

Efecto de *Bacillus subtilis* ANT01 sobre la severidad de sigatoka negra en plátano "macho" (*Musa balbisiana*)

Effect of *Bacillus subtilis* ANT01 on severity of the black sigatoka in banana plantain (*Musa balbisiana*)

Miguel Salvador-Adriano¹ , Fernando U. Constantino-Salazar¹ , Miguel Salvador-Figueroa¹ , Marisela G. Salgado-Mora¹ , Benjamín Moreno-Castillo^{1*} , María de Lourdes Adriano-Anaya^{1*} 

¹ Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV, Boulevard Príncipe Akishino s/n. Colonia Solidaridad 2000. Tapachula Chiapas CP 30798, México. Tel. (+52)- 9626427972.

² Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV; Entronque Carretera Costera y Huehuetan Pueblo, Huehuetan Chiapas CP 30660, México. Tel. (+52) 9646270128.

RESUMEN

La Sigatoka Negra (SN) es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, principal enfermedad en la producción de bananos y plátanos. Convencionalmente se aplican fungicidas químicos (principalmente mancozeb y clorotalonil), lo cual genera impacto negativo en el ambiente y organismos vivos no blanco. Se han buscado alternativas de biocontrol de la SN, donde ha resaltado el potencial del género *Bacillus*, con eficiencias de biocontrol de la SN entre 25 % y 33.6 %. Adicionalmente, algunos extractos vegetales como la mezcla de extracto de clavo (*Zyzygium aromaticum*) y ajo (*Allium sativum*) mostraron 35 % de efectividad. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la inyección de *Bacillus subtilis* ANT01 en el sistema vascular de plantas de plátano "Macho" (*Musa balbisiana*, var. Chifle) sobre la severidad de la SN. El tratamiento más efectivo fue la aspersión foliar de extracto de ajo y clavo con *Bacillus subtilis* ANT01 (10^8 UFC mL⁻¹) inyectado cada 14 d, ya que redujo la severidad en 58.1 % comparado con solamente asperjar los extractos de clavo y ajo.

Palabras clave: *Mycosphaerella fijiensis*, biocontrol, clavo, ajo.

ABSTRACT

The Black Sigatoka (BS) is a disease caused by the fungus *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, the main risk for plantain production. Conventionally, chemical fungicides are sprayed, which generates negative impacts on the environment and non-target organisms. Biological alternatives have been sought to control BS, and strains of the *Bacillus* genus have shown potential, ranking between 25 % and 33.6 % of biocontrol. Additionally, extracts from various plants have also shown potential for the control of BS and one of these is the mixture of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) extracts with 35 % of efficiency. The objective of this work was to determine the effect of injecting *Bacillus subtilis* in the vascular system of "macho" banana plants, on the severity of BS. The most effective treatment involved foliar spraying of garlic and clove extracts along with injection of *Bacillus subtilis* ANT01 (10^8 CFU mL⁻¹) every 14 d, since reduced BS severity by 58.1 % compared to only spray the mixture

of clove and garlic extracts.

Keywords: *Mycosphaerella fijiensis*, biocontrol, clove, garlic.

INTRODUCCIÓN

En México el plátano "Macho" (*Musa balbisiana* ABB) se cultiva en una superficie de 19,834.34 ha, distribuidas en las regiones tropicales del país. En dicha superficie se producen 380,902.69 Ton de fruto. Los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Tabasco y Guerrero producen el 89 % de este frutal, siendo Chiapas el principal productor (34 % del total) (SIAP, 2022).

Como cualquier otro cultivo, el plátano "Macho" se ve afectado por una serie de problemas fitosanitarios causados por bacterias como el Moko del plátano (*Ralstonia solanacearum*), virus estriado del plátano (*Banana streak virus*), nematodo barrenador (*Radopholus similis*) y hongos como la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), que afectan la producción (Javer *et al.*, 2009; Manzo-Sánchez *et al.*, 2017; Susan *et al.*, 2017).

La Sigatoka Negra (SN) es una enfermedad que ataca a todas las especies del género *Musa* y representa el mayor riesgo para la producción debido a que disminuye la capacidad fotosintética de las plantas. El hongo de la SN se reproduce tanto de forma sexual como asexual (Guzmán *et al.*, 2013), por lo que su diseminación se realiza por tres vías: 1. Material vegetal infectado (hojas enfermas, retoños infectados); 2. Dispersión de ascosporas (reproducción sexual); 3. Dispersión de conidios (reproducción asexual). Los conidios se propagan a cortas distancias en la misma planta o en plantas vecinas; las ascosporas pueden recorrer con el viento cientos de kilómetros (Rodríguez y Cayón, 2008).

