ligeramente menor que el extrem

inferior del rango (1,5-3,0 μm) registrado por Meredith y Lawrence (10) con microscopía fotónica. La diferencia puede ser atribuida a la precisión de las técnicas utilizadas. La identidad del microorganismo fue confirmada por PCR (5). Sólo la combinación de los cebadores MF137 y R-635 originó con el ADN del hongo investigado un producto de amplificación de aproximadamente 1000 pares de bases (Fig. 2).

En PZA *M. fijiensis* desarrolló continuamente colonias compactas de color gris. A la semana de crecimiento en las placas de PZA sembradas con suspensión de micelio y conidios el hongo había formado abundantes conidios e iniciado la formación de espermagonios. Una semana más tarde los espermagonios tenían espermacios. Las hifas se observaron lisas, verde-oliva pálido a ligeramente marrón-oliváceo y con (2-) 3,09 (-4) μm de grosor. Los conidióforos se apreciaron sin ramificaciones, rectos o encorvados, geniculados, marrón-oliváceos en la base y pálidos en el ápice, con cicatrices evidentes en los sitios donde habían originado conidios, septados (0-5), (18-) 36,4 (-58) μm de largo, (3-) 3,7 (-4) μm de grosor en la base y (2-) 2,6 (-3) μm cerca del ápice. Los conidios del tipo cercospora aparecieron rectos o encorvados, obclavados a cilíndricos-obclavados, con la base truncada y adelgazándose hacia el ápice obtuso, con hilius basal oscuro, conspicuo y refractivo, (2-) 6 (-9) septados, (40-) 72,2 (-106) μm de largo, (3-) 3,3 (-4) μm de ancho en la base, (2-) 2,9 (-3,5) μm en la parte media y (1,5-) 1,9 (-2) μm cerca del ápice. Los espermagonios fueron oscuros, globosos a subglobosos. Los espermacios se observaron como bastoncillos hialinos, rectos a ligeramente curvados y midieron (2-) 2,9 (-4)-x 1 μm . El número de septos y las dimensiones de los conidios se ubicaron dentro de los rangos registrados *in situ* por Meredith y Lawrence (10).

Inoculación y reaislamiento. Todas las pruebas de patogenicidad permitieron reproducir en frutos síntomas similares a los observados en el campo y, en hojas, lesiones típicas de sigatoka negra. En los frutos la enfermedad comenzó a manifestarse a los 5 d después de la inoculación, como diminutas pecas rojizas, las cuales sólo pudieron ser

apreciadas con la ayuda del estereoscopio. Más tarde, las lesiones se volvieron marrón-oscuros a casi negras con halo acuoso y fueron fácilmente observables a simple vista. El halo acuoso apareció a los 10 d después de la inoculación. Coincidentalmente, durante el segundo y tercer estado de manchas foliares de sigatoka negra en bananos y plátanos, también aparece un halo acuoso, el cual posiblemente es el resultado de la acción de una toxina inducida por el patógeno, cuya capacidad infecciosa fue reportada en plantas de banano producidas a partir de meristemos cultivados *in vitro* (12). Aunque *C. hayi*, *D. torulosa* y *P. grisea* también causan lesiones con halo acuoso en frutos de banano y plátano, ninguno de estos hongos creció a partir de los numerosos aislamientos realizados, ni tampoco sus conidios fueron encontrados en las improntas realizadas en el campo y en los sitios de comercialización.

El mejor material para reproducir la enfermedad fueron frutos de una semana de edad. Los frutos usados como testigo y los tejidos próximos a los sitios de inoculación se mantuvieron sin lesiones, evidencia que permitió confirmar el estado de sanidad inicial del material utilizado en las pruebas de patogenicidad. Los aclaramientos con lactofucsina ácida demostraron que el hongo penetra a través de los estomas y puede dañar hasta siete de las células epidérmicas dispuestas alrededor de estas estructuras. *C. hayi* (6) y *D. torulosa* (9) también penetran por los estomas. Las "pecas" de *M. fijiensis* se parecen morfológicamente a las de *D. torulosa*, pero son de menor tamaño. En condiciones de ataque severo las "pecas" de *D. torulosa* pueden alcanzar diámetros superiores a los 4 mm (9), situación que no se presenta en las inducidas por *M. fijiensis*. Las lesiones de *M. fijiensis* al igual que las de *D. torulosa* (9) y *C. hayi* (1) no sufren modificaciones, mientras que las de *P. grisea* aumentan en número y tamaño durante la maduración de los frutos (6). Cuando los frutos atacados por *C. hayi* comienzan a amarillarse, por lo general, las lesiones muestran un halo verde-oscuro (6), el cual no aparece en las inducidas por *D. torulosa* y *M. fijiensis*. La presencia del halo sugiere que el hongo retarda la maduración de esos tejidos (6).

