

Programa Integral para el Manejo del Cultivo de Plátano, Impulsando las Buenas Prácticas de Campo e Inocuidad Basados en la Investigación y Aplicación de Herramientas Biotecnológicas

Dra. Blondy Canto Canché, Profesor Investigador UBT, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY); Correspondencia: cantocanche@cicy.mx; blondycanto@gmail.com

El cultivo de plátano es uno de los productos agrícolas más importantes en México (1.8 - 2.3 millones de toneladas al año) y de él dependen más de 70,000 familias en 19 estados de la República mexicana. Los principales Estados productores son Chiapas, Tabasco, Veracruz, Colima, Michoacán, Nayarit, Guerrero, Oaxaca y Jalisco. El problema más importante que enfrenta este cultivo es la enfermedad conocida como Sigatoka negra, presente en la mayoría de los países productores. La principal forma de control es mediante la aplicación aérea de fungicidas, lo que significa un costo anual de más de 500 millones de pesos (Orozco- Santos *et al* 2008). Debido a los problemas ambientales en nuestro planeta, actualmente en todas partes del mundo se promueve el desarrollo y uso de prácticas o procesos sustentables. Acorde con esta necesidad, nuestro objetivo fue fomentar el manejo integral del cultivo impulsando buenas prácticas, particularmente un manejo cultural intensivo. Para ello se trabajó sobre 4 ejes: investigación epidemiológica, investigación en laboratorio sobre la Sigatoka negra, evaluación en campo de diferentes genotipos de banano y plátanos, y el establecimiento de un laboratorio de servicios en Tabasco.

METODOLOGÍA

Genética de las cepas de *M. fijiensis* mexicanas. Se colectaron tejidos foliares del cultivar Enano Gigante enfermos con Sigatoka negra, sexto estadio de la enfermedad según la escala de Fouré (1985). Las muestras se colectaron en los estados de Tabasco, Chiapas, Colima, Oaxaca y Michoacán. El proceso de aislamiento del hongo se realizó por el método de descargas de ascosporas descrito por Stover (1976). Las colonias monospóricas fueron sembradas en medio líquido V8 para el crecimiento del micelio. Posteriormente el micelio se secó y molió con nitrógeno líquido hasta polvo fino en un mortero frío estéril. El ADN se extrajo en amortiguador (Tris-HCl pH 8 200 mM, NaCl 250 mM, EDTA 25 mM, PVP 1 %, SDS 1 %, CTAB 3 % y 20 μ L de β - mercaptoetanol), y posterior extracción orgánica con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1); el ADN se recuperó en la fase acuosa. El ADN se cuantificó en nanodrop. Se estudiaron secuencias simples repetitivas (ISSR) para lo cual se utilizaron los oligonucleótidos universales ISSR810 (5' GAGAGAGAGAGAGAT 3') e ISSR809 (5' AGAGAGAGAGAGAGG 3').

Exploración de reservorios. La colecta del material vegetal se realizó en los estados de Yucatán, Tabasco y Chiapas durante el mes de Julio del año 2011. De cada sitio se colectaron 10 muestras respectivas de desechos

de hoja, pseudotallos, peciolos y pinzote (raquis) dejados en el suelo de las plantaciones de plátano. Las muestras fueron analizadas por PCR de punto final utilizando el par de cebadores específicos diseñados por Arzanlou y colaboradores (2007). Los productos amplificados fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 1 % y visualizados por luz ultravioleta con ayuda de un transiluminador.

Manejo de hojarasca. El experimento se realizó en un huerto de plátano Enano Gigante (Subgrupo Cavendish, Musa AAA) en el municipio de Tecomán, Col. Se evaluaron cuatro tratamientos de manejo de la hojarasca para determinar su efecto sobre la incidencia y severidad de SN: **1)** hojas dejadas en el suelo sin acomodar (esparcidas al azar en toda la parcela: testigo). **2)** hojas dejadas en el suelo y acomodadas a lo largo de la hilera de plantas (acordonado). **3)** hojas acomodadas en minicomposteo (montones de hojarasca cada 5 m) en cada hilera de plantas. **4)** hojas acomodadas en minicomposteo y tratadas mensualmente con urea al 10 %. El equipo de aplicación fueron bombas de mochila de motor, con un gasto de 100 L de solución por hectárea. Cada tratamiento consistió en parcelas de una hectárea. El saneo y acomodo de hojarasca se realizó cada semana. En cada actividad de saneo, se eliminaron las partes afectadas de la hoja y/o la hoja completa cuando el daño SN superaba el 40 % del área foliar. En cada tratamiento se determinó la incidencia y severidad de SN basada en la escala de Stover modificada por Gauhl (1990).

