

Revista Mexicana de Fitopatología
Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.
guillermofuentes_davila@hotmail.com
ISSN (Versión impresa): 0185-3309
MÉXICO

2005

Gilberto Manzo Sánchez / Salvador Guzmán González / Cecilia Mónica Rodríguez
García / Andrew James / Mario Orozco Santos
BIOLOGÍA DE MYCOSPHAERELLA FIJENSIS MORELET Y SU INTERACCIÓN
CON MUSA SPP

Revista Mexicana de Fitopatología, enero-junio, año/vol. 23, número 001
Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.
Ciudad Obregón, México
pp. 87-96

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Universidad Autónoma del Estado de México

<http://redalyc.uaemex.mx>



Biología de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y su Interacción con *Musa* spp.

Gilberto Manzo-Sánchez, Salvador Guzmán-González, Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Lab. de Biotecnología, Apdo. Postal 36, km 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima, México CP 28100; **Cecilia Mónica Rodríguez-García, Andrew James**, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Lab. de Biotecnología Molecular, Unidad de Biotecnología, Calle 43 No. 130, Colonia Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México CP 97200; y **Mario Orozco-Santos**, INIFAP, Campo Experimental de Tecomán, Apdo. Postal 88, km 35 Carr. Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima, México CP 28100. Correspondencia: sguzman@ucol.mx; gmanzo@cicy.mx

(Recibido: Mayo 25, 2004 Aceptado: Agosto 23, 2004)

Manzo-Sánchez, G., Guzmán-González, S., Rodríguez-García, C.M., James, A. y Orozco-Santos, M. 2005. Biología de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y su interacción con *Musa* spp. Revista Mexicana de Fitopatología 23:87-96.

Resumen. El rayado negro de la hoja o sigatoka negra, causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis*, es la enfermedad del follaje más destructiva de bananos y plátanos, se encuentra ampliamente distribuida en casi todas las regiones productoras del mundo y provoca grandes pérdidas económicas. *M. fijiensis* tiene un alto nivel de diversidad genética ocasionada por su reproducción sexual y ciclo de vida corto, que ocasiona numerosas generaciones por año y un elevado índice de recombinación genética. Estas características del patógeno dificultan su control, el cual se basa principalmente en la aplicación continua de fungicidas, y la implementación de prácticas de cultivo para reducir las fuentes de inóculo y las condiciones favorables para la enfermedad. Existen cultivares resistentes obtenidos a través del mejoramiento genético tradicional; sin embargo, algunas características agronómicas como la calidad de los frutos no son aceptadas totalmente por el público consumidor. El uso de la ingeniería genética promete un gran avance en el control de sigatoka negra, ya que permite estudiar y modificar tanto al hospedero como el patógeno para diseñar estrategias de manejo de la enfermedad. En esta revisión, se presentan los avances del conocimiento en la biología y la interacción entre *Musa* spp. y *M. fijiensis*, así como la utilización de algunas técnicas moleculares para el estudio de la genómica de hongo.

Palabras clave adicionales: Hongo fitopatógeno, Musáceas, enfermedad, síntomas, genómica.

Abstract. Black leaf streak or black sigatoka, caused by the ascomycete fungus *Mycosphaerella fijiensis*, is the most destructive disease of foliage of bananas and plantains. It is

widely distributed in almost all producing regions of the world and causes great economic losses. *M. fijiensis* has a high level of genetic diversity due to its sexual reproduction and short life cycle that leads to numerous generations per year and a high grade of genetic recombination. These characteristics of the pathogen make difficult its control, which is based mainly on the continuous application of fungicides and the implementation of cultural practices to reduce sources of inoculum and the favorable conditions for the disease. There are resistant cultivars obtained through traditional genetic improvement; however, some agronomic characteristics such as fruit quality are not totally accepted by the consumer. The application of genetic engineering promises great progress on the control of black sigatoka, since it allows the design of management strategies through the study and modification of the host and pathogen. In this review, we present advances on knowledge of the biology and the interaction between *Musa* spp. and *M. fijiensis*, as well as the use of some molecular techniques for the study of the genome of this fungus.

Additional keywords: Phytopathogenic fungi, Musacea, disease, symptoms, genome.

Los bananos y plátanos (*Musa* spp.) son plantas herbáceas, poliploides y perennes ampliamente adaptados a regiones tropicales y subtropicales, de las cuales se pueden distinguir tres partes importantes de la planta: el cormo con hijuelos y el sistema radical, el pseudotallo con el sistema foliar y el racimo o inflorescencia. Dos especies diploides, *M. acuminata* Colla (genoma A) y *M. balbisiana* Colla (genoma B), son los ancestros comunes de todos los cultivares triploides y tetraploides conocidos (Simmonds y Shepherd, 1955). El banano se considera el segundo frutal tropical más importante por su consumo mundial, así como por su contenido de fuentes de carbono, almidón, vitaminas y

minerales. La producción anual en el mundo asciende a los 90 millones de ton, siendo los países de América Latina los principales exportadores de fruta fresca hacia los Estados Unidos y Europa; sin embargo, en estos países el 15% de la producción se exporta y el resto se destina al consumo local e industrialización (FAO, 2001). Dentro de las enfermedades que causan severos daños en las plantaciones bananeras se encuentra el mal de Panamá causada por el hongo *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. f. sp. *cubense* (E.F. Sm.) W.C. Snyder y H.N. Hans., el nematodo perforador del plátano [*Radopholus similis* (Cobb) Thorne] y el virus bunchy top del banano (Jones, 2000). La sigatoka negra (debido al color pardo oscuro o negro de las rayas y manchas) causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet [forma imperfecta *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton], es la enfermedad más destructiva y devastadora de las hojas de bananos y plátanos a escala mundial (Marín *et al.*, 2003; Stover, 1980). La severidad de este patógeno se magnifica en un sistema agrícola como el de las Musáceas, en el cual la propagación vegetativa (reproducción asexual) y el cultivo en grandes extensiones de tierra de un clon genéticamente uniforme, lo hace altamente vulnerable a ataques epidémicos de la enfermedad (Clay y Kover, 1996). Este patógeno se caracteriza por causar manchas foliares y provocar infecciones masales que reducen el área fotosintética de las plantas (Fig. 1), causando la madurez prematura de los frutos y como consecuencia la disminución de la producción de fruta en un 38% (Marín *et al.*, 2003; Stover, 1980). *M. fijiensis* se encuentra ampliamente distribuido en la mayoría de los países productores del mundo (Marín *et al.*, 2003; Mourichon y Fullerton, 1990; Stover, 1980), incluyendo las regiones bananeras de México (Fig. 2) (Orozco-Santos *et al.*, 2000).

