

MONITOREO DE LA RESISTENCIA DE *Mycosphaerella fijiensis* A BENOMIL, EN PLANTACIONES DE PLÁTANO HARTÓN UBICADAS AL SUR DEL LAGO DE MARACAIBO, VENEZUELA

Chrystian Carrero, Luis Cedeño y Kleyra Quintero
 Universidad de Los Andes, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Mérida-Venezuela.
 E-mail: cfcarrer@forest.ula.ve

RESUMEN

En Venezuela el 75 % de la producción nacional de plátano (*Musa* AAB var. Hartón) lo aporta la zona situada al Sur del Lago de Maracaibo. El principal factor limitante del cultivo es la enfermedad de Sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* (anamorfo *Paracercospora fijiensis*), cuya presencia en el país fue anunciada en Noviembre de 1991. Actualmente la enfermedad está presente en 15 estados productores de banana y/o plátano. La medida más comúnmente utilizada para controlar la Sigatoka negra es la aplicación de fungicidas protectivos y sistémicos, incluyendo entre estos últimos a benomil. Razas de *M. fijiensis* resistentes a benomil han sido detectadas en plantaciones de banana de Centroamérica y, debido a ello, el uso de éste producto fue suspendido por varios años. El objetivo del estudio que se reporta fue detectar resistencia a benomil en ascosporas de *M. fijiensis* descargadas de hojas de plátano Hartón colectadas en diferentes sitios ubicados al Sur del Lago de Maracaibo. La evaluación se hizo en función del tipo de germinación (normal, suprimida o deforme) de los tubos germinativos producidos por ascosporas creciendo en medio agua-agar 2% enmendado con benomil (0, 1, 5, y 10 ppm). Los datos obtenidos no permiten declarar que *M. fijiensis* ha desarrollado resistencia a Benomil; sin embargo, los porcentajes de germinación normal registrados, conllevan a inferir que el hongo pareciera encontrarse en fase de adaptación a la sustancia, siendo posible que bajo condiciones favorables éste pueda volverse resistente al producto. Se sugiere suspender el uso de benomil en dos de las fincas muestreadas.

Palabras claves: Benomil, *Mycosphaerella fijiensis*, plátano, resistencia.

ABSTRACT

About 75 % of the national plantain (*Musa* AAB var. Harton) production in Venezuela, is provide by the area located at South of Maracaibo Lake. The main limiting factor of the crop yield is black sigatoka disease, caused by *Mycosphaerella fijiensis* (anamorph *Paracercospora fijiensis*), whose presence in this country was notified in november 1991. Right now the disease has been detected in 15 banana and/or plantain producing states. The commonest method used to control black sigatoka consists in aerial fumigation with protective and systemic fungicides, including among the latter the benomyl. Races of *M. fijiensis* resistant to benomyl have been reported In banana fields of Central America and for that reason the use of this fungicide was suspended for several years. The objective of this study was to identify resistance to benomyl in *M. fijiensis* ascospores discharged from leaves sampled in different sites located at the South of Maracaibo Lake. The resistance evaluation was based on type of germinative tube (normal, restricted or distorted) developed on 2 % water agar amended with differents concentrations of benomyl (0,1,5 or 10 ppm). The registered dates did not permit to declare resistance in *M. fijiensis*, but the percents of normal germination showed by ascospores discharged by materials collected in some farms indicated that the fungus is becoming adapted to the substance, being possible that under favorable conditions it can develop resistant races. Suspend the application of benomyl in two farms is suggested.

Key words: Benomyl, *Mycosphaerella fijiensis*, plantain, resistance.

INTRODUCCIÓN

El fruto de plátano (*Musa* AAB) es un componente importante en la dieta diaria del venezolano. Por el alto valor energético y la elevada demanda nacional e internacional, representa uno de los productos con mejores perspectivas de exportación.

Venezuela es de los pocos países donde el plátano se siembra como monocultivo, concentrándose la mayor superficie sembrada, aproximadamente 57.000 has, en la región situada al sur del Lago de Maracaibo, la cual constituye la zona platanera

por excelencia y donde se cosecha más del 75 % de la producción nacional.