El control convencional de la SN alterna el uso de fungicidas protectantes (Mancozeb, que pertenece al grupo de los ditiocarbamatos), como sistémicos (benzimidazoles, que son un grupo de compuestos químicos orgánicos aromáticos heterocíclicos), aplicados en aceite o en emulsión de agua. Sin embargo, la constante presión a la que ha sido sometida la población de *M. fijiensis*, por la aplicación de los fungicidas químicos, ha derivado en la selección de cepas resistentes a dichas moléculas motivando, con ello, al aumento de la frecuencia de su aplicación (Adriano-Anaya *et al.*, 2018) con

*Autor para correspondencia: Benjamín Moreno-Castillo

Correo-e: benjamin.moreno@unach.mx

Recibido: 18 de octubre de 2024

Accepted: 7 de febrero de 2025

Published: 7 de marzo de 2025

el consecuente impacto negativo en la salud del ecosistema y de los humanos (Mena-Espino y Couoh-Uicab, 2015). El impacto económico de la SN es tal que se han llegado a reportar pérdidas entre el 50 y el 100 % de la producción si no se hace un adecuado control de la enfermedad, rubro que puede representar entre el 35 y 48 % de los costos totales de producción de banano y que en México ha significado una inversión anual entre 40 y 50 millones de dólares para controlar la enfermedad (Orozco-Santos *et al.*, 2013). Desde luego que esto ha implicado además un impacto ambiental importante, pues se realizan anualmente en promedio 52 aspersiones aéreas semanales de fungicidas químicos sobre las plantaciones, las cuales han generado contaminación de suelo y cuerpos de agua con los subproductos zinc y metilentioureas provenientes de la degradación del mancozeb (Geissen *et al.*, 2010).

El interés por conservar el ambiente ha llevado a la búsqueda de alternativas biológicas para el control de la SN. Las bacterias del género *Bacillus* han mostrado potencial para el control de la SN ya que posee capacidad tanto para colonizar la superficie foliar y formar estructuras de resistencia (esporas) que ayudan a sobrevivir a condiciones ambientales adversas, como para producir diversos antibióticos y enzimas, que hidrolizan los componentes de la pared de las ascosporas de *M. fijiensis* (Patiño *et al.*, 2007; Sánchez, 2016; García *et al.*, 2022; Cruz-Martín *et al.*, 2023). La eficiencia de control de la SN con diferentes cepas de *Bacillus*, se encuentra entre 25 % - 33.6 % (Castillo-Arévalo, 2022; Cruz-Martín *et al.*, 2018; Gutiérrez-Monsalve *et al.*, 2015). Alternativamente extractos de diversas plantas han mostrado potencial para el control de la SN. En este sentido, los extractos de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Capsicum annuum* (chile) y *Azadirachta indica* (neem) controlaron la SN en 67.5 % (Kumakech *et al.*, 2022). Por su parte Morales *et al.* (2011) obtuvieron un promedio de 48 % de control de la SN con extractos de cundeamor (*Momordica charantia* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.) y caña santa (*Cymbopogon citratus* (DC.)), mientras que Ewané *et al.* (2020) reportaron 44 % con extracto de girasol mexicano (*Tithonia diversifolia*) y Adriano-Anaya *et al.* (2023) 35 % con la mezcla de extractos de clavo (*Syzygium aromaticum*) y ajo (*Allium sativum*).

El control biológico de la SN ha sido realizado con aplicaciones independientes de microorganismos o de extractos de plantas asperjados sobre las hojas de las *Musa* y escaso es el trabajo reportado donde el control de la enfermedad se realice con la aplicación del microorganismo biocontrolador en el sistema vascular de la planta. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de aplicar *Bacillus subtilis* ANT01 en el sistema vascular de plantas de plátano "Macho" sobre la severidad de la Sigatoka Negra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de trabajo

El trabajo fue realizado en la Estancia Agroecológica "Ayol" del Municipio de Tapachula Chiapas; México (14°49'46" N; 92°17'42" O; 69 msnm; precipitación pluvial promedio 2,600

mm; humedad relativa 80 %; temperatura promedio anual de 26°C).

Material vegetal y sistema de siembra

Como material vegetal fueron utilizados hijuelos de plátano "Macho" de 1.0 m de altura y sin síntomas de SN, sembrados con distanciamiento entre planta y entre surco de 3.0 m (1100 plantas ha⁻¹).

Tamaño del tratamiento

Cada uno de los tratamientos empleados (Tabla 1) estuvo constituido por 20 plantas distribuidas en dos surcos de 30 m de longitud.

Biocontroladores, concentración y forma de aplicación

Como biocontroladores de la SN fueron utilizados extracto alcohólico de ajo (*Allium sativum*; 150 µg sólidos disueltos mL⁻¹), extracto alcohólico de clavo (*Zyzygium aromaticum*; 72 µg sólidos disueltos mL⁻¹) (Adriano-Anaya *et al.*, 2018) y *Bacillus subtilis* ANT01 con 10⁸ UFC mL⁻¹. Los extractos de ajo y clavo fueron mezclados en una aspersora manual de 20 L y fueron asperjados sobre el haz y el envés de las hojas hasta punto de goteo. *B. subtilis* ANT01 fue inoculado, 10 - 20 mL dependiendo de la fase de desarrollo de la planta, directamente en el sistema vascular de la planta, a distancia de 20 cm del nivel del suelo.