Aunque, se detectó por primera vez en 1963 en las islas Fiji (Rhodes, 1964) ubicadas en el área del Sudeste Asiático, su amplia distribución en los alrededores del Pacífico sugiere que ha estado presente en la región mucho antes de su descubrimiento; posteriormente, se dispersó a todas las áreas productoras del mundo (Stover, 1978). El control de esta enfermedad se basa principalmente en el uso de fungicidas, cuya aplicación genera un costo de 30 a 40% de la producción; sin embargo, esta medida de control provoca contaminación al ambiente, problemas de salud humana y genera resistencia del hongo. El objetivo de la presente revisión es dar a conocer los estudios que se han realizado sobre la biología y la interacción de *M. fijiensis* con los bananos y plátanos, así como la aplicación de algunas técnicas moleculares en el estudio del patógeno.

Infección y Sintomatología. Las esporas (ascosporas y conidios) de sigatoka negra se desplazan a través del viento, por la lluvia y el rocío de agua, las cuales son la principal fuente de infección (Marín *et al.*, 2003; Meredith y Lawrence 1969; Stover, 1980). Las ascosporas y conidios germinan en la hoja (Stover y Simmonds, 1987), seguido por un crecimiento epifítico de los tubos germinativos, los cuales entran a la hoja a través del estoma (Meredith y Lawrence 1969), para después proliferar en tejido intercelular de la hoja (Meredith y Lawrence 1969). El patógeno establece una relación biotrófica durante 3 a 4 semanas después de la penetración por el estoma antes de la aparición de síntomas necróticos (Hoss *et al.*, 2000). El desarrollo de la enfermedad es favorecido cuando existe alta humedad y altas precipitaciones, mientras que las temperaturas menores de 20°C y períodos secos inhiben el crecimiento del hongo (Craenen, 1998). De acuerdo a Meredith y Lawrence (1969)



Fig. 1. Síntomas causados por sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano (*Musa* sp.) Enano Gigante (Subgrupo Cavendish, AAA).

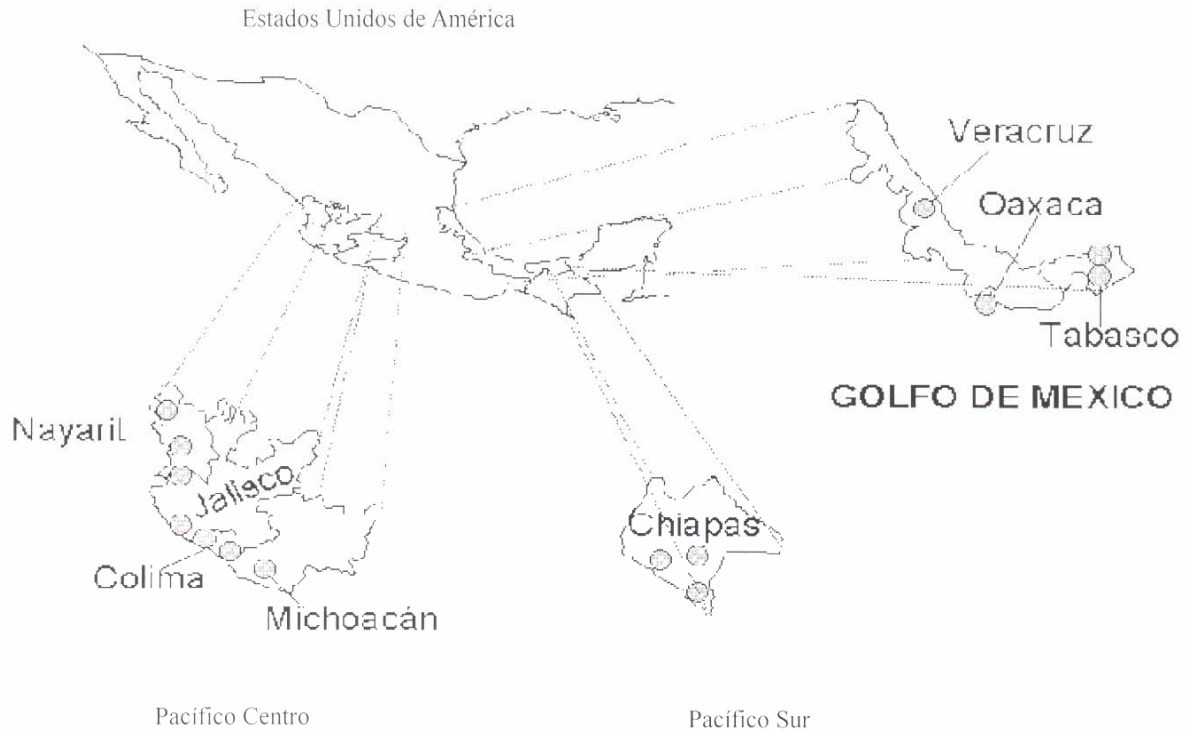


Fig. 2. Ubicación de las regiones bananeras en México en las cuales se encuentra sigatoka negra (Orozco-Santos *et al.*, 2000).

y Fouré (1985) se han identificado seis estados de la evolución de síntomas de la enfermedad: uno de punto, dos de raya y tres de mancha (Fig. 3): 1) Estado de punto inicial: Aparición de puntos pequeños de color amarillo pálido de 0.25 mm de diámetro visibles en el envés de la hoja; 2) primer estado de

estría: Formación de estrías de color castaño de 1 mm de ancho por 2 mm de largo, visibles en el haz y paralelas a la venas laterales de la hoja; 3) segundo estado de estría: Alargamiento de las estrías hasta alcanzar 20-25 mm de longitud y 2 mm de ancho, las cuales toman una coloración

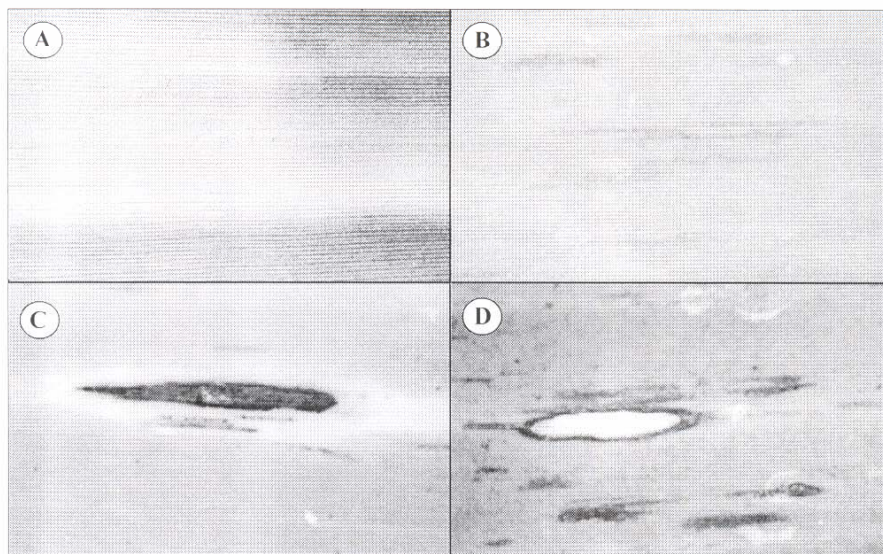


Fig. 3. Estados de los síntomas de la enfermedad de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano enano gigante: A) Primer estado de estría; B) segundo estado de estría; C) segundo estado de mancha; D) tercer estado de mancha.