Entre los factores que limitan la producción de este rubro se encuentran las enfermedades, especialmente la sigatoka negra causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, estado teleomórfico de *Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton (Stover, 1972; Stover, 1980), la cual afecta significativamente las principales zonas plataneras y bananeras del país y Centroamérica. Su presencia en Venezuela fue anunciada en 1991 y, aparentemente, penetró desde Colombia por el sector Río de Oro, Municipio Catatumbo, estado Zulia.

La sigatoka negra es considerada la enfermedad más importante del cultivo, debido a la capacidad que tiene de destruir las hojas, las cuales deben encontrarse en número y estado sanitario adecuados para poder elaborar los fotoasimilados necesarios para el desarrollo de frutos con calidad comercialmente aceptable. En Centroamérica la disminución de los rendimientos por efectos de la sigatoka negra, ha sido estimada entre 20 % (Gauhl *et al.*, 1993) y 50 % (Stover, 1980)

La enfermedad ha sido tradicionalmente controlada con productos químicos, siendo uno de los más usados el fungicida sistémico Benomil (Benlate®), el cual usualmente se aplica en soluciones con aceite y mediante aspersiones aéreas (Stover, 1977a). En el área al sur del Lago de Maracaibo, el Benomil es utilizado frecuentemente en un gran número de fincas, a intervalos de 30 y 45 días y en ocasiones alternado o mezclado con otros productos. Según Chuang (1981), en Taiwan los racimos de bananos tratados con fungicidas pesan entre 18,4 % y 31,7 % más que los no tratados.

Por lo general los fungicidas sistémicos inhiben el desarrollo de las estructuras reproductivas de los hongos que se establecen en la superficie abaxial (envés) de la hoja, entre los cuales se incluye a *M. fijiensis*. Benomil pertenece al subgrupo de fungicidas que actúan como inhibidores de la división celular (McGrath, 1996); sin embargo, en el país no se han realizado estudios destinados a determinar los cambios morfológicos ni la tolerancia que pudiera haberse desarrollado por el uso continuo de esta sustancia. Aunque en el campo no es evidente la disminución de los niveles de control de la sigatoka negra por efectos de la aparición de cepas resistentes a Benomil, en estudios realizados *in vitro* con cepas provenientes de bananeras y plataneras de

Centroamérica y África (Stover, 1977b; Jiménez y Rodríguez, 1985), se detectó resistencia al producto en referencia. La evaluación de resistencia es importante para la elaboración de sistemas de preaviso, que permitan alertar a los productores sobre la necesidad de suspender o no la aplicación de los productos utilizados.

El objetivo fundamental del estudio fue identificar áreas donde el uso sostenido de Benomil hubiera podido inducir el desarrollo de resistencia en cepas de *M. fijiensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de Estudio: El área de estudio estuvo enmarcada entre los 8° 45' y 9° 03' L.N. y los 71° 35' y 71° 50' L.W., representando un área al sur del Lago de Maracaibo donde se ubican las localidades de Los Naranjos, Cuatro Esquinas, El Chivo, Caño Muerto, El Moralito, El Abanico y Puerto Chama.

Origen del Material: El material objeto de estudio fueron las ascosporas de *M. fijiensis* descargadas por pseudotecios desarrollados en hojas de plátano Hartón. En cada finca se seleccionaron aleatoriamente 5 plantas próximas a florecer o con floración reciente, a partir de las cuales se tomaron fragmentos de las hojas que presentaban manchas marrón grisáceas. Todos los fragmentos fueron colocados en una misma bolsa de papel para conformar una muestra única. Las áreas evaluadas fueron fincas comerciales, en las cuales se aplican productos químicos, particularmente Benomil, para el control de la Sigatoka negra.