Evaluación del efecto de la urea sobre la biomasa de *M. fijiensis*. Se seleccionaron cuarenta hojas de plátano con síntomas de la enfermedad y se marcaron estrías con grado seis. Se colocaron dos hojas por cada tratamiento, de los cuales se eligieron diez al azar, a los que se les asperjó urea al 10 % (p/v) en una sola toma y los restantes se mantuvieron como testigo. Semanalmente se recolectaron muestras de aproximadamente 1 cm² en tubos estériles de 2 mL (el primer muestreo fue antes de la aplicación de urea) con un total de diez muestreos. Se extrajo el ADN de las muestras para la cuantificación mediante PCR en tiempo real (Arzanlou *et al.*, 2007). La curva estándar se construyó con ADN de *M. fijiensis*. También se evaluaron el peso de la hojarasca y la descarga de ascosporas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Genética de las cepas de *M. fijiensis* mexicanas. El 100 % de los alelos obtenidos fueron polimórficos. El promedio obtenido de número de alelos fue de 12.5, de un total de 34. Con esta información se construyó un

dendrograma, en el cual se distinguen 8 grupos. El grupo I, conformado por los aislados del estado de Oaxaca (cocos B, FHIA 8, MNVO c1, Sta Teresa, Rambo c1, MNVO c10, MNVO c5, norteño c1, MNVO c4, MNVO c9, Alacatán, valery 2000 y MNVO c8). En el grupo II se agruparon ocho aislados, todos del estado de Michoacán (p10c9coah, p4c3coah, p10c9, egp98, egp103, egp41, egp101 y egp106). El grupo III se conformó por 18 aislados y todos fueron del estado de Colima (colluiscervV21, p9c3ceteco, arml3m1c1, petercarl2m3, tecofradía l2m3, 5 pascuale, colnew, arml3m1c1, petercarl2m3, casitasp8c2, c de o 17, arml3m1c4, colomos new68, mceteco 2, armpozosl2m3, c de o 2, col victorianol1m2 y c de o). En el grupo IV se agruparon 6 aislados en donde cinco fueron del estado de Chiapas (chis c5, cr6e, ch50c, chis c6 y chis c10) y un aislado fue del estado de Michoacán (egp92). El grupo V tuvo 13 aislados, 11 fueron del estado de Chiapas (chis c1, cr6c, chis c15, cr7a, cr6c, 02438, o92 cr4b, chis c14, cr6h y ch50f) y dos del estado de Michoacán (cohasapo y egp102). El grupo VI estuvo conformado por 11 aislados de Tabasco (recII c2, recreo c3, rec v1c3, recl c3, rec2 c4, sani c13, alegre c3, alegre c5, miranda c1, jaguar c1, rec c1c6 y reme c1). En el grupo VII se agruparon nueve aislados, uno del estado de Colima (pascuales 2), uno del estado de Tabasco (reme c4) y 7 del estado de Michoacán (egp68, egp99, d1090, p3c2coah, egp108, egp80 y egp78). El grupo VIII estuvo conformado solo por tres aislados, de los cuales dos fueron del estado de Tabasco (recl c1 y mir c2) y uno del estado de Chiapas (cr6b).