marrón oscuro y son visibles en el envés como rayas amarillas; 4) primer estado de mancha: Ensanchamiento de las estrias que se tornan color marrón oscuro y son rodeadas por una zona amarilla pálida; puede considerarse el primer estado de mancha; 5) segundo estado de mancha: Inicio del colapso del centro de color negro de la mancha y formación de un halo amarillo ligero en el tejido de la hoja que rodea el borde acuoso de la mancha; 6) tercer estado de mancha: El centro de la mancha se seca, adquiere un color gris claro y además se torna hundido o comprimido. La mancha es rodeada por un borde estrecho bien definido, color pardo oscuro o negro. Entre este borde y el color verde normal de la hoja, hay frecuentemente una zona de transición amarillo brillante.

Agente causal. El agente causal de la sigatoka negra de bananos y plátanos (*Musa* spp.), presenta en su ciclo de vida, un estado perfecto que es la fase ascógena o sexual y un estado imperfecto que es la fase conídica o asexual (Fig. 4). El hongo *Mycosphaerella fijiensis*, es el estado perfecto y pertenece a la clase Ascomycetae; el hongo *Pseudocercospora fijiensis*, es el estado imperfecto y pertenece a la clase Hyphomycetae. **Estado sexual.** Se caracteriza por la formación de peritecios, espermagonios y ascosporas. El peritecio y espermagonio ocurren en proporciones variables durante los estados 2 y 3 de desarrollo de los síntomas. Los espermagonios son más abundantes en el envés de la hoja y frecuentemente se desarrollan en la cámara subestomática; constituyen la parte masculina y en estado maduro contienen espermátida en forma

de bastoncillos o varillas hialinas que actúan como gametos, que fertilizan a los peritecios que aparecen en los estados 5 y 6 de la enfermedad (Meredith y Lawrence, 1969). Los peritecios son estructuras anfigenas, globosas con un ostiolo esférico papilado, de paredes pardo oscuras y células poligonales, ligeramente hundidos en el tejido de la hoja. Se presentan más frecuentemente en el envés de las hojas y en su estado maduro contienen numerosas ascas bitunicadas que contienen ocho ascosporas cada una, como resultado del proceso sexual (Meredith y Lawrence, 1969). Las ascosporas son hialinas, fusiformes, biseriadas, septadas con una constricción leve al nivel del septo y clavadas en el asca con la parte más grande o prominente de la célula. El tamaño de las ascosporas es de 11.5 a 15.6 x 2.5 a 5.0 µm con un promedio de 13.7 x 3.7 µm (Meredith y Lawrence, 1969; Mülder y Stover, 1976); germinan en ambos lados de la superficie de las hojas y penetran al tejido del hospedero a través de los estomas. Las hojas infectadas densamente, liberan las ascosporas durante un período de dos a cuatro semanas más que cuando las hojas se cortan (saneamiento) y se colocan en el suelo (Marín *et al.*, 2003; Orozco-Santos, 1998; Stover, 1980). Las ascosporas son la fuente principal de inóculo de la enfermedad (Stover, 1980), puesto que son diseminadas por el viento y depositadas principalmente en la hoja "cigarro" y en las cuatro hojas más jóvenes de la planta (Mülder y Holliday, 1974; Mülder y Stover, 1976). En relación a las características de las colonias (Fig. 5) provenientes de

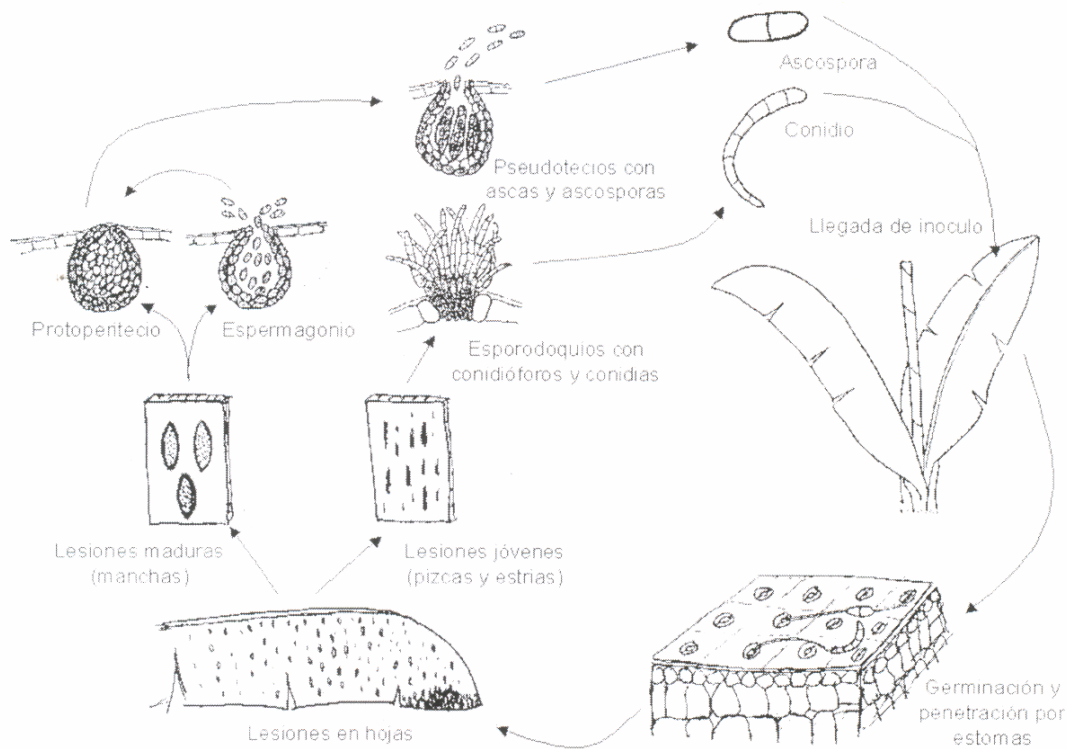


Fig. 4. Ciclo de vida del hongo *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la sigatoka negra de bananos y plátanos (*Musa* sp.).

ascosporas cultivadas *in vitro* en medio papa-dextrosa-agar (PDA), se ha observado que después de 14 días de crecimiento a una temperatura de 26°C y con un fotoperíodo de 12 h, presentan un color gris-oscuro a blanco rosado, de forma esférica o con zonas irregulares y una consistencia algodonosa o compacta, dependiendo si las ascosporas proceden de huertos con manejo rústico, semintensivo o intensivo (Manzo-Sánchez *et al.*, 2001).

