

## INHIBICIÓN DE *Mycosphaerella fijiensis* EN BANANO ORGÁNICO (*Musa AAA L.*) CON LA APLICACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

### Inhibition of *Mycosphaerella fijiensis* in organic banana (*Musa AAA L.*) with the application of plant growth-promoting bacteria

Iris Esther Marcano<sup>1</sup>, César Antonio Díaz-Alcántara<sup>2</sup>, Ángel Radhamés Pimentel Pujols<sup>3</sup>, Ángel Felipe Vicioso Alcalá<sup>4</sup>, Pedro Antonio Núñez Ramos<sup>5</sup>

#### RESUMEN

El cultivo de banano orgánico (*Musa AAA L.*) contribuye al sustento de las familias, y a la economía a través de las exportaciones en República Dominicana. Las exportaciones de los productos agrícolas tienen limitantes; entre estas el límite máximo permitido de residuos químicos que presenten. Otras limitantes en la producción son la incidencia de plagas y enfermedades a nivel foliar. La principal enfermedad del banano es la Sigatoka (*Mycosphaerella* spp.), siendo la especie de importancia comercial la *fijiensis*. En plantaciones orgánicas se utiliza alternativas biológicas como control de enfermedades y las bacterias PGPRs son una alternativa por promover el desarrollo de plantas y controlar patógenos. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de las bacterias PGPRs sobre el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis in vitro*. Se utilizaron veinte cepas bacterianas con capacidades PGPRs para el ensayo. Se aisló e identificó el hongo mediante reacción de la cadena polimerasa (PCR). El ensayo *in vitro* se llevó a cabo en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) en placa Petri con tres repeticiones por tratamiento, sembrando en el centro de la placa un disco de cada bacteria que se dejó crecer por 24 horas a 28 °C. Transcurrido el tiempo se inoculó el hongo, con una concentración aproximada de  $1 \times 10^5$  FM ml. El ensayo se incubó a temperatura de 28 °C por 14 días. Los datos fueron analizados con el software estadístico Infostat (2018). Se identificó la especie *M. fijiensis* por PCR con iniciadores específicos. En el ensayo *in vitro* para control del crecimiento de Sigatoka, cuatro cepas inhiben el crecimiento DARA33 (*Bacillus licheniformis*), MTF12 (*B. safensis*), PMB10 (*B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*) y MAM11 (*Leclercia adecarboxylata*) y dieciséis cepas no inhiben su crecimiento.

**Palabras clave:** biocontrol, agricultura orgánica, reacción de la cadena polimerasa, Sigatoka negra.

#### ABSTRACT

The cultivation of organic bananas (*Musa AAA L.*) contributes to the livelihood of families, and to the economy through exports in the Dominican Republic. Exports of agricultural products have limitations; these include the maximum permitted limit of chemical residues that are present. Other constraints on production are the incidence of pests and diseases at the leaf level. The main banana disease is Sigatoka (*Mycosphaerella* spp.), the commercially important species being *fijiensis*. In organic plantations, biological alternatives are used as disease control and PGPRs bacteria are an alternative for promoting plant development and controlling pathogens. The aim of the research was to evaluate the effect of PGPRs bacteria on the development of *Mycosphaerella fijiensis in vitro*. Twenty bacterial strains with PGPRs capabilities were used for the assay. The fungus was isolated and identified by polymerase chain reaction (PCR). The *in vitro* assay was carried out in potato dextrose agar (PDA) culture medium in a Petri dish with three replicates per treatment, seeding in the center of the dish a disc of each bacterium that was allowed to grow for 24 hours at 28 °C. After some time, the fungus was inoculated with an approximate concentration of  $1 \times 10^5$  FM ml. The assay was incubated at a temperature of 28 °C for 14 days. The data were analyzed with the statistical software Infostat (2018). The species *M. fijiensis* was identified by PCR with specific primers. In the *in vitro* growth control assay of black Sigatoka, four strains inhibit growth: DARA33 (*Bacillus licheniformis*), MTF12 (*B. safensis*), PMB10 (*B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*) and MAM11 (*Leclercia adecarboxylata*) and sixteen strains do not inhibit their growth.