Método de Descarga de Ascosporas: Con lupa se seleccionaron las manchas que tenían mayor cantidad de pseudotecios, procediendo a cortar discos de 1,5 cm de diámetro con un sacabocado. Los discos fueron engrapados, en número de cuatro, en hojas de papel bond de desecho, las cuales fueron incubadas por 24 horas en condiciones de cámara húmeda. Con el propósito de reducir el desarrollo de organismos contaminantes que usualmente se presentan en las hojas de los plátanos cultivados en el área al sur del Lago de Maracaibo, en la cámara húmeda se utilizó una mínima cantidad de agua. Concluido el periodo de incubación, las muestras fueron sumergidas por 5 minutos en agua destilada e inmediatamente

fijadas a la tapa de las cápsulas de Petri, en cuya base se encontraba depositado el medio de agua-agar 2% más Benomil en las distintas concentraciones programadas. El fungicida fue agregado al medio autoclavado cuando este había alcanzado una temperatura igual o inferior a 45 °C. El Tiempo de descarga fue de 45 minutos e inmediatamente las placas se incubaron por 48 horas a 26 ± 2 °C en completa oscuridad para que ocurriera la germinación. Las placas fueron examinadas en un estereoscopio marca Zeiss, modelo Stemi SV11 para localizar las zonas con descarga de ascosporas; luego, se cortaron fragmentos de agar-ascosporas y fueron observados en un microscopio marca Zeiss, modelo Axioplan, con el fin de determinar el porcentaje y tipo de germinación. Los montajes se hicieron en fucsina ácida 0,025% en lactofenol.

Tratamientos Fungicidas: Se evaluaron cuatro concentraciones de Benomil 0, 1, 5 y 10 ppm, las cuales fueron preparadas a partir de una solución madre de 1000 ppm (1000 mg/l), mezclando 0,2 de Benlate PM 50 % en 100 ml de agua destilada estéril. Para cada tratamiento se utilizaron tres repeticiones. La resistencia fue determinada en función de la capacidad germinativa y el tipo de germinación (normal, suprimida o deforme). Los parámetros seguidos para declarar resistencia fueron 10 % de germinación normal a 1 ppm y 5 % a 10 ppm (Jiménez y Rodríguez, 1985). El modelo experimental fue un diseño completamente aleatorizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Zona monitoreada: En la zona investigada se monitorearon 14 fincas. El muestreo se concentró, principalmente, entre las localidades de Cuatro Esquinas y El Chivo (margen derecho del Río Chama) y entre El Moralito y El Abanico (margen izquierdo del Río Chama), porque en ésta área fue donde se detectó mayor intensidad de aplicación de productos químicos; sin embargo, también fueron muestreadas las demás localidades comprendidas entre los cuadrantes establecidos.

Se monitorearon ocho fincas en la zona de condiciones menos húmedas, con alrededor de 1550 mm de precipitación media anual (Kijewski, *et al.* 1981), lo cual corresponde a la región norte comprendida entre los 8° 50' y 9° 03' L.N.; mientras que en la zona sur, con 1750 mm de precipitación media anual, se muestrearon seis, ubicadas entre los 8° 45' y 8° 50' L.N. Las fincas identificadas con los números 2 y 3 se muestrearon varias veces, pero fue imposible obtener descarga exitosa (Cuadro 1).

Germinación de ascosporas: En todas las fincas monitoreadas los porcentajes de ascosporas con germinación normal fueron inferiores a los parámetros establecidos para declarar resistencia de *M. fijiensis* a Benomil. Sin embargo, es importante destacar que en las fincas 12 y 13 se registraron porcentajes de germinación bastante

Cuadro 1. Porcentajes promedios de germinación normal en ascosporas de *M. fijiensis* sometidas a diferentes concentraciones de Benomil.