Variables determinadas

Severidad de la Sigatoka Negra (SSN). La SSN en cada una de las hojas de todas las plantas, fue determinada cada 14 días mediante la escala de Stover modificado por Gauhl (Stover, 1971; Gauhl, 1990), la cual esta constituía por siete grados, donde; 0 = hojas sanas o libres de síntomas de SN, 1 = hojas con < 10 manchas, 2 = hojas con < 5 % de área enferma, 3 = hojas con enfermedad en 6 % - 15 % del área, 4 = hojas con enfermedad en 16 % - 33 % del área, 5 = hojas con enfermedad en 34 % - 50 % del área y 6 = hojas con enfermedad en > 50 % del área. La SSN en cada planta o tratamiento fue determinada mediante la fórmula (1) usada por Gutiérrez-Monsalve *et al.* (2015):

Tabla 1. Diseño de tratamientos para determinar el efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis* ANT01 en el sistema vascular del plátano "Macho" para el control de la Sigatoka Negra.

Table 1. Treatments design to assess the effect of the injection of *Bacillus subtilis* ANT01 into the vascular system of plantain "Macho" to control the Black Sigatoka.

Tratamiento	Frecuencia de aplicación (días)
1 (Control)	Aspersión foliar de extracto de clavo y ajo cada 14 días
2	Aspersión foliar de extracto de clavo y ajo cada 14 días + aplicación de <i>B. subtilis</i> ANT01 cada 7 días
3	Aspersión foliar de extracto de clavo y ajo cada 14 días + aplicación de <i>B. subtilis</i> ANT01 cada 14 días



$SN = \sum (\text{Número de hojas enfermas por cada grado de la escala}) [(\text{Número total de hojas observadas})^{-1} (\text{grado mayor de la escala})]^{-1}$

La determinación de la SSN inició a partir de la 4ª semana después de la siembra de las plantas.

Cantidad de hojas sanas y hoja más joven con síntomas de Sigatoka Negra. La cantidad de hojas sanas y la hoja más joven con síntomas de SN fueron cuantificadas cada 14 d, durante la etapa vegetativa de todas las plantas a partir de la 4ª semana después de la siembra de las plantas.

Parámetros de producción. Los parámetros de producción fueron: peso del racimo (kg), número de “manos” por racimo y tiempo de maduración del fruto (semanas), dichos parámetros fueron cuantificados en 10 plantas de cada uno de los tratamientos.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de la varianza ANOVA y la separación de medias mediante la prueba de Tukey ($P = 0.05$) mediante el programa Infostat 2016.

RESULTADOS Y DISCUSION

La etapa vegetativa de las plantas de plátano “Macho” tuvo una duración promedio de 266 días después de iniciado los tratamientos. En dicha etapa la dinámica de la SSN, en los diferentes tratamientos de este trabajo mostró tres fases (Figura 1): la primera fase de incremento en el valor de la SSN con duración promedio observada de 42 d posterior a la siembra; la segunda fase de disminución de la SSN con duración de 70 días y la tercera fase de estabilización de la SSN con duración de 154 d.

Al inicio del trabajo la SSN en las plantas de todos los tratamientos tuvo un valor promedio de 0.0945 ± 0.0133 alcanzando, en el muestreo tres, un valor promedio de 0.1564 ± 0.0047 (+ 65.5 %). Después de alcanzar el mayor valor, la SSN descendió en todos los tratamientos hasta un valor promedio de 0.0562 ± 0.0096 en la muestra ocho. A partir

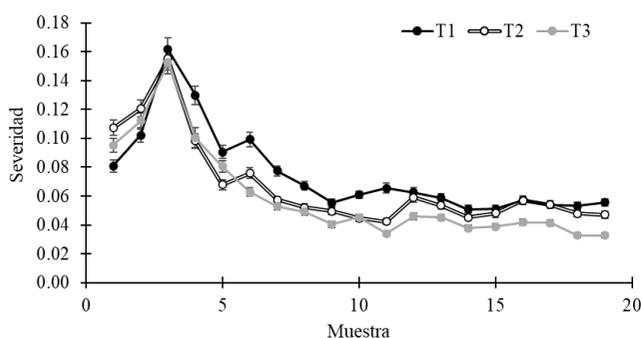


Figura 1. Dinámica de la severidad de la Sigatoka Negra en plantas de plátano “Macho” sometidos a diversos tratamientos de biocontrol. STn = Severidad en las plantas del Tratamiento n como fueron descritos en el Cuadro 1. Las barras indican el error estándar.