Dos meses después de la inoculación, en las hojas solamente se habían desarrollado pizcas, estrías y el primer estado de mancha de sigatoka negra. Las lesiones del primer estado de manchas, se observaron castaño-oscuros, con un halo amarillento y promediaron 3,6 x 1,5 mm. En el estereoscopio el halo amarillento se apreció acuoso. Lesiones foliares similares han sido observadas en plantas de plátano "Topocho" cultivadas en la zona. Aparentemente las condiciones ambientales predominantes en el sitio donde se realizaron las pruebas de patogenicidad, afectaron el desarrollo de la enfermedad. El sitio está ubicado a 1950 msnm y la temperatura promedio anual de 22 °C.

M. fijiensis fue aislado continuamente de todos los materiales inoculados, demostrándose así la capacidad que tiene el patógeno de producir lesiones en hojas y frutos del plátano 'Hartón'. Esta es la primera vez que este reconocido patógeno foliar es reportado como causa de lesiones en frutos de musáceas. Es de destacar que ha sido más fácil aislar a *M. fijiensis* de frutos que de hojas, lo cual puede atribuirse a que las condiciones ambientales predominantes al sur del Lago de Maracaibo favorecen la concurrencia en las hojas de saprofitos y otros patógenos (*Cercospora* no virulenta, *Cladosporium musae*, *Leptosphaeria* sp., *Miconectriella* sp.,

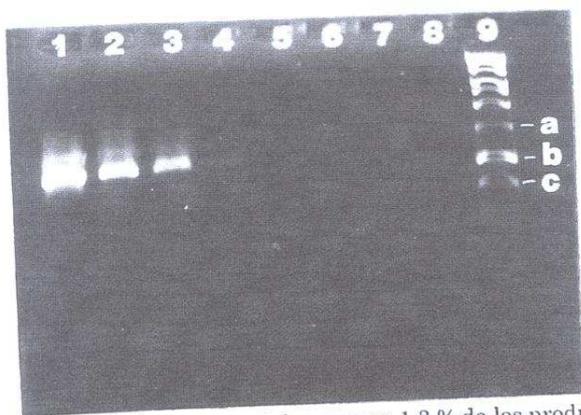


Fig. 2. Electroforesis en gel de agarosa 1,3 % de los productos obtenidos de la amplificación del ADN de *Mycosphaerella fijiensis* con los cebadores MF137, MM137 y R-635, a través de la reacción en cadena de la polimerasa. El ADN se utilizó en concentraciones 1/10, 1/100, 1/1000 y 1/5000 (izquierda a derecha). Carriles 1-4: ADN con MF137 y R-635; carriles 5-8: ADN con MM137 y R-635; Carril 9: patrón de Kb (a = 1500 pb; b = 1000 pb; c = 750 pb).

Veronaea musae, etc.), los cuales usualmente generan problemas de contaminación en los medios de cultivo debido a que su tasa de crecimiento es mayor que la de *M. fijiensis*.

La enfermedad en los sitios de comercialización. En todos los sitios visitados se encontraron frutos con los síntomas típicos de la enfermedad, pero sólo en Barquisimeto (Lara), Chivacoa (Yaracuy) y Maracaibo (Zulia) se encontraron ascosporas, conidióforos y conidios sin signos evidentes de deterioro físico, lo cual sugiere que estas estructuras soportan las condiciones extremas de temperaturas que se generan durante el transporte hacia el mercado. Al respecto, es importante mencionar que Keiser y Lukezic (7) determinaron una relación inversa entre la sobrevivencia de los conidios de *C. hayi* y la temperatura. A 14 y 45 °C, los conidios se mantuvieron viables durante por lo menos 24 h y 1 semana, respectivamente; mientras que los conidios sin germinar permanecieron viables por 5 semanas cuando se expusieron a fluctuaciones de temperatura y humedad relativa. Es posible que los conidios de *M. fijiensis*, por ser ligeramente pigmentados, tengan igual o mayor capacidad de sobrevivencia que los de *C. hayi*. Por otra parte, Jacome, Schuh y Stevenson (4), determinaron que los conidios de *M. fijiensis* son más tolerantes a la humedad relativa que las ascosporas. Según estos investigadores, durante la época seca las infecciones de sigatoka negra son causadas por conidios, ya que en tales condiciones las ascosporas para poder germinar necesitan la presencia de agua libre o de humedad relativa cercana a la saturación. Los conidios de *M. fijiensis* germinan en un rango más amplio de humedad relativa (92-100%) que las ascosporas (98-100%). Sin embargo, aún se desconoce si el tratamiento basado en alumbre y Derosal, comúnmente aplicado a los frutos cuyo destino es la exportación, afectan o no la integridad y/o viabilidad de los propágulos del hongo.