FINCA	UBICACIÓN	CONTROL	1 PPM	5 PPM	10 PPM
1	El Paraíso	B+T, cada mes y medio	0	0	0
2	El Paraíso	B+T, cada mes y medio	ND	ND	ND
3	Los Cañitos	B+T, cada mes y medio	ND	ND	ND
4	Santa Rosa	B+D, según incidencia	7,03	3,90	1,33
5	Caño Muerto	B, según incidencia	5,44	2,16	1,41
6	El Corrientudo	B, según incidencia	4,15	2,00	1,97
7	El Chivo	B+D, según incidencia	4,19	2,47	1,49
8	Curva del Diablo	B+T, según incidencia	6,44	4,09	1,70
9	Mosioco	B+T, en época lluviosa	3,90	0,43	0
10	El Abanico	B, según incidencia	0	0	0
11	El Moralito	B, 2 ó 3 veces al año	1,85	0,35	0
12	Cuatro Esquinas	B, según incidencia	8,57	8,20	4,87
13	El Moralito	B+T, según incidencia	8,03	5,52	4,37
14	Sta Cruz	B, mensualmente	4,54	3,40	1,57

B = Benlate; T = Tilt; D = Dithane

próximos a los parámetros establecidos por Jiménez y Rodríguez (1985). En la finca 12 los valores fueron 8,57 % y 4,87 % a 1 y 5 ppm, respectivamente; mientras que los de la finca 13 fueron 8,03 % y 4,37 % a 1 y 5 ppm, respectivamente (Cuadro 1). En otras seis fincas (4, 5, 6, 7, 8 y 14) los porcentajes obtenidos permiten inferir que el hongo se encuentra en adaptación y, en consecuencia, es posible que algunas de las ascosporas pudieran, si las condiciones así lo permiten, originar cepas de mayor resistencia al producto. Debido a ello, se recomienda aplicar medidas antirresistencia, principalmente, la alternabilidad de los productos aplicados.

Las fincas que registraron mayor porcentaje de germinación normal se encontraron en la franja climática de 1750 mm de precipitación media anual, lo cual pudiera estar relacionado con el prolongado período de alta humedad relativa, condición que favorece el desarrollo y la reproducción del hongo (Murillo, *et al.* 1997), aumentando así, la probabilidad de aparición de cepas resistentes al fungicida.

Varios investigadores (Calvo y Guzmán, 1997; Fullerton y Tracy, 1984; Goff y Miller, 1990; McGrath, 1996; Pérez y Mauri, 1994; Ruppei *et al.*, 1980; Van Der Berg, 1989; Whitesite, 1980), han reportado el

desarrollo de resistencia a Benomil en *M. fijiensis* y otros hongos taxonómicamente afines. Igualmente ha sido señalada la resistencia de *M. fijiensis* a Tridemorph (Calixin), Biternatol (Baycor), Fenboconazole (Indar), Propiconazole (Bumper, Propilq y Tilt) (Calvo y Guzmán, 1997; Jiménez *et al.*, 1996; Romero y Sutton, 1997; Yuan y Nelson, 1997). Según Stover y Dickson (1987) y Romero y Sutton (1999) después del establecimiento de la resistencia de *M. fijiensis* a Benomil, ésta condición puede persistir por varios años después de haberse suspendido el uso del producto.

El análisis de la varianza permitió detectar diferencias significativas ($P \leq 0,037$) entre las fincas. Los mayores promedios de germinación normal se registraron en los sectores de Cuatro Esquinas (fincas 8 y 12) y Caño Muerto (fincas 5 y 6), incluyendo áreas de El Moralito (fincas 11 y 13) y El Chivo (finca 7) (Figura 1). Las fincas con menores niveles de tolerancia fueron 1 y 10, donde ocurrió supresión total de la germinación, aun en las ascosporas sometidas a las concentraciones más bajas de Benomil. Es de resaltar que estas dos fincas se encuentran ubicadas en la zona más al norte del área muestreada, donde prevalecen condiciones más secas.