Figure 1. Black Sigatoka severity dynamics in plantain “Macho” subjected to several treatments of biocontrol. STn = severity in plants from treatment n as previously described in Table 1. Bars indicate standard errors.

del muestreo ocho y hasta el muestreo 19 el promedio de la SSN en las plantas de los Tratamientos 1, 2 y 3 fue, respectivamente, de 0.0568 ± 0.0047 , 0.0498 ± 0.0053 y 0.0396 ± 0.049 , lo que representó reducción del 39.9 %, 47.3 % y 58.1 % respecto a la SSN inicial y de 61.7 %, 68.1 % y 74.7 % respecto al valor máximo. El análisis estadístico de los datos de la tercera fase mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($F_c = 32.88$, $F_t = 3.32$, error = 0.000752, $gl = 30$) y la prueba de Tukey mostró que los tratamientos fueron diferentes [$\alpha = 0.05$ ($DMS = 0.0053$, Error = 0.0000251, $GL = 39$), $T_1 = 0.0567$ a, $T_2 = 0.0498$ b, $T_3 = 0.0396$ c].

La dinámica de la generación de hojas, durante el periodo de estudio, se muestra en la Figura 2. En dicha figura se observa que al inicio las plantas tuvieron un promedio de 6.7 hojas y que esa cantidad siempre fue en aumento durante toda la fase vegetativa. Al llegar a la etapa reproductiva las plantas de todos los tratamientos presentaron, en promedio, un total de 11.4 ± 0.55 hojas, sin diferencia estadística significativa entre ellas ($F_c = 2.70$; $F_t = 3.35$; Error = 43.4; $gl = 27$).

Por otro lado, la dinámica de la hoja más joven con presencia de SSN mostró (Figura 3) un comportamiento paralelo al observado al de hojas totales, es decir, aumentó conforme las plantas alcanzaron la etapa reproductiva. Inicialmente la 5ª hoja fue la más joven con presencia de SSN (promedio de 5.1 ± 0.46) y al final de la etapa vegetativa fue la 10ª hoja (promedio 10.1 ± 0.47) sin diferencia estadística significativa entre los tratamientos ($F_c = 2.05$, $F_t = 3.35$, $gl = 27$).

Los parámetros productivos de las plantas de los tratamientos empleados en este trabajo se muestran en la Tabla 2. En el citado cuadro se observa que el plátano “Macho” produce racimos con peso entre 10.1 - 11.9 kg, con número de “manos” entre 4.9-5.9 y con 11.4-11.8 semanas a cosecha. Las diferencias entre los tratamientos no fueron estadísticamente significativas (Peso de racimo: $F_c = 2.50$, Número de manos: $F_c = 3.12$, Semanas a cosecha: $F_c = 0.10$, F_t $\alpha = 0.05$, 2, 27 = 3.35).

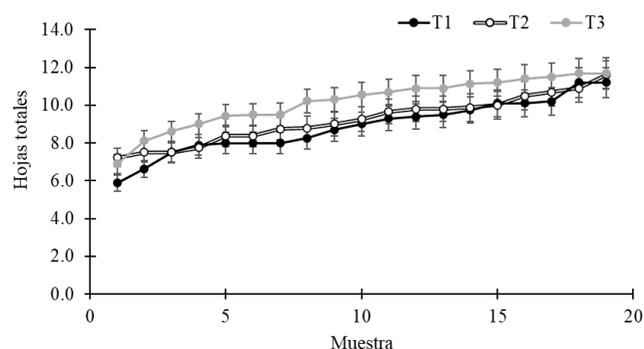


Figura 2. Dinámica del total de hojas presentes en las plantas de plátano “Macho” durante la fase vegetativa. HTn = hojas totales en las plantas del tratamiento n. Las barras indican el error estándar.

Figure 2. Total leaves dynamics in plants during the vegetative stage. HTn = total leaves in plants from treatment n. Bars indicate standard errors.

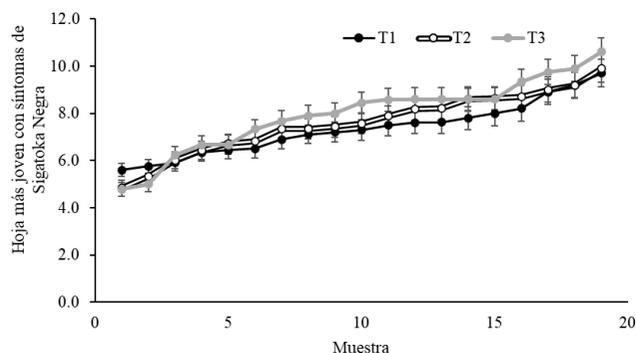


Figura 3. Dinámica de la hoja más joven con presencia de síntomas de Sigatoka Negra en plantas de plátano "Macho" durante la fase vegetativa. HS_n = hoja con síntomas en el tratamiento n. Las barras indican el error estándar.

Figure 3. Dynamics of youngest leaf with visible symptoms of Black Sigatoka in plants during the vegetative stage. HS_n = leaf with symptoms in treatment n. Bars indicate standard errors.

Tabla 2. Parámetros productivos de plátano "Macho" sometidos a diferentes tratamientos (T_n) de control de Sigatoka Negra. Tratamientos con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

Table 2. Yield parameters of the plantain "Macho" subjected to different treatments (T_n) to control the Black Sigatoka. Treatments with the same letter are not statistically different.