**Keywords:** biocontrol, organic agriculture, polymerase chain reaction, Black Sigatoka.

<sup>1</sup> ✉ Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo. Centro de Tecnologías Agrícolas, Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, República Dominicana. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6464-7298>. [imarcano80@uasd.edu.do](mailto:imarcano80@uasd.edu.do)

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo, República Dominicana. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5352-0038>. [diazalcantaracesarantonio@gmail.com](mailto:diazalcantaracesarantonio@gmail.com)

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo. Centro de Tecnologías Agrícolas, Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, República Dominicana. [angelpimentel@gmail.com](mailto:angelpimentel@gmail.com)

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo, República Dominicana. [fviciosoa@gmail.com](mailto:fviciosoa@gmail.com)

<sup>5</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad Autónoma de Santo Domingo, Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, República Dominicana. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7580-7931>. [pnunez25@uasd.edu.do](mailto:pnunez25@uasd.edu.do)

## INTRODUCCIÓN

La producción y comercialización de banano orgánico (*M. AAA*) es una de las principales actividades agrícolas en la República Dominicana. Según Navarro (2020), el país es uno de los mayores productores de este rubro a nivel mundial. República Dominicana posee aproximadamente 11 000 hectáreas (ha) certificadas de banano orgánico, representando el 95 % de las exportaciones de la región del Caribe y el 55 % a nivel mundial (Santamaría, 2021; FAO, 2023). Sin embargo, en 2022 se produjo una reducción de un 9 % de las exportaciones provenientes del Caribe, situación preocupante para la región (FAO, 2023). El banano es un producto que contribuye al incremento del sistema económico del país, forma parte de la dieta de los dominicanos y es de gran aceptación en el mercado internacional (BANELINO, 2017).

La producción agrícola global se ve afectada por diversos factores climáticos e incidencia de diferentes plagas y enfermedades (Martínez et al., 2023). Estos componentes son agentes causales de bajos rendimientos y mala calidad de los frutos, haciendo los productos poco competitivos para el mercado de la exportación (Riveros y Arciniegas, 2003). El banano orgánico no es la excepción, ya que es afectado por diversas plagas y enfermedades. El banano es atacado por Sigatoka negra (*M. fijiensis* Morelet), siendo enfermedad muy destructiva (Portal et al., 2012). La enfermedad tiene incidencia a nivel foliar, y para contrarrestar sus efectos es necesario la aplicación de diferentes productos, estos son mayormente de síntesis química, lo cual aumenta los costos de producción, prolifera la contaminación ambiental y el cultivo pierde el carácter de orgánico (Mia et al., 2009).

En ese sentido, una alternativa para reducir los efectos de *M. fijiensis* y el uso de plaguicidas para su control es la utilización de microorganismos benéficos. Entre estos microorganismos se encuentran las bacterias

promotoras de crecimiento vegetal, conocidas por sus siglas en inglés como *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPRs) (Kloepper et al., 1989; Singh, 2013; Beltran y Rodríguez, 2023).

Las bacterias PGPRs actúan mediante diferentes mecanismos promotores del crecimiento vegetal (Singh, 2013) y está demostrado su efecto de biocontrol sobre algunos patógenos (Beneduzi et al., 2012; Tubay, 2021). En base a la utilización y potencial de las PGPRs, se realizó la investigación con el objetivo de evaluar el efecto de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs) sobre el desarrollo de *M. fijiensis* en condiciones *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación de la zona de estudio

Los trabajos fueron realizados en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), Engombe, Santo Domingo Oeste, con las coordenadas geográficas 18.461164 N -69.997392 W. El estudio fue realizado en el período 23 agosto al siete de septiembre de 2019 (14 días).

### Metodología

#### *Colección de muestras y aislamiento del hongo*

Para el ensayo se aisló el hongo causante de la Sigatoka negra de muestras de hojas de banano orgánico procedentes de plantaciones de la Línea Noroeste, República Dominicana. El material vegetal para muestrear debía mostrar síntomas de la enfermedad (Figura 1). Las hojas fueron cortadas con cuchillo de metal, luego fueron envueltas en papel, depositadas en bolsas de plástico, almacenadas en una nevera portátil y luego, trasladadas al laboratorio.