Estado asexual. La morfología del estado asexual de *M. fijiensis*, conocida como *Pseudocercospora fijiensis*, es reconocida porque los conidios son hialinos, obclavados a cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, 6 a 9 septos, delgados en el ápice (30 a 132 µm de longitud) y más anchos en la base (2.5 a 5 µm) con una cicatriz en el hilum basal del conidio (punto de unión entre el conidio y el conidióforo) (Meredith y Lawrence, 1969). Los conidióforos pueden emerger directamente por el estoma de manera individual o en grupos, o bien pueden formarse a partir de células del estroma de color oscuro y son fácilmente vistos en el estado 2 de la enfermedad (Mülder y Stover, 1976). Los conidióforos, resultado de la reproducción asexual, son septados de 0 a 5 compartimentos y 16.5 a 62.5 mm de longitud por 4 a 7 mm de ancho. De un solo conidióforo pueden formarse cuatro conidios maduros (Meredith y Lawrence, 1969).

Interacción *Mycosphaerella fijiensis*-*Musa* spp. La clasificación de los genotipos de *Musa* spp. con relación a su resistencia a la enfermedad ha sido el resultado de la caracterización de las interacciones planta-patógeno. Esta interacción inicia cuando las ascosporas o conidios de *M. fijiensis* llegan e inician la penetración a los espacios intercelulares del parénquima de la hoja, a través de los estomas (Beveraggi *et al.*, 1995). De acuerdo al resultado de esta interacción, los cultivares se han clasificado en tres categorías: los altamente resistentes que bloquean tempranamente la infección (interacciones incompatibles), los parcialmente resistentes que desarrollan los síntomas lentamente (interacciones compatibles), y los susceptibles que desarrollan los síntomas rápidamente (interacciones compatibles) (Lepoivre *et al.*, 2002; Ortiz y Vuylsteke, 1994). La resistencia de algunas especies de *Musa* a *M. fijiensis* parece ser relacionada más a la postinfección, es decir, la planta activa un mecanismo de defensa, manifestado por la producción de proteínas relacionadas a la patogénesis (Lepoivre *et al.*, 1993) y algunas fitoalexinas (Quinones *et al.*, 2000), así como cambios en la estructura de sustancias preformadas (Hoss *et al.*, 2000). El conocimiento de la información genética sobre la herencia natural de la resistencia de musáceas a *M. fijiensis*, es importante para poder

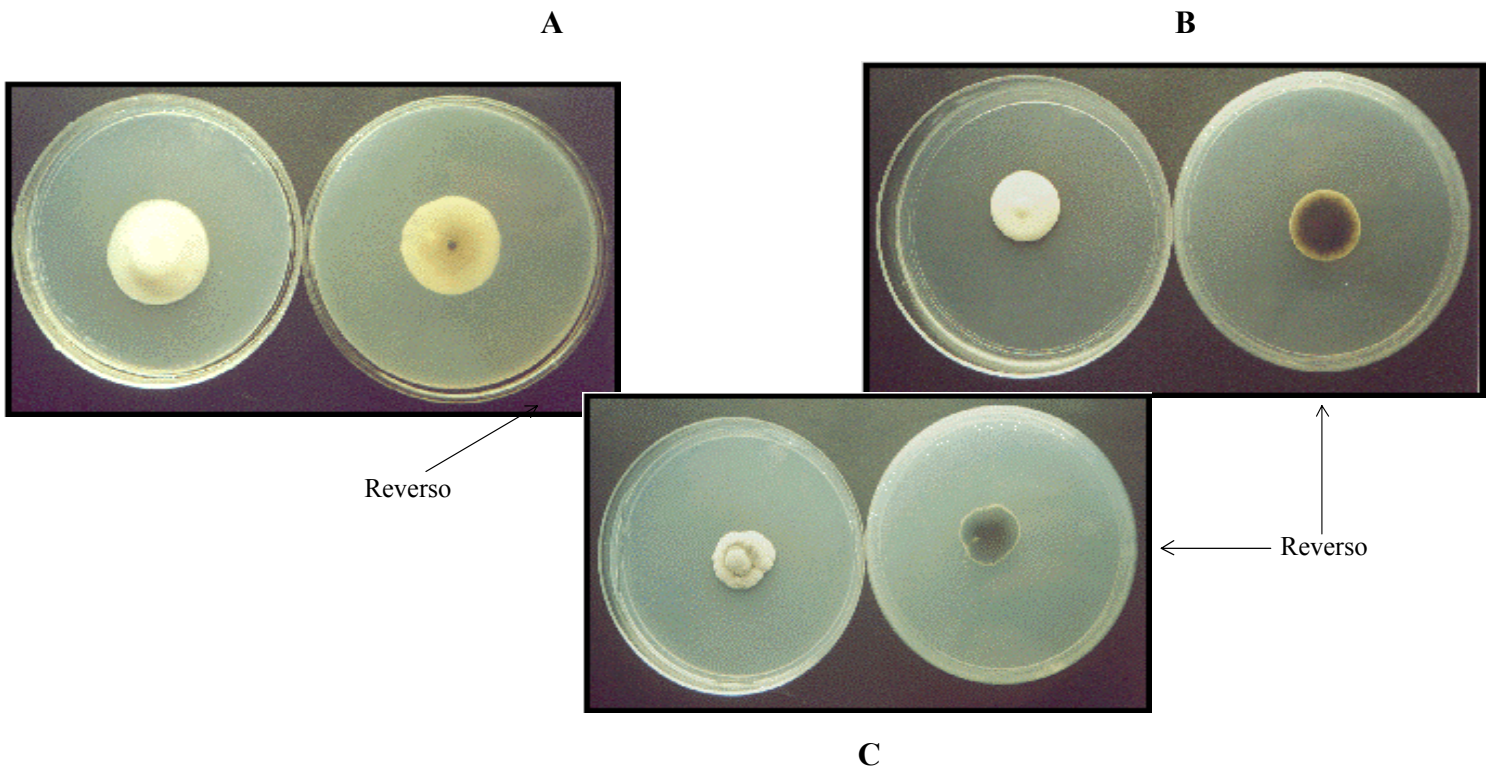


Fig. 5. Características morfológicas de colonias de *Mycosphaerella fijiensis* de tres lugares de la región del estado de Colima. A. Micelio aéreo blanco con apariencia algodonosa, redonda y mayor crecimiento; al reverso de la caja muestra color blanco, con un pequeño punto negro en el centro de la colonia. B. Micelio aéreo blanco, con apariencia algodonosa y crecimiento lento; al reverso de la caja muestra un color negro con los bordes blancos. C. Micelio compacto, gris rosado, sin apariencia algodonosa y de forma irregular (no circular); al reverso de la caja muestra un color negro con los bordes blancos.