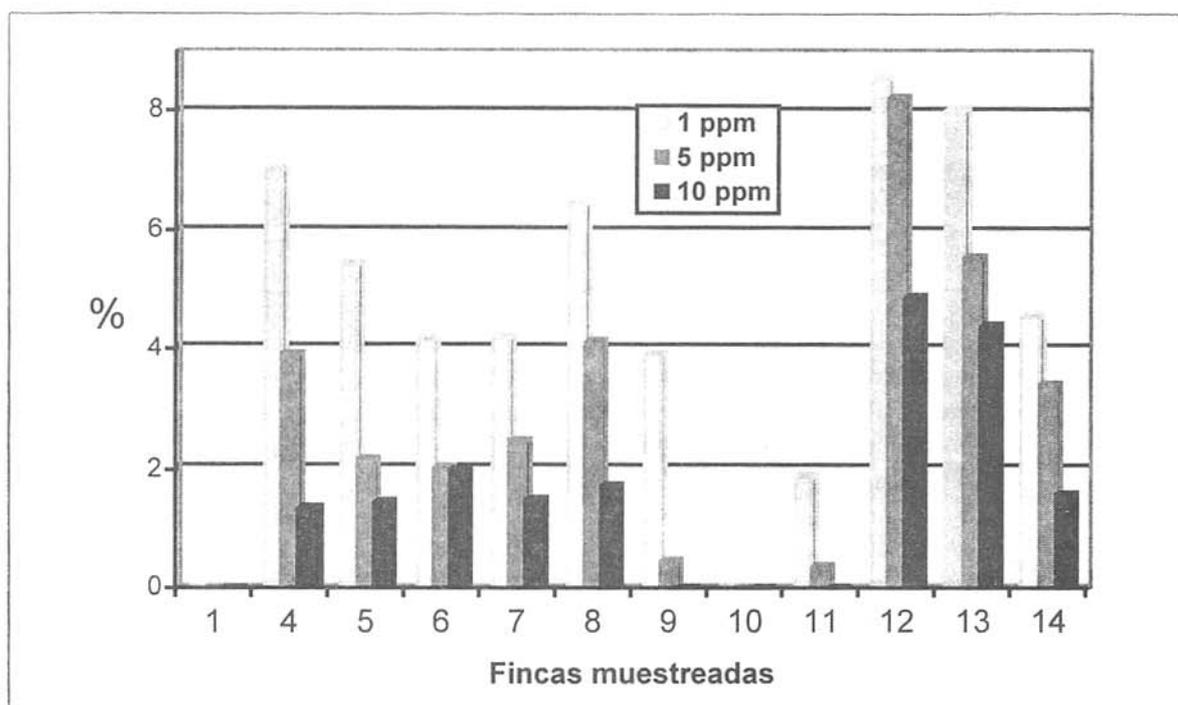


Figura 1. Porcentajes promedios de germinación normal en ascosporas de *M. fijiensis* sometidas a diferentes concentraciones de Benomil.