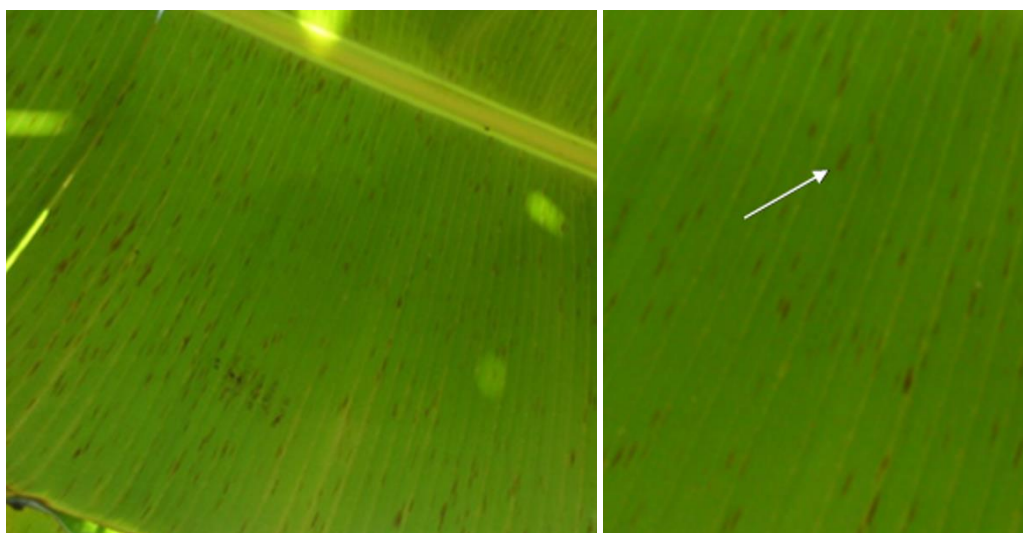


Figura 1. Hoja de banano con síntomas de la enfermedad Sigatoka negra (Izq.) y estrías o rayas negras las de las cuales se aisló el hongo (Der.)

En el laboratorio, las hojas con síntomas de la enfermedad fueron limpiadas con papel toalla estéril (no desinfectadas), cortadas en trozos pequeños y se sembraron directamente en medio de cultivo Agar-agua (AA) en placas de Petri, se incubaron por 24 horas a temperatura  $\pm 24$  °C, según la metodología descrita por Conde-Ferrández et al. (2008). A las 24 horas posteriores a la siembra, se revisaron las placas Petri con una lupa estereoscópica, donde se seleccionaron las estructuras monospóricas del crecimiento fúngico. Estas fueron transferidas a medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) e incubadas por 21 días, esto debido al lento crecimiento del hongo Conde-Ferrández et al. (2008). Luego de la obtención de las colonias del hongo, este fue multiplicado en PDA y conservado para su posterior uso.

#### Identificación de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Una vez crecidas las estructuras derivadas de los

cultivos monospóricos, se utilizó este crecimiento para su identificación morfológica usando un microscopio compuesto. Similar procedimiento fue usado para los micelios y esporas. Luego, se realizó la extracción ácidos desoxirribonucleicos (ADN) del crecimiento fúngico. El hongo fue identificado mediante PCR, amplificando la región ITS (del inglés *Internal transcribed spacer*) del gen 18S del ADN (Pérez-Martínez, 2013). El procedimiento incluyó, colocar el hongo en medio PDA por 21 días, una vez crecida la masa micelial fue recolectada en tubo de microcentrifuga de 1.5 ml. La extracción de ADN se realizó usando el kit de extracción QIAGEN, según el procedimiento sugerido por el fabricante QIAGEN. Para la amplificación del ADN por medio de PCR se usaron iniciadores que amplifican dos regiones del genoma de la especie *M. fijiensis* (Johanson y Jeger, 1993; Arzanlou et al., 2007) y los mismos fueron sintetizados por Invitrogen, en los Estados Unidos (Tabla 1).

Tabla 1. Iniciadores elaborados a partir de secuencias conocidas para la identificación del hongo.