Tratamiento	Peso del racimo (kg)	Número de "manos"	Semanas a cosecha
T 1	10.1 ± 1.47 a	4.9 ± 0.32 a	10.7 ± 2.00 a
T 2	10.5 ± 2.26 a	5.3 ± 0.67 a	11.7 ± 2.70 a
T 3	11.9 ± 1.85 a	5.9 ± 1.37 a	11.4 ± 1.90 a
Promedio	10.8 ± 0.95 a	5.4 ± 0.51 a	11.4 ± 0.50 a

El control de la SN, con agroquímicos o biológicos, en plátanos y bananos cultivados, generalmente se realiza con la aplicación de una única sustancia o ingrediente activo. Considerando lo previo, en este trabajo se hipotetizó que la adición de otro biocontrolador al programa existente en la Estancia Agroecológica "Ayol", mejoraría el control de la enfermedad. La reducción de la SSN observada en los tratamientos donde se aplicó *B. subtilis* ANT01 (Figura 1), además de la aplicación de los extractos de ajo y clavo, puede estar relacionada con la capacidad de producción de moléculas antagónicas producidas por el microorganismo efector (Cruz-Martin *et al.*, 2022) o por la inducción de mayor respuesta defensiva de las plantas derivada de la interacción entre los componentes del sistema sea este microorganismo-planta, metabolito secundario-planta o microorganismo-metabolito secundario-planta (Torres *et al.*, 2009; Pieterse *et al.*, 2014;). En este sentido, el incremento en la SSN observada al inicio de todos los tratamientos (Figura 1), similar a lo reportado por Casas *et al.* (2021), puede relacionarse con las dos líneas de defensa de la respuesta inmune de la planta: la primera de ellas derivada de la acción de algún metabolito presente en el extracto o el fermento que activaron los genes de virulencia del patógeno haciéndolo más agresivo, o inhibieron

los genes de resistencia de la planta, haciendo a la planta más susceptible, ambos componentes de la inmunidad activada por los Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs), o PTI (Göhre y Robatzek, 2008; Zipfel, 2008, 2009; Castro *et al.*, 2012); y la segunda, derivada de la respuesta de hipersensibilidad de la planta en la cual la muerte celular alrededor del tejido infectado se acelera (el síntoma de la SN es el área foliar necrosada) por la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), aunado a la activación de las rutas del ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno, conocida como Inmunidad Activada por Efectores o ETI. Inicialmente la ETI es una respuesta defensiva local, la cual se transforma en respuesta defensiva sistémica (Tsuda y Katagiri, 2010).

La disminución en la SSN observada durante la segunda fase de los tratamientos (Figura 1) puede estar relacionada al aumento de capacidad defensiva de las plantas desencadenada por el estímulo de inductores químicos (extractos de plantas) y biológicos (fermentos de *B. subtilis*) tipificada como Resistencia Sistémica Inducida o SAR (Choudhary *et al.*, 2007; Choudhary y Johri, 2009; Pieterse *et al.*, 2014), la cual puede prever la presencia de nuevos sitios de infección, lo que aunado a la emergencia de nuevas hojas tiene como resulta una menor proporción de tejido infectado y por consecuencia menor grado de SSN.

La actividad antifúngica del fermentado de *B. subtilis* ANT01 puede observarse tanto en el nivel de disminución de la SSN durante la segunda fase, como en nivel de control alcanzado en la etapa de cuasi-estabilización (Figura 1). Sin embargo, la aparente contradictorio de esta última fase, es decir alcanzar mayor reducción de la SSN en el tratamiento con menor frecuencia de aplicación de *B. subtilis* ANT01 (T3), pudiera ser explicado como un efecto de "toxicidad" derivado de la acumulación de metabolitos cuando la aplicación se realiza cada siete días, un efecto observado también cuando los extractos de plantas son aplicados con esa misma frecuencia (datos no mostrados).

Aunque la estimación de la SSN es realizada mediante la escala propuesta por Stover modificado por Gauhl (Stover, 1971; Gauhl, 1990), el reporte del valor de severidad es resultado de la aplicación de diversas fórmulas propuestas para tal caso. En este sentido los valores de SSN calculados en este trabajo para el mejor tratamiento (T3) fue, en promedio, 12.20 veces menor que lo reportado por Sierra *et al.* (2014) para el clon AAB Enano Guantanamero cultivado con diferentes estrategias de control de SN, 8.49 veces menor que lo reportado por Castillo-Arévalo (2022) quien empleó *Trichoderma* sp y *Bacillus subtilis* y 3.62 veces menor que lo reportado por Barrera *et al.* (2016) para el plátano Hartón cultivado bajo diferentes niveles de sombreado, Así mismo empleando el Promedio Ponderado de Infección (PPI) calculado en este trabajo (0.345) fue 5.86 veces menor que el reportado por Quevedo *et al.* (2018) el cual fue de 2.02 empleando diferentes fungicidas protectantes y sistémicos. La mayor eficacia para el control de la SN observada en este trabajo puede ser resultado de la frecuencia de aplicación de los biocontroladores combinada con los distintos abonos

empleados para fertilizar el suelo, los cuales probablemente mejoraron el sistema inmune de las plantas.