desarrollar estrategias de mejora genética de la planta, orientadas hacia la resistencia de la enfermedad (Ortiz y Vuylsteke, 1994). En la década de los noventa se obtuvieron híbridos euploides (tetraploides, triploides y diploides) que mostraron tres niveles de respuesta a sigatoka negra; susceptibles (< 8 hojas sanas), poco susceptibles (8-10 hojas sanas) y moderadamente resistente (> 10 hojas sanas) (Ortiz y Vuylsteke, 1994). Posteriormente se obtuvieron los híbridos FHIA 1 (AAAA), FHIA 2 (AAAB), los cuales mostraron resistencia a aislamientos procedentes de distintas localidades de América Latina a tres temperaturas (22, 26 y 30°C), mientras que cultivares susceptibles enano gigante (AAA) y falso cuerno (ABB) fueron afectados por todos los aislamientos bajo las tres temperaturas, presentándose un mayor daño a 26°C (Romero y Sutton, 1997a), temperatura reportada como óptima para el desarrollo de la enfermedad en genotipos susceptibles (Jacome y Schuh, 1992). Se menciona que la resistencia parcial a la enfermedad depende de por lo menos tres genes diferentes, un gen recesivo principal *bs1* y dos alelos aditivos independientes *bsr1* (Ortiz y Vuylsteke, 1994). Por otra parte, se ha demostrado que *M. fijiensis* tiene gran variabilidad patogénica, ya que algunos aislamientos obtenidos de diferentes hospederos procedentes de varios países, fueron virulentos en ciertos hospederos y en otros no fueron virulentos como en Calcutta IV y T8, mientras que en algunos hospederos todos los aislamientos fueron virulentos. También, se observó que los aislamientos procedentes de Papua, Nueva Guinea y de las Islas del Pacífico mostraron un amplio rango de variabilidad patogénica en los cultivares Calcutta, Paka y Pisang Lilin que son comúnmente usados como fuente de resistencia en los programas de mejoramiento genético (Fullerton y Olsen, 1995). Las lesiones necróticas y cloróticas ocasionadas por *M. fijiensis* en el hospedero, tal como se observó en el cultivar Yangambi km 5 (Mouliom-Perfoura, 1999), sugiere la participación de una o varias fitotoxinas. Esto es fortalecido por los resultados del estudio sobre la actividad fitotóxica de extractos crudos de *M. fijiensis* sobre hojas de 7 cultivares con diferente nivel de resistencia, observándose que el cultivar enano gigante que es altamente susceptible, presentó la mayor sensibilidad a dichos extractos (Molina y Krausz, 1989), muy similar al daño que se observa en campo. La primera fitotoxina aislada de *M. fijiensis* conocida como fijiensina, es un compuesto aromático que sólo provoca lesiones necróticas en cultivares de banana, indicando con esto su especificidad (Upadhyay *et al.*, 1990). Posteriormente, otros compuestos fueron aislados del extracto del hongo, siendo el más abundante y fitotóxico el 2,4,8-trihidroxitetralona, el cual induce lesiones necróticas a 5 µg/5 ml en menos de 12 h. Otros de los compuestos encontrados en menor cantidad fueron la juglona, el ácido 2-carboxi-3-hidroxicinámico, el ácido isoochracínico, la hidroxiscitalona y algunas melaninas (Stierle *et al.*, 1991). Recientemente se estudiaron las interacciones entre los cultivares de *Musa*: Dominico Hartón, Cachaco y Yangambi km 5, y los metabolitos secundarios

del patógeno: flaviolona, 2-hidroxijuglona, juglona y 2,4,8-trihidroxitetralona. Se detectó que en el cultivar Yangambi km 5 se induce una elevada cantidad de amonialiasa de fenilalanina, que se caracteriza por desaminar la fenilalanina a ácido trans-cinámico, el cual es convertido rápidamente en lignina que se acumula junto con otras sustancias en la pared celular y posiblemente bloquean el crecimiento del hongo (Hoss *et al.*, 2000). Esto muestra que la planta induce mecanismos de defensa como una reacción de hipersensibilidad después del ataque del hongo, por lo que las fitotoxinas de *M. fijiensis* podrían servir como un determinante secundario de patogenicidad en cultivares altamente resistentes a la enfermedad, y en consecuencia, los prospectos para el escrutinio de cultivares de banano resistentes a sigatoka negra son prometedores (Harelimana *et al.*, 1997).

Estrategias de control. La sigatoka negra es controlada principalmente con la aplicación de fungicidas, ya que es la medida más viable y efectiva para reducir los daños de la enfermedad, aunque esta medida también es apoyada con algunas prácticas de cultivo como el deshoje, deshije, densidad de la plantación, drenaje, control de malezas y fertilización (Orozco-Santos, 1998). El control químico del hongo, además de aumentar el grado de contaminación ambiental y el deterioro de la salud humana (Stover, 1980; Henriques *et al.*, 1997), desde hace varios años se ha detectado pérdida de sensibilidad del hongo a fungicidas sistémicos del grupo de benzimidazoles como carbendazim y benomyl (Fullerton y Tracey, 1984), incluso se ha demostrado que la resistencia a benomyl persiste aún después de que cesan las aplicaciones por períodos de 3 a 5 años. También, se reporta que el hongo pierde la sensibilidad al fungicida sistémico propiconazol (triazol) cuando se aplica junto con benomyl (Romero y Sutton, 1998). Lo anterior indica que la resistencia del hongo a algunos fungicidas está ligada a su constitución genética, ya que se ha reportado que la resistencia al grupo químico de las estrobilurinas depende de la secuencia de nucleótidos del gen del citocromo b, correspondiente al aminoácido alanina en la posición 143 (Sierotzki *et al.*, 2000). Se ha observado que la alta virulencia de los aislamientos está correlacionada con la aplicación frecuente de fungicidas, de tal manera que aislamientos resistentes a benomyl, propiconazol y trifloxistrobin fueron más agresivos en plantas de banano inoculadas bajo condiciones de invernadero, que los aislamientos sensibles a estos fungicidas (Romero y Sutton 1997b; 1998; Chin *et al.*, 2001). En resumen, la resistencia del patógeno a algunos fungicidas y el incremento en su virulencia, ha tenido como consecuencia que su control sea más complejo y costoso al incrementar el número de aplicaciones (Romero y Sutton, 1998); por esta razón, recientemente se ha utilizado como alternativa el sistema de preaviso biológico, que consiste en la detección oportuna de los síntomas en tres de las hojas más jóvenes de la planta, y detener el desarrollo de la enfermedad con el uso de fungicidas sistémicos y de contacto que tienen efecto curativo sobre los