Especie	Iniciadores	Secuencias
<sup>a</sup> Sigatoka negra	MF137	GGCGCCCCCGGAGGCCGTCTA
<sup>a</sup> Sigatoka negra	R635	GGTCCGTGTTTCAAGACGG
<sup>b</sup> Sigatoka negra	MFactF	CTCATGAAGATCTTGGCTGAG
<sup>b</sup> Sigatoka negra	ACTR	GCAATGATCTTGACCTTCAT

<sup>a</sup>Johanson y Jeger (1993); <sup>b</sup>Arzanlou et al. (2007).

Se usaron dos ciclos para la amplificación en PCR: ciclo termal inicial de 94 °C durante 3 min, seguido por 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 1 min y 65 °C a un 1 min; extensión a 72 °C por 2 min; y finalizando una extensión de 72 °C por 5 min. Con los

iniciadores MFactF y ACTR se amplifica una banda de fragmento de ADN entre 300-500 pb (Arzanlou et al., 2007) y con los pares MF137 y R635 entre 1 000-1 500 pb (Johanson y Jeger, 1993).

Los fragmentos amplificados fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1 % (Checa, 2017) con modificaciones, usando 4 µl de bromuro de etidio y sumergidos en buffer TBE 1X. En la comparación de tamaño de los fragmentos se empleó un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb) DNA Ladder de Invitrogen. El voltaje usado fue de 80 durante una hora. La visualización de los fragmentos se realizó por irradiación con luz UV.

#### *Cultivos duales con bacterias PGPRs y el hongo aislado*

Para los ensayos *in vitro* del control de crecimiento del hongo aislado, en la investigación se usaron cepas de bacterias PGPRs aisladas de raíces de plantaciones de banano orgánico de la República Dominicana (Marcano, 2014), la identificación, procedencia y características PGPRs de las cepas se describen en la Tabla 2.

En la preparación del inóculo del hongo, se utilizó el procedimiento descrito por Leiva-Mora et al. (2010), con modificaciones. Se puso el hongo a crecer en medio PDA durante 14 días a 28 °C, pasado el tiempo se preparó una suspensión micelial en agua destilada estéril con las colonias crecidas a una concentración aproximada de 1x10<sup>5</sup> fragmentos de micelio por mililitro (FM ml), de esta suspensión se tomaron 5 ml y se vertieron en Erlenmeyers de 250 ml conteniendo 100 ml caldo de cultivo de papa y Dextrosa (PDB) y se incubó durante 14 días más a 28 °C. Este proceso se realizó para una mayor obtención de micelio, ya que el hongo es de crecimiento lento (Arzate-Vega et al., 2006). Agotado este tiempo el hongo se homogenizó en el medio PDB, obteniendo así una mayor cantidad de inóculo líquido con una concentración de aproximadamente 1x10<sup>5</sup> FM ml.

Tabla 2. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Codificación de la cepa	Identificación de la especie	Lugar de procedencia en República Dominicana	Características de las PGPRs
MAMB12	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	Amina Mao Valverde	Producción de ACC desaminasa y sideróforos
MOLP14	<i>Bacillus sonorensis</i>	La Pinta Montecristi	Producción de sideróforos
FIA22	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	Pueblo Viejo, Azua.	Productora de IAA, ACC desaminasa y sideróforos
T2A12	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	Los Tramojos Azua	Producción de ACC desaminasa y solubilizadora de fosfatos
MAM35	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Amina Mao Valverde	Productora de sideróforo
MAM11	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Amina Mao Valverde	Biocontrol de Sigatoka negra.
DARA44	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	Rabisal Dajabón	Producción de ACC desaminasa y sideróforos.
PMS10	<i>Bacillus licheniformis</i>	Santa María Montecristi	Productora IAA, sideróforos
MOPS22	<i>Pseudomonas mosselii</i>	Pepillo Salcedo Montecristi	Productora IAA, ACC desaminasa y sideróforos
MOPS15	<i>Bacillus aryabhatai</i>	Pepillo Salcedo Montecristi	Productora IAA
PML10	<i>Bacillus aerophilus</i>	Clavellina Montecristi	Productora IAA
PTC14	<i>Bacillus sonorensis</i>	Proyecto C Azua	Productora de sideróforos
PVG12	<i>Bacillus sonorensis</i>	Pueblo Viejo Azua	Producción de ACC desaminasa
MTF12	<i>Bacillus safensis</i>	Tierra Fria Mao Valverde	Biocontrol de Sigatoka negra
PMA13	<i>Bacillus aerophilus</i>	Amina Mao Valverde	Biocontrol de Sigatoka negra
MAM21	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	Amina Mao Valverde,	Producción de ACC desaminasa, sideróforos y Biocontrol de Sigatoka negra
DARA33	<i>Bacillus licheniformis</i>	Rabisal Dajabón	Productora sideróforos y biocontrol de Sigatoka negra
MOSY21	<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	Santa María Montecristi	Solubilización de fosfatos
PTA14	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>Plantarum</i>	Los Tramojos Azua	Productora sideróforos y biocontrol de Sigatoka negra
PMB10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>Plantarum</i>	Amina Mao Valverde	Productora de IAA y sideróforos. Biocontrol de Sigatoka negra