Por otro lado, el promedio de hojas totales (Figura 2) observado en las plantas de todos los tratamientos de este trabajo, se encontró dentro del rango reportado por distintos autores: 12.7 (Quevedo *et al.*, 2018), 11.7 (Barrera *et al.*, 2016), 10.0-12.0 (Grajales, 2016), 8.8-12.1 (Sierra *et al.*, 2014), 12.0 (Castellanos *et al.*, 2009), 11.4 (Hernández *et al.*, 2007), los cuales generalmente emplean fertilización química del suelo, por lo cual se puede sugerir que la cantidad y frecuencia de los distintos abonos empleados en el presente trabajo fue adecuado para nutrir las plantas.

Por su parte la HMJE, promedio, observada en este trabajo (Figura 3) fue similar a lo reportado por Barrera *et al.* (2016) y, ambos casos, mejor que lo reportado por Sierra *et al.* (2014) y Castellanos *et al.* (2009) quienes reportaron a las hojas 5.1 y 1.8, respectivamente. Aunque el reporte de Barrera *et al.* (2016) no indica el empleo de algún fungicida químico o biológico la presencia de SN en las hojas más avanzadas pudiera ser resultado de una probable función de "escudo protector" de la malla sombra empleada que evitó que las esporas del patógeno arribaran a la superficie de las hojas; o que en realidad si se empleó fungicida en el proceso y no se reportó. El encontrar síntomas de SN en hojas jóvenes en los trabajos de Sierra *et al.* (2014) y Castellanos *et al.* (2009) quienes utilizaron fungicidas químicos y biológicos en diversas combinaciones, puede ser un indicativo de que las moléculas contenidas en extractos y fermentados empleados en este trabajo tienen alta potencia para controlar al patógeno, o que la variante de *M. fijiensis* circulante en la región donde se realizó el trabajo es altamente susceptible a dichas moléculas.

El peso de los racimos cosechados de las plantas empleadas en este trabajo (Cuadro 2) está dentro del rango (6.6 - 14.9 kg) reportado por Cedeño *et al.* (2020), Barrera *et al.* (2016), Grajales (2016) y Hernández *et al.* (2007). Sin embargo, el número de manos por racimo fue 26.8 % menor a lo reportado por Hernández *et al.* (2007), dicha diferencia puede ser resultado de la variedad de plátano empleada.

Finalmente, desde la perspectiva del tiempo desde la siembra hasta la cosecha de las plantas de plátano "Macho" de este trabajo, pasando por la etapa de florecimiento, se puede decir que la duración de dichas etapas fenológicas estuvo dentro de los parámetros reportados para otras variedades de plátanos (Marcelino *et al.*, 2010; Grajales, 2016; Cedeño *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Al aplicar cada 14 días *Bacillus subtilis* ANTo1 (10^8 UFC mL⁻¹) en el sistema vascular de plantas de plátano "Macho" se disminuye 58.1 % la severidad de la Sigatoka Negra, con respecto a solamente asperjar vía foliar los extractos de clavo y ajo. Sin embargo, la inyección de la bacteria no afectó el número total de hojas por planta, la hoja mas joven con síntomas, el peso del racimo, número de manos ni las semanas a cosecha.

Este resultado podría ofrecer una alternativa práctica para su implementación a escala comercial, sin embargo más investigación es requerida principalmente en plantaciones comerciales para validar esta posible recomendación, además de hacer un análisis de costo-beneficio *ad-hoc*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al personal de apoyo de la Estancia Agroecológica "Ayol" por todas las facilidades otorgadas para la realización de esta investigación.

CONFLICTO DE INTERES

Los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés.

REFERENCIAS

- Adriano-Anaya, M.D.L., Mejía-Ortiz, J., Ovando-Medina, I., Albores-Flores, V. y Salvador-Figueroa, M. 2018. Efecto de extractos alcohólicos de ajo (*Allium sativum*) y clavo (*Syzygium aromaticum*) en el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Revista Mexicana de Fitopatología. 36: 379-393. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1805-2>
- Adriano-Anaya, M.L., Matías-Castillo, S., Moreno-Castillo, B., Vázquez-Ovando, A. y Salvador-Figueroa, M. 2023. Mezcla de extracto alcohólico de clavo (*Syzygium aromaticum*) y ajo (*Allium sativum*) en el control de la Sigatoka negra en plátano "Macho". Mexican Journal of Phytopathology. Online publication, January: 82-92. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2207-3>
- Barrera, J., Barraza, F. y Campo, R. 2016. Efecto del sombrero sobre la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en cultivo de plátano cv Hartón (*Musa AAB Simmonds*) Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 19: 317-323. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=50123-42262016000200008
- Casas, D.L., Hernández, B.E., Pachón, E.W. y Martínez, E.A. 2021. Eficacia del coadyuvante orgánico Ecotensor SYS, en el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en cultivo de plátano (*Musa AAB simmonds*). Revista Sistemas de Producción Agroecológicos 12: 58-75. <http://dx.doi.org/10.22579/22484817.738>
- Castellanos, L., Rivero, T., Stefanova, M. y Pilar Villa, P. 2009. Efectividad biológica de Glucid para el control de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet causante de la sigatoka negra del banano. Centro Agrícola, 36: 83-88. Disponible en: <http://cagricola.uclv.edu.cu/index.php/es/volumen-36-2009/numero-3-2009/458-efectividad-biologica-de-glucid-para-el-control-de-mycosphaerella-fijiensis-morelet-causante-de-la-sigatoka-negra-del-banano>
- Castillo-Arévalo, T. 2022. Alternativas biológicas y químicas para el manejo de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en cultivo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en Rivas, Nicaragua. Ciencia e Interculturalidad 31: 153-165. <https://doi.org/10.5377/rci.v31i02.15188>
- Castro, R.A., Fernández, P.S.P. y Osuna, A.P. 2012. Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annum-Phytophthora capsici*. Revista Mexicana de Fitopatología 30: 49-65. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=50185-33092012000100005