estadios tempranos del proceso de patogénesis del hongo, de tal manera que el número de aplicaciones se reduce al 31% (Pérez-Vicente *et al.*, 2000). Otra alternativa es el uso de agentes de control biológico como el hongo *Trichoderma* spp., cuyo efecto se ha evaluado sobre el desarrollo de *M. fijiensis* en laboratorio y campo (Rebolledo-Domínguez, comunicación personal), así como también bacterias del género *Serratia* y *Bacillus* (Gonzalez *et al.*, 1996). Sin embargo, los resultados no han sido satisfactorios debido a que no tiene un efecto similar de control como el de los fungicidas, pero tienen potencial para ser usados en las regiones donde existen poblaciones de *M. fijiensis* resistentes a fungicidas. En la actualidad existen varios híbridos que se han desarrollado en algunos centros de investigación, como son los obtenidos por la Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA), el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) en Nigeria, y el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD-FLHOR) en Francia. Estos materiales presentan cierta tolerancia a sigatoka negra, sin embargo, el fruto es poco aceptado por el consumidor y por tanto afecta negativamente la demanda. Además, esta forma de mejoramiento tradicional requiere de mucho tiempo, de espacio y de una intensa labor de manejo (Vuylsteke *et al.*, 1997). Por ello, recientemente con la ayuda de disciplinas de la biotecnología moderna como la ingeniería genética se ha logrado transformar genéticamente plantas de banano a través del bombardeo de micropartículas (Sagí *et al.*, 1995), por *Agrobacterium* (May *et al.*, 1995), lo que permitirá en un futuro obtener plantas de banano y plátano resistentes a la enfermedad mediante la transferencia de genes de resistencia a variedades de interés comercial.

Genómica. Recientemente, las técnicas moleculares han sido una herramienta indispensable en el estudio del genoma de *Mycosphaerella* spp. porque se han usado desde el diagnóstico de la presencia de *M. fijiensis* y *M. musicola* J.L. Mulder y Stover en hojas infectadas de plátano, utilizando como técnica la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que amplifica la región del espacio interno transcrito (ITS) del ADN ribosomal (ADNr) (Johanson y Jeger, 1993), hasta la determinación del polimorfismo del ADN basadas en la digestión e hibridación de ADN (polimorfismos de la longitud de fragmentos de restricción: RFLP) y la amplificación del ADN con iniciadores al azar (RAPD) o iniciadores específicos como los polimorfismos de la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) y microsatélites, entre otros. En relación con el polimorfismo genético, mediante los RFLP, se determinó la gran diversidad genética que existe entre las poblaciones de *M. fijiensis*, *M. fijiensis* var. *diffformis* J.L. Mulder y Stover y *Mycosphaerella musicola* de diferentes regiones geográficas (Sudeste Asiático, incluyendo Filipinas y Papua Nueva Guinea, Islas del Pacífico, África y América Latina). Los niveles más altos de diversidad genética se hallaron en las dos poblaciones del Sudeste Asiático (Carlier *et al.*, 1994), lo que concuerda con la hipótesis de que esta

región es el centro de origen de *M. fijiensis* (Stover, 1978; Mourichon y Fullerton, 1990). Otros de los resultados sobresalientes fueron que *M. fijiensis* y *M. fijiensis* var. *diffformis* no reflejaron una variación genética, por lo que se descarta que *M. fijiensis* var. *diffformis*, sea una variedad como fue propuesto por Mulder y Stover, (1976). En otro estudio, se identificó un desequilibrio gamético en las poblaciones analizadas, indicando que existe una reproducción sexual al azar, así como un alto nivel de diversidad alélica de H: 0.25-0.59; también se determinó que la migración natural de *M. fijiensis* entre continentes es poco probable (Carlier *et al.*, 1996). De igual manera, el uso de marcadores genéticos de microsatélites específicos para locus de poblaciones de *M. fijiensis* procedentes de México y Nigeria, permitieron concluir que la diversidad alélica dentro de cada región fue comparativamente baja, que todos los loci fueron polimórficos entre las dos poblaciones, que solamente un alelo en un locus fue común entre ambas regiones, que los polimorfismos entre los aislados de Nigeria y México tienen diferentes haplotipos y que la migración entre estos continentes es poco probable (Neu *et al.*, 1999). En otro estudio realizado por Müller *et al.* (1997), se determinó la diversidad genética a escalas macro y microgeográficas, entre una lesión, entre lesiones de una planta, entre plantas, entre diferentes cultivares y entre distintas localidades geográficas, demostrando que el estado sexual del hongo heterotálico representa una fuente importante para provocar un alto nivel de variación genética (Mourichon y Zapater, 1990). También, los marcadores genéticos se han utilizado para determinar la relación filogenética entre *M. fijiensis*, *M. musicola*, *M. musae* (Speg.) Syd. y P. Syd., *Phaeoseptoria musae* Punith. y *Mycosphaerella eumusae* Crous y Mourichon presentes en las hojas de bananos y plátano, mediante el análisis de las secuencias de los ITS, de tal manera, que se ha confirmado que *M. eumusae* está más cercano a *M. fijiensis*, por lo que, se considera potencialmente un fitopatógeno de importancia (Carlier *et al.*, 2000). Por otra parte, con la finalidad de entender la interacción patógeno-hospedero, se ha desarrollado un sistema de transformación genética para *M. fijiensis*, *M. musicola* y *M. eumusae*, incorporando el gen de la proteína verde fluorescente (GPF), con el propósito de estudiar el desplazamiento de los hongos dentro del hospedero (Balint-Kurti *et al.*, 2001). Asimismo, se ha sugerido recientemente, que *M. fijiensis* puede considerarse como modelo de estudio genético en la interacción planta-patógeno, porque es un organismo que cumple con las características que señala Martín *et al.* (2002): 1) que su estrategia de infección esté relacionada evolutivamente con la de otros patógenos, 2) que su tamaño de genoma sea relativamente pequeño, 3) que sea de interés económico, y 4) que sea relativamente bien estudiado y que se puedan realizar experimentos moleculares y de genética clásica. Por ello, actualmente, en el Laboratorio de Biotecnología Molecular del CICY se están realizando estudios para determinar el tamaño y el número de cromosomas de sigatoka negra y está

en proceso la construcción de una biblioteca de tipo cromosoma artificial bacteriano (BAC), así como también la obtención de un mapa genético y físico del hongo y la identificación molecular de genes expresados en la interacción *Musa* spp.-*M. fijiensis* (Andrew James comunicación personal). Aunado a esto, las herramientas comparativas de genómica funcional y proteómica podrían ser usadas para tener un mejor entendimiento del genoma del patógeno.