Fuente: Marcano (2014).

Paralelo al crecimiento del hongo, 48 horas antes de la preparación del inóculo fúngico, las bacterias fueron crecidas en medio TSA por 24 horas a 28 °C, pasado este tiempo fueron sembradas en el centro de una placa Petri, conteniendo medio PDA y se incubaron por

24 horas más a la misma temperatura; ya que, las bacterias también se desarrollan en medio PDA (Barquero, 2014). Crecidas las bacterias en medio PDA se procedió a asperjar toda la superficie de las placas con el inóculo fúngico a razón de 1.5 ml por placa. Se

dejó evaporar el exceso de medio PDB de las placas en cabina de flujo laminar y luego se incubaron a 28 °C por 14 días. Se tomaron datos sobre el desarrollo del hongo los 6, 10 y 14 días de establecido el ensayo. Los datos para evaluar este experimento se realizaron de la siguiente manera, si existía un halo de inhibición del crecimiento del hongo en torno a la bacteria se puso un signo positivo (+) si el halo era leve, para moderado (++) y fuerte (+++), (±) para un 50 % y (-) no hubo inhibición del crecimiento.

#### Análisis estadístico

Se utilizó el Software estadístico: Infostat (2018) para el análisis estadístico de los de datos recopilados en la

investigación. Se realizó análisis de conglomerado o dendrograma con los grupos bacterianos que se forman en placa Petri.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Aislamiento de *Mycosphaerella* sp.

Se visualizó el crecimiento de un micelio de color blanco y apariencia algodonosa en la placa Petri (Figura 2A) y al reverso de esta se mostró un color negro con bordes blancos típicos de la enfermedad causada por Sigatoka negra (Figura 2B).