- Cedeño, G., Guzmán, Á., Zambrano, H., Vera, L., Valdivieso, C. y López, G. 2020. Efecto de la densidad de siembra y riego complementario en la morfo-fenología, rendimiento, rentabilidad y eficiencia de la fertilización del plátano. *Scientia Agropecuaria* 11: 483-492. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.03>
- Choudhary, D.K. y Johri, B.N. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research* 164: 493-513. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007>
- Choudhary, D.K., Prakash, A. y Johri, B.N. 2007. Induced systemic resistance (ISR) in plants: Mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology* 47: 289-297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
- Cruz-Martín, M., Alvarado-Capó, Y., Mena, E., Acosta, M., Roque, B. y Pichardo, T. 2018. Cepas bacterianas con el potencial para el manejo de la Sigatoka Negra. *Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 8: <https://revistacuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/374>.
- Cruz-Martín, M., Rocha, E., Acosta-Suárez, M., Pichardo, T., Rodríguez, E., Roque, B. y Alvarado-Capó, Y. 2023. Role of *Bacillus pumilus* chitinases in antifungal activity against *Pseudocercospora fijiensis* Morelet. *Journal of Natural Pesticide Research* 3: 100019. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2022.100019>.
- Ewané, C.A., Tatsegouock, R.N., Meshuneke, A. y Niemenak, N. 2020. Field efficacy of a biopesticide based on *Tithonia diversifolia* against Black Sigatoka disease of plantain (*Musa* spp. AAB). *Agricultural Sciences* 11: 730-743. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2020.118048>
- García, H.M., Jaramillo, E.E., Herrera, S.N. 2022. Fungicidas a base de azufre y *Bacillus* sp. en manejo integrado de Sigatoka Negra. *Revista Científica Agroecosistemas* 10: 153-158. Disponible en: <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/573>
- Gauhl, F. 1990. Epidemiología y ecología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano (*Musa* sp.), en Costa Rica. Unión de Países Exportadores de Banano (UPEB). Panamá. 126 p.
- Geissen, V., Ramos, F.Q., de J. Bastidas-Bastidas, P., Diaz-Gonzalez, G., Bello-Mendoza, R., Huerta-Lwanga, E. y Ruiz-Suarez, L.E. 2010. Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 85: 407-413. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0077-y>
- Göhre, V. y Robatzek, S. 2008. Breaking the barriers: Microbial effector molecules subvert plant immunity. *Annual Review of Phytopathology* 46: 189-215. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.46.120407.110050>
- Grajales, F.A. 2016. Paquete tecnológico como alternativa de manejo de plátano hartón (*Musa paradisiaca*), en el municipio de Lejanías Meta. *Ciencia Lasalle*, 68 p. Disponible en: https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/46/
- Gutiérrez-Monsalve, J.A., Mosquera, S., González-Jaramillo, L.M., Mira, J.J. y Villegas-Escobar, V. 2015. Effective control of black Sigatoka disease using a microbial fungicide based on *Bacillus subtilis* EA-CB0015 culture. *Biological Control* 87: 39-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.012>
- Guzmán, M., Orozco-Santos, M. y Pérez, L. 2013. Las enfermedades Sigatoka de las hojas de banano: dispersión, impacto y evolución de las estrategias de manejo de América latina y el Caribe. XX Reunión internacional de asociación para la cooperación en búsqueda y desenvolvimiento integral de Musáceas (banano y plátano). Fortaleza, Brasil. 98-116 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263199254_Las_enfermedades_de_las_manchas_de_las_hojas_del_banano_dispersion_impacto_y_evolucion_de_las_estrategias_de_manejo_en_America_Latina_y_el_Caribe/citations
- Hernández, Y., Marín, M. y García, J. 2007. Respuesta en el rendimiento del plátano (*Musa* AAB cv. Hartón) en función de la nutrición mineral y su ciclo fenológico. Parte I. Crecimiento y producción. *Revista de la Facultad de Agronomía* 24: 607-626. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182007000400001
- Javer, E., Acina- Mambole, I., Font, C., Reyes, M., Arencibia, N., Fonseca, A., Quiala, I., González, G., Ramos, P.L., Echemendía, A.L. y Teycheney, P.Y. 2009. Metodologías para la detección de especies de Banana streak virus en plátanos y bananos en Cuba. *Congreso Internacional de Biotecnologías de Plantas* 7: 11-16 de mayo. Ciego de Ávila, Cuba. Disponible en: <https://agritrop.cirad.fr/569636/>
- Kumakech, A., Lyngs Jørgensen, H.J., Collinge, D.b.E.R. y Okori, P. 2022. Plant extracts as potential control agents of Black Sigatoka in banana. *Journal of Plant Pathology* 104:1303-1314. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-022-01211-1>
- Manzo-Sánchez, G., Rosales-Bonilla, N.R., Buenrostro-Nava, M.T., Guzmán-González, S., Canto, B.B. y Orozco-Santos, M. 2017. Diversidad genética de cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en bananos de México. *Biotecnología y Sustentabilidad*. II: 37-42. <https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v2i1.217>
- Marcelino, L., González, V. y Ríos, D. 2010. El cultivo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en Panamá. Manual técnico Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Departamento de Ediciones y Publicaciones. 48 p. ISBN: 978-9962-677-14-7
- Mena-Espino, X. y Couoh-Uicab, Y. 2015. Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la Sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública. *TECNOLOGIA Chihuahua* 9: 91-98. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/ca/revista/tecnociencia-chihuahua/articulo/efectos-de-los-plaguicidas-utilizados-para-el-control-de-la-sigatoka-negra-en-plantaciones-bananeras-en-mexico-asi-como-su-efecto-en-el-ambiente-y-la-salud-publica>
- Morales, L.M., Ullauri Espinoza, M.A. y Rojas, X. 2011. Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo a la Sigatoka Negra en el cultivar Gran Enano (AAA). *Centro Agrícola* 38: 77-84. <https://biblat.unam.mx/es/revista/centro-agricola/articulo/evaluacion-del-efecto-de-extractos-vegetales-como-alternativa-de-manejo-a-la-sigatoka-negra-en-el-cultivar-gran-enano-aaa>
- Patiño H., L.F., Bustamante R., E. y Salazar P., L.M. 2007. Efecto de sustratos foliares sobre la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano (*Musa x paradisiaca* L.) y plátano (*Musa acuminata* Colla). *Agricultura Técnica (Chile)* 67: 437-445. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072007000400012>
- Orozco-Santos, M., García-Mariscal, K., Manzo-Sánchez, G., Guzmán-González, S., Martínez-Bolaños, L., Beltrán-García, M., Garrido-Ramírez, E., Torres-Amezcuca, J.A. y Canto-Canché, B. 2013. La sigatoka negra y su manejo integrado en banano. Libro Técnico Núm. 1. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México.