Las pecas producidas por *M. fijiensis* no dañan la pulpa, pero en condiciones de ataque severo pueden ser causa de alteraciones estéticas que reducen la calidad y, en consecuencia, el valor comercial del producto. Desde el punto de vista epidemiológico las pecas parecen ser importantes por cuanto plantean la posibilidad de que a través de los frutos el agente causal de la sigatoka negra pueda ser introducido a sitios donde esta enfermedad no existe. Lo anterior permite concluir que, aparentemente, la medida que restringe la movilización de hojas y otros tejidos de musáceas, es sólo parcialmente efectiva.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a Andrés Eloy Mora, Jorge Fernández, María Elena García y Mauricio San Román, por la valiosa colaboración prestada durante la ejecución de la investigación.

LITERATURA CITADA

1. B. G. K. 1988. *Plant Diseases of the Americas*. Blain, DE: Blain, 168 pp.
2. Cedeno, L., Carrero, O. y Quintero, R. 1997. Primer reporte de *Mycosphaerella fijiensis* como causa de pecas en frutos de plátano (*Musa sapientum*). *Vegetal* 16: 41 (resumen).
3. Fouré, E. 1985. Étude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* au Gabon. *Fruits* 40: 393-399.
4. Jacome, J. H., Schuh, W. and Stevenson, P. E. 1961. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *diiformis*. *Phytopathology* 51: 1480-1485.
5. Johanson, H. and Jeger, M. S. 1988. *Handbook of Plant Diseases of the Tropics*. *Mycosphaerella fijiensis* and other banana leaf spot pathogens. *Plant Dis.* 72: 850-851.
6. Keiser, W. J. and Lukezic, F. L. 1965. Brown spot disease of banana caused by *Cercospora hayi*. *Phytopathology* 55: 977-980.
7. Keiser, W. J. and Lukezic, F. L. 1966. Influence of certain environmental conditions on spore dispersal and survival of *Cercospora hayi*. *Phytopathology* 56: 1290-1293.
8. Lloyd-Macgilp, S. A., Chambers, S. M., Dodd, J. C., Fitter, A. H., Walker, C. and Young, J. P. W. 1996. Diversity of the ribosomal internal transcribed spacers within and among isolates of *Clonostachyospora musarum* and related mycelial fungi. *New Phytol.* 133: 103-111.
9. Meredith, D. S. 1961. Fruit spot ("speckle") of Jamaican bananas caused by *Deightonella torulosa* (Syd.) Ellis. I. Symptoms of disease and studies of pathogenicity. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 44: 95-104.
10. Meredith, D. S. and Lawrence, J. S. 1969. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*): Symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 52: 459-476.
11. Mobambo, K. N., Gauhl, F., Vuytsteke, D., Ortiz, R., Pasberg-Gauhl, C. and Swennen, R. 1993. Yield loss in plantain from black sigatoka leaf spot and field performance of resistant hybrids. *Field Crop Res.* 35: 35-42.
12. Molina, G. and Krauz, J. P. 1989. A phytotoxic activity in extracts of broth cultures of *Mycosphaerella fijiensis* var. *diiformis* and its use to evaluate host resistance to black sigatoka. *Plant Dis.* 73: 142-144.
13. Mulder, J. L. and Stover, R. H. 1976. *Mycosphaerella* species causing banana leaf spots. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 67: 77-82.
14. Shillingford, C. A. 1977. Control of banana fruit rot and fungi that contaminate washing water. *Trop. Sci.* 19: 197-203.
15. Shillingford, C. A. and Sinclair, J. B. 1977. Susceptibility of five banana cultivars to anthracnose and crown rotting fungi. *Plant Dis. Repr.* 61: 797-801.
16. Stover, R. H. 1972. Banana, plantain and abaca diseases. *Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England.* 316 pp.
17. Stover, R. H. 1980. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. *Plant Dis.* 64: 750-756.