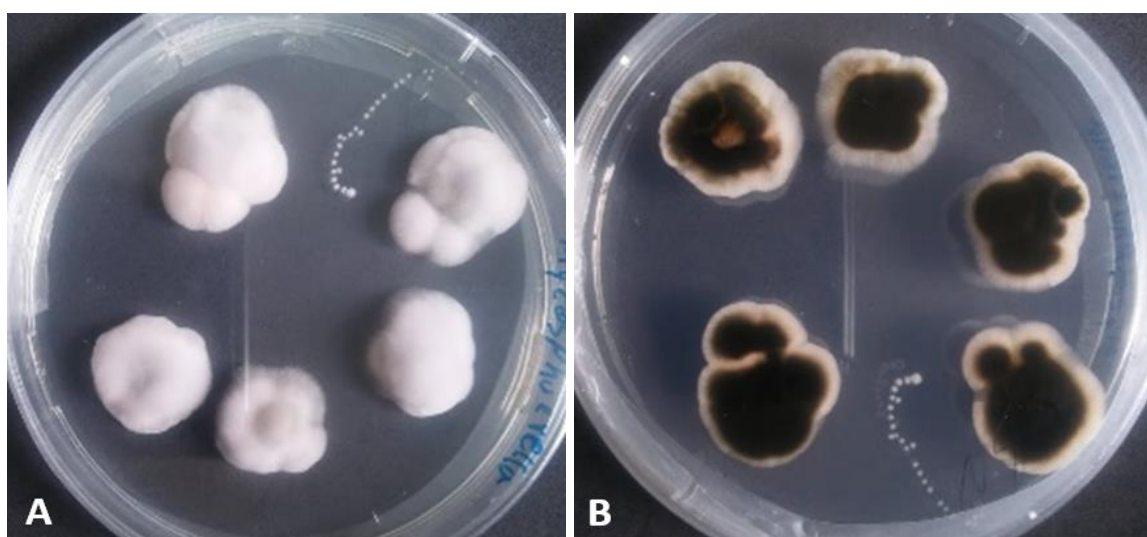


Figura 2. Crecimiento fúngico *Mycosphaerella* sp. en placas Petri a ambos lados después de 14 días a 28 °C: A) crecimiento en la parte superior de las colonias algodonosa del hongo; B) crecimiento negro con bordes blancos del hongo visto desde la base de la placa Petri.

Las características de color del micelio fueron similares a la descrita por Sepúlveda (2016). Por otro lado, Martínez-Bolaños et al. (2012), reporta y describe la forma redondeada para el micelio. El tamaño que presentan las colonias en la figura 2A y 2B, son de aproximadamente 20 días de crecimiento, lo que indica un desarrollo lento, estos resultados coinciden con otros autores, describiendo crecimiento entre 14 y 30 días (Manzo-Sánchez, 2001; Martínez-Bolaños et al., 2012; Arzate-Vega et al., 2006).

### Identificación de *Mycosphaerella* sp.

Las colonias del hongo identificadas presentaron fragmentos de ADN amplificados los cuales

corresponden, según los iniciadores usados, a la especie *Mycosphaerella fijiensis*. En la Figura 3, en las líneas 3 y 4 se produjo una amplificación de la banda de ADN entre 300-500 pb, estos datos se corresponden a los reportados por Arzanlou et al. (2007). En las líneas 5 y 6 (Figura 3) con los iniciadores MF137 y R635 se visualiza una banda de AND amplificada entre los 1000-1500 pb que identifican la misma especie, estos resultados son comparables con los documentados por Martínez-Bolaños et al. (2012) y Johanson y Jeger (1993). Benavides-López (2019), también describe *M. fijiensis*, identificada con estos marcadores específicos y que en la actualidad es identificada como *Pseudocercospora fijiensis*.



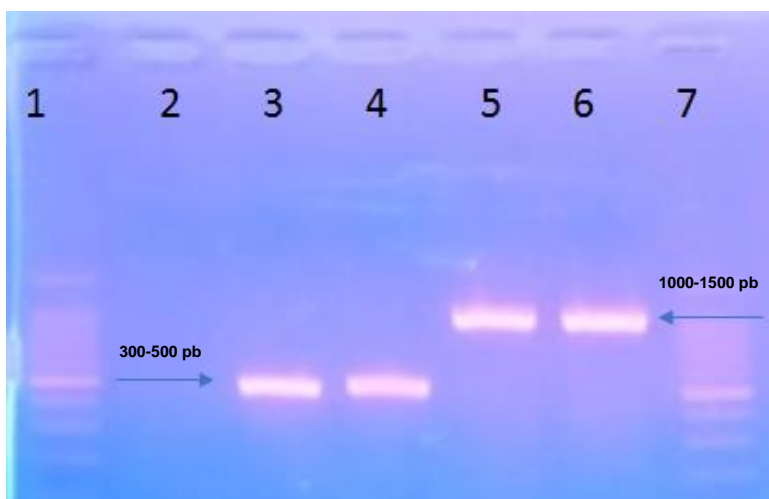


Figura 3. Gel de agarosa evidenciado los fragmentos de ADN. 1 y 7 marcador de peso molecular de 100 pb, 2: blanco; 3, 4: iniciadores MFactF y ACTR amplificación entre 300-500 pb; 5, 6: iniciadores MF137 y R635 amplificación entre 1 000-1 500 pb, ambos pares de iniciadores son identificadores de la especie *M. fijiensis*.