- 152 p.
- Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C.M. y Bakker, P.A.H.M. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual Review of Phytopathology* 52: 347-375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Quevedo, J., Infante, J.C. y García, R.M. 2018. Efecto del uso predominante de fungicidas sistémicos para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el área foliar del banano. *Agroecosistemas* 6: 128-136. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/agroecosistemas/articulo/efecto-del-uso-predominante-de-fungicidas-sistemicos-para-el-control-de-sigatoka-negra-mycosphaerella-fijiensis-morelet-en-el-area-foliar-del-banano>
- Rodríguez, P. y Cayón, G. 2008. Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano. *Agronomía Colombiana* 26: 256-265. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000200010
- Sánchez, F.E. 2016. Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. *Bionatura*. 1: 135-138. Disponible en: <https://revistabionatura.com/files/lipopeptidos.pdf>
- Sierra, Y., Pérez, E.J., Milanés, P., Rodríguez, M.F. y Álvarez, E. 2014. Alternativas de manejo en el control de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet). *Agrisost* 20: 1-9. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/345315438_Alternativas_de_manejo_en_el_control_de_la_Sigatoka_negra_Mycosphaerella_fijiensis_Morelet
- [SIAP] Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. [Internet]. 2022. Anuario estadístico de producción agrícola. (Consultado el 12 de junio del 2023). Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Stover, R. 1971. A proposed international scale for estimating intensity of banana leaf spot. *Tropical Agriculture* 48: 185-196.
- Susan, P.V., Noa, J.C. y Flores, N. 2017. Estado del cultivo de plátano (*Musa* sp.) en el municipio de Tlapacoyan, Veracruz. *UVserva* 4: 81-83. <http://dx.doi.org/10.25009/uvserva.v0i4.2550>
- Torres, J., Rodríguez, H.A., Rodríguez, E. y Arango, R. 2009. Aspectos bioquímicos de la resistencia del banano (*Musa acuminata*) al ataque del hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Revista Tumbaga* 4: 85-96. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3632059>
- Tsuda, K. y Katagiri, F. 2010. Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 459-465. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.006>
- Zipfel, C. 2008. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology* 20: 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.11.003>
- Zipfel, C. 2009. Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 414-420. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.06.003>