CONCLUSIONES

Los estudios, en el ámbito molecular que se han realizado hasta la fecha en *M. fijiensis* son pocos. Existen muchos aspectos biológicos y genéticos de *M. fijiensis* como es la interacción molecular entre *Musa* spp.-*M. fijiensis* que podrían ser entendidos utilizando nuevas herramientas moleculares y así lograr en un futuro un mejor control de la enfermedad. El estudio de la patogenicidad y de la composición de la estructura genética de las poblaciones de *M. fijiensis* permitirán en un futuro entender los mecanismos por los cuales ocurre la interacción planta-patógeno, los cambios que puedan surgir en determinado período y las posibles causas de la variación genética, así como también su comportamiento con su hospedero. La aplicación constante de fungicidas provoca la aparición de poblaciones resistentes a ciertos grupos químicos y daños al ambiente y a la salud humana, por lo que surge la necesidad de implementar nuevas estrategias de control. El uso de agentes de control biológico que permitan un control de sigatoka negra, podría ser parte de programas de manejo integrado de la enfermedad. Los híbridos podrían reunir requerimientos locales de los pequeños productores y lograr producir a un bajo costo reemplazando cultivares susceptibles a la enfermedad. En la actualidad, se están desarrollando herramientas moleculares que permiten entender varios aspectos biológicos y genéticos de hongos fitopatógenos para lograr un mejor control de la enfermedad.

LITERATURA CITADA

- Balint-Kurti, P.J., May, G.D., and Churchill, A.C.L. 2001. Development of a transformation system for *Mycosphaerella* pathogens of banana: a tool for the study of host/pathogen interactions. *FEMS Microbiology Letters* 195:9-15.
- Beveraggi, A., Mourichon, X., et Sallé, G. 1995. Étude comparée des premières étapes de l'infection chez des bananiers sensibles et résistants infectés par *Cercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis*) agent responsable de la maladie des raies noires. *Canadian Journal of Botany* 73:1328-1337.
- Carlier, J., Fouré, E., Gauhl, F., Jones, D.R., Lepoivre, P., Mourichon, X., Pasberg-Gauhl, C., and Romero, R.A. 2000. Fungal diseases of the foliage. pp. 37-79 In: D.R. Jones (ed.). *Disease of Banana*, Abacá and Enset. CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 544 p.
- Carlier, J., Lebrun, M.H., Zapater, M., Dubois, C., and Mourichon, X. 1996. Genetic structure of the global population of banana black leaf streak fungus, *Mycosphaerella fijiensis*. *Molecular Ecology* 5:499-510.
- Carlier, J., Mourichon, X., Gonzalez-de León, D., Zapater, M., and Lebrun, M.H. 1994. DNA restriction fragment length polymorphisms in *Mycosphaerella* species that cause banana leaf spot diseases. *Phytopathology* 84:751-756.
- Chin, K.M., Wirz, M., and Laird, D. 2001. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* from banana to trifloxystrobin. *Plant Disease* 85:1264-1270.
- Clay, K., and Kover, P. 1996. Evolution and stasis in plant pathogen associations. *Ecology* 77:997-1003.
- Craenen, K., 1998. Black sigatoka disease of banana and plantain. A Reference Manual. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadan, Nigeria. 58 p.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2001. Production and Trade Yearbook for 2000. Vol. 15. FAO, Rome. 145 p.
- 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.
- Fullerton, R.A., and Olsen, T.L. 1995. Pathogenic variability in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, cause of black sigatoka in banana and plantain. *New Zealand Journal of Crop and Horticulture Science* 23:39-48.
- Fullerton, R.A., and Tracey, G.M. 1984. Tolerance of *Mycosphaerella fijiensis* to benomyl and carbendazim in the pacific islands. *Tropical Agriculture* 61:133-136.
- Gonzalez, R., Bustamente, E., Shannon, P., Okumoto, S., y Leandro, G. 1996. Evaluación de microorganismos quitinolíticos en el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. *Manejo Integrado de Plagas* 40:12-16.
- Harelimana, G., Lepoivre, P., Jijakli, H., and Mourichon, X. 1997. Use of *Mycosphaerella fijiensis* toxins for the selection of banana cultivars resistant to Black Leaf Streak. *Euphytica* 96:125-128.
- Henriques, W., Jeffers, R.D., Leacher, T.E. Jr., and Kendall, R.J. 1997. Agrochemical use on banana plantations in Latin America: perspectives on ecological risk. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:91-99.
- Hoss, R., Helbig, J., and Bochow, H. 2000. Function of host and fungal metabolites in resistance response of banana and plantain in the black sigatoka disease pathosystem (*Musa* spp.-*Mycosphaerella fijiensis*). *Journal of Phytopathology* 148:387-394.
- Jacome, L.H., and Schuh, W. 1992. Effects of leaf wetness duration and temperature on development of black sigatoka disease on banana infected by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Phytopathology* 82:515-520.
- Johanson, A., and Jeger, M.J. 1993. Use of PCR for detection of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*, the causal agents of sigatoka leaf spots in banana and plantain.