Según los resultados obtenidos, se concluye que es necesaria la alternabilidad de los productos químicos, sobre la base del grupo al cual pertenecen y al sitio de acción en la cadena metabólica. Igualmente resulta imprescindible la evaluación permanente de resistencia de los fungicidas utilizados, para detectar la aparición de cepas capaces de desarrollar estrategias metabólicas que les permitan escapar de la acción de los compuestos químicos. En atención a lo anterior, se sugiere suspender el uso de Benomil en las fincas 12 y 13, a los fines de evitar que se alcance niveles tolerables de resistencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALVO, C. y M. GUZMÁN. 1997. Monitoreo de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a los fungicidas sistémicos utilizados en los programas de combate. Pag. 69 In: *Informe Anual 1997*. Corporación Bananera Nacional (CORBANA), San José, Costa Rica.
- CHUANG, T. Y. 1981. Chemical control of banana leaf spot caused by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Plant Prot. Bull.* (Taiwan) 23: 87-94.
- FULLERTON, R. A. y G. M. TRACY. 1984. Tolerance of *Mycosphaerella fijiensis* to benomyl and carbendazin in the Pacific Islands. *Tropical Agriculture*, 61: 133-136.
- GAUHL, F.; C. PASBERG-GAUHL; D. VUYLSTEKE y R. ORTIZ. 1993. Multilocational evaluation of black sigatoka resistance in banana and plantain. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Nigeria. *Research Guide*, N° 47. 58 p.
- GOFF, W. D. y R. W. MILLER. 1990. Resistance of fungicides in inhibiting germination of conidia of *Mycosphaerella caryigena*. *Applied Agriculture Research*, 5: 218-222.
- JIMÉNEZ, L. y R. RODRÍGUEZ. 1985. Primer brote de *Mycosphaerella fijiensis* tolerante al fungicida Benomil en bananas en Costa Rica. *Phytopathology*, 75:1177.
- JIMENEZ, A.; R. A. ROMERO y M. GUZMÁN. 1996. Efecto *in vitro* de mezclas de fungicidas sobre *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la sigatoka negra. Pag. 65 In: *Informe Anual 1996*. Corporación Bananera Nacional (CORBANA), San José, Costa Rica.
- KIJEWSKI, J.; J. COLINA; P. STEEGMAYER; S. MADERO y Z. BOJANOWSKI. 1981. *Estudio semidetallado, sector Río Mucujepe, Río Escalante. Zona Sur del Lago de Maracaibo*. 2 tomos y mapas anexos. División de Información en Investigación del Ambiente. MARNR.
- MCGRATH, M. T. 1996. Increased resistance to tradimefon and to benomyl in *Sphaerotheca fuliginea* populations following fungicide usage over one season. *Plant Dis.*, 80: 633-639
- MURILLO, G. M.; I. D. MARTÍNEZ y M. GUZMÁN. 1997. Programa de asistencia técnica en el control de la sigatoka negra. Pag. 96 In: *Informe Anual 1997*. Corporación Bananera Nacional (CORBANA), San José, Costa Rica.
- PEREZ, L. y F. MAURI. 1994. Efficacy of EBI fungicides on the control of sigatoka disease of bananas caused by *Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder in Cuba. *International Journal of Pest Management*, 40: 1-5.
- ROMERO, R. A. y T. B. SUTTON. 1997. Sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of black sigatoka of banana, to propiconazole. *Phytopathology*, 87: 96-100.
- ROMERO, R. A. y T. B. SUTTON. 1999. Characterization of benomyl resistance in *Mycosphaerella fijiensis*, cause of black Sigatoka of banana, in Costa Rica. *Musarama*, 12: 52.
- RUPPEI, E. G.; A. D. JENKINS y M. BURTCH. 1980. Persistence of benomyl-tolerant strains of *Cercospora beticola* in the absence of benomyl. *Phytopathology*, 70: 25-26.
- STOVER, R. H. 1972. *Banana, plantain and abaca diseases*. Commonw. Mycol. Inst., Kew, Surrey, England. 316 p.
- STOVER, R. H. 1980. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. *Plant Dis.*, 64 : 750-756.
- STOVER, R. H. 1977a. Extranuclear inherited tolerance to benomyl in *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 68: 122-124.
- STOVER, R. H. 1977b. A non-virulent Benomyl tolerant *Cercospora* from leaf spots caused by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* and *M. musicola*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 69: 500-502.
- STOVER, R. H. y J. DICKSON. 1987. Tolerance of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* to benomyl in relation to different spray regimes. Pag. 115 In: Galindo, J. y Jaramillo, R. (Eds): *Memorias VII Reunión de ACORBAT. San José, Costa Rica, 23-27 de Septiembre, 1985*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.

- VAN DEN BERG, L. J. 1989. Study of the frequency and level of resistance of *Mycosphaerella musicola* populations to benzimidazoles in Martinique. *Fruits*, 44: 649-654.
- WHITESIDE, J. O. 1980. Tolerance of *Mycosphaerella citri* to benomyl in Florida citrus groves. *Plant Dis.*, 64: 300-302.
- YUAN, C. y S. C. NELSON. 1997. Variability in virulence and sensitivity to propiconazole among Hawaiian isolates of *Mycosphaerella fijiensis*, cause of banana black leaf streak (BLS). *Phytopathology*, 87: S107.