Exploración de reservorios. Se obtuvo el ADN de cada una de las 10 muestras de hoja, 10 de pseudotallo, 10 de peciolo y 10 de pinzote de los cuatro sitios, a excepción del sitio de Puyacatengo, Tabasco. En todos los sitios se detectaron muestras positivas en cada uno de los tejidos. En el caso de Uxmal, se detectaron nueve muestras positivas de hoja, nueve en pseudotallo, ocho de peciolo y tres de pinzote. En Puyacatengo, Tabasco se detectaron ocho muestras positivas en hoja, cuatro en pseudotallo y tres en peciolo. En la finca bananera de Tabasco se detectaron dos muestras positivas en hoja, cuatro en pseudotallo, una en peciolo y tres en pinzote. En la finca bananera de Chiapas se detectaron cinco muestras positivas para *M. fijiensis* en hoja, seis muestras positivas de pseudotallos, seis de peciolo y cinco de pinzote. Cuantitativamente hablando, el contenido del patógeno en la hojarasca es significativamente mayor a lo encontrado en los otros tejidos; las hojas secas contienen 15 a 20 veces lo encontrado en pinzote y 12 a 15 veces de lo detectado en pseudotallo.

Manejo de hojarasca. El manejo de la hojarasca mostró un efecto de reducción de la enfermedad en comparación al testigo sin acomodo de hojarasca. El promedio ponderado de infección inicial en el periodo evaluado (2010) fue de 0.15 a 0.22. A partir de la semana 21, las plantas de la parcela testigo mostraron una mayor severidad en comparación a las parcelas con manejo de hojarasca (minicomposteo, acordonado y minicomposteo más urea). La enfermedad se incrementó notablemente a partir del inicio de las lluvias (Junio: semana 25) y se prolongó hasta el final de la temporada lluviosa (octubre: semana 39), principalmente en el tratamiento testigo. En

todos los casos, la severidad de la Sigatoka negra fue mayor en la parcela testigo (PPI de 0.40 a 0.72) con relación a las parcelas con manejo de hojarasca (PPI de 0.15 a 0.45). El comportamiento de la Sigatoka negra fue similar entre los tratamientos con manejo de hojarasca.

Evaluación del efecto de la urea sobre la biomasa de *M. fijiensis*. Antes de la aplicación la biomasa verde de las hojas tuvo un peso de 0.862 y 0.865 g/25 cm² en los tratamientos con y sin aplicación de urea, respectivamente. A los siete días después de la aplicación de la urea, el peso de la biomasa se redujo notablemente en las hojas tratadas, registrando una reducción de 70 % del peso inicial (0.865 a 0.258 g). En cambio en las hojas sin tratamiento de urea, la reducción fue a un 47.1 % del peso inicial (0.862 a 0.406 g). A partir de las tres semanas de la aplicación, el peso de la biomasa de las hojas fue similar en ambos tratamientos, registrando valores de 0.187 a 0.265 gramos/25 cm² en el tratamiento testigo (sin urea) y de 0.175 a 0.208 en el tratamiento de urea.

En conclusión, se detecta *M. fijiensis* en los desechos en el campo, en particular en la hojarasca. El manejo de la hojarasca ayuda a disminuir la severidad de la Sigatoka negra, particularmente en época de lluvias. Los datos de severidad son parecidos en los diferentes manejos de la hojarasca, con y sin urea. Sin embargo, la cantidad de biomasa es diferente, siendo mayor en la hojarasca sin tratamiento, por lo que sigue representando mayor potencial de riesgo. El hongo permanece en la hojarasca por semanas, y este material es capaz, bajo condiciones favorables, de descargar esporas. La biomasa viable del hongo permanece incluso por tiempo más largo y puede significar un reservorio de la enfermedad, por lo que es importante considerar tratamientos que ayuden a eliminar ese inóculo.

Referencia Bibliográfica

- Arzanlou M., Abeln E. C. A., Kema G. H. J., Waalwijk C., Carlier J., Vries, I. de, Guzmán M., Crous P. W. (2007). Molecular diagnostics for the Sigatoka disease complex of banana. *Phytopathology* 97:1112 - 1118.
- Fouré E. (1985). Black leaf streak disease of bananas and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. IRFA. Paris, France. 23 p.
- Gauhl, F. 1990. Epidemiología y ecología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano (*Musa* sp) en Costa Rica, UPEB. Panamá, Panamá. 126 p.
- Orozco-Santos M., Orozco-Romero J., Pérez-Zamora O., Manzo-Sánchez G., Farías-Larios J., Silva W.D.M. (2008). Prácticas culturales para el manejo de la sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology* 33:189 - 196.