- Mycological Research 97:670-674.
- Lepoivre, P., Acuna, P., and Riveros, A.S. 1993. Screening procedure for improving resistance to banana black leaf streak disease. pp. 213-220. In: J. Ganry (ed.). Breeding Bananas for Resistance to Disease and Pests. CIRAD/INIBAP, Montpellier, France. 393 p.
- Lepoivre, P., Busogoro, J.P., El Hadrami, A., Carlier, J., Harelimana, G., Mourichon, X., Panis, B., Stella Riveros, A., Roux, N., Sallé, G., Strosse, H., and Swenen, R. 2002. Banana-*Mycosphaerella fijiensis* (black leaf streak disease) interactions. In: Proceedings of the 2nd International Workshop on *Mycosphaerella fijiensis* leaf spot diseases of bananas. INIBAP. CORBANA. CATIE, San José, Costa Rica, 20-23 May, 2002. 317 p.
- Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., y Guzmán-González, S. 2001. Caracterización morfológica de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet de la región Pacífico-centro de México y su desarrollo en medios líquidos. Revista Mexicana de Fitopatología 19:66-71.
- Marín, D.H., Romero, R.A., Guzmán, M., and Sutton, T.B. 2003. Black sigatoka: An increasing threat to banana cultivation. Plant Disease 87:208-222.
- Martin, S.L., Blackmon, B.P., Rajagopalan, R., Houfek, T.D., Sceeles, R.G., Denn, S.O., Mitchell, T.K., Brown, D.E., Wing, R.A., and Dean, R.A. 2002. MaganaportheDB: a federal solution for integrating physical and genetic map data with BAC end derived sequence for the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. Nucleic Acids Research 30:121-124.
- May, G.D., Afza, R., Mason, H.S., Wiecko, A., Novak, F.J., and Arntzen, Ch.J. 1995. Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via *Agrobacterium*-mediated transformation. Bio/Technology 13:486-492.
- Meredith, D.S., and Lawrence, J.S. 1969. Black leaf streak disease (*Mycosphaerella fijiensis*): symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. Transactions of the British Mycological Society 52:459-476.
- Molina, G.C., and Krausz, J.P. 1989. A phytotoxic activity in extracts of broth culture of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet var. *difformis* and its use to evaluate host resistance to black sigatoka. Plant Disease 73:142-143.
- Mouliom-Perfoura, A. 1999. First observation of the breakdown of high resistant in Yangambi km 5 (*Musa* sp.) to the black leaf streak disease in Cameroon. Plant Disease 83:78.
- Mourichon, X., and Fullerton, R.A. 1990. Geographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *M. fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agents of sigatoka disease and black leaf streak disease in bananas and plantains. Fruits 45:213-218.
- Mourichon, X., and Zapater, M.F. 1990. Obtention *in vitro* du stade *Mycosphaerella fijiensis*, forme parfaite de *Cercospora fijiensis*. Fruits 45:553-557
- Mülder, J.L., and Holliday, M. 1974. *Mycosphaerella fijiensis*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacterial No. 413. Kew, Surrey, UK.
- Mülder, J.L., and Stover, R.H. 1976. *Mycosphaerella* species causing banana leaf spot. Transactions of the British Mycological Society 67:77-82.
- Müller, R., Pasberg-Gauhl, C., Gauhl, F., Ramser, J., and Kahl, G. 1997. Oligonucleotide fingerprinting detects genetic variability at different levels in Nigerian *Mycosphaerella fijiensis*. Journal of Phytopathology 145:25-30.
- Neu, C., Kaemmer, D., Kahl, G., Fisches, D., and Weising, K. 1999. Polymorphic microsatellite markers for the banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. Molecular Ecology 8:513-525.
- Orozco-Santos, M. 1998. Manejo Integrado de la Sigatoka Negra del Plátano. SAGAR, INIFAP, CIPAC. Campo Experimental Tecomán. Folleto Técnico No. 1. División Agrícola. Tecomán, Colima, México. 95 p.
- Orozco-Santos, M., Fariás-Larios, J., Manzo-Sánchez, G., and Guzmán-González, S. 2000. Black sigatoka in Mexico. InfoMusa 10:33-37.
- Ortiz, R., and Vuylsteke, D. 1994. Inheritance of black sigatoka disease resistance in plantain-banana (*Musa* spp.) hybrids. Theoretical and Applied Genetic 89:146-152.
- Pérez-Vicente, L., Mauri-Mollera, F., Hernández-Mancilla, A., Abreu-Antúnez, E., y Porrás-González, A. 2000. Epidemiología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en Cuba. I. Pronóstico bioclimático de los tratamientos de fungicidas en bananos (*Musa acuminata* AAA). Revista Mexicana de Fitopatología 18:15-26.
- Quinones, W., Escobar, G., Echeverri, F., Torres, F., Rosero, Y., Arango, V., Cordana, G., and Gallego, A. 2000. Synthesis and antifungal activity of *Musa* phytoalexins and structural analogs. Molecules 5:978-980.
- Rhodes, P.L. 1964. A new disease in Fiji. Commonwealth Phytopathological News 10:38-41.
- Romero, R.R., and Sutton, T.B. 1997a. Reaction of four genotypes at three temperatures to isolates of *Mycosphaerella fijiensis* from different geographical regions. Plant Disease 81:1139-1142.
- Romero, R.R., and Sutton, T.B. 1997b. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black sigatoka of bananas, to propiconazole. Phytopathology 87:96-100.
- Romero, R.R., and Sutton, T.B. 1998. Characterization of benomyl resistance in *Mycosphaerella fijiensis*, cause of black sigatoka of banana, in Costa Rica. Plant Disease 82:931-934.
- Sági, L., Panis, B., Remy, S., Schoofs, H., De Smet, K., Swennen, R., and Cammue, B. 1995. Genetic transformation of banana and plantain (*Musa* spp.) via particle bombardment. Bio/Technology 13:481-485.
- Sierotzki, H., Parisi, S., Steinfeld, U., Tenzer, I., Poirey, S., and Gisi, U. 2000. Mode of resistance to respiration inhibitors at the bc1 enzyme complex of *Mycosphaerella*

- fijiensis* field isolates. Pest Management Science 56:833-841.
- Simmonds, N.W., and Shepherd, K. 1955. Taxonomy and origins of cultivated bananas. Journal of the Linnean Society of London Botany 55:302-312.
- Stierle, A., Upadhyay, R., Hershenhorn, J., Strobel, G.A., and Molina, G. 1991. The phytotoxins of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black sigatoka disease of bananas and plantains. *Experientia* 47:853-858.
- Stover, R.H. 1978. Distribution and probable origin of *Mycosphaerella fijiensis* in southeast Asia. Tropical Agriculture (Trinidad) 55:65-68.
- Stover, R.H. 1980. Sigatoka leaf spot of bananas and plantains. Plant Disease 64: 750-756.
- Stover, R.H., and Simmonds, N.W. 1987. Bananas (Third edition), Longman Scientific and Technical. New York, USA. 468 p.
- Upadhyay, R.K., Strobel, G.A., Coval, S.J., and Clardy, J. 1990. Fijiensin, the first phytotoxin from *Mycosphaerella fijiensis*, the causative agent of Black Sigatoka disease. *Experientia* 47:982.
- Vuylsteke, D., Ortiz, R., Ferris, R.S.B., and Crouch, J.H. 1997. Plantain improvement. *Plant Breeding Reviews* 14:267-320.