### Ensayo *in vitro* entre bacterias PGPRs y *Mycosphaerella fijiensis* para la inhibición del crecimiento del hongo

En los primeros seis días de evaluación solo cuatro cepas controlaron el crecimiento de *M. fijiensis* en las cinco repeticiones (DARA 33, PMB10, MTF12 y MAM11, estas fueron *Bacillus licheniformis*, *Leclercia adecarboxylata*, *Bacillus safensis* y *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*, respectivamente)

Estos resultados se mantuvieron iguales en todas las repeticiones en las lecturas realizadas a los 10 y 14 días (Figura 4 y Tabla 2). Estos resultados corresponden con los reportados por Marcano (2014), estas cepas tienen el potencial inhibitor del crecimiento del *M. fijiensis*. Según Chávez (2020) y Arbeláez (2018), el uso de las bacterias benéficas y sus diferentes características metabólicas han sido probadas en el control del agente causal de la Sigatoka negra.

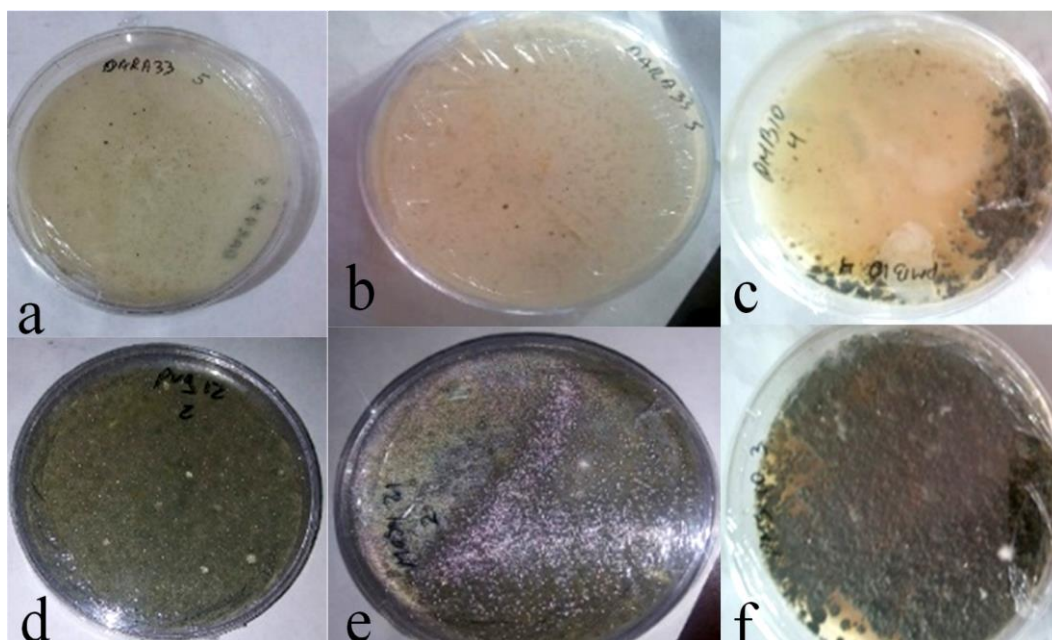


Figura 4. Placas Petri con ensayos *in vitro* entre las bacterias PGPRs y *M. fijiensis*. a, b y c = cepas mostrando el control del crecimiento de *M. fijiensis*, a los 6, 10 y 14 días de lectura del ensayo; d, e, y f = cepas de bacterias que no controlan el crecimiento de *M. fijiensis*, evaluaciones cada 6, 10 y 14 días consecutivamente para todos los casos.

Tabla 2. Datos del ensayo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis* y bacterias PGPRs a los 6, 10 y 14 días.

Bacterias	Primera evaluación 6					Segunda evaluación 10					Tercera evaluación 14				
	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5
MOLP14	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAMB12	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FIA22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2A12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DARA33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MOSY21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAM35	+	±	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-
MAM21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAM11	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±
DARA44	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
PMS10	+	-	-	-	±	±	-	-	-	±	±	-	-	-	-
MOMPS22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MOPS15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PTA14	-	+	±	±	-	-	±	±	±	-	-	-	-	-	-
PML10	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
PTC14	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
PVG12	-	-	-	±	-	-	-	+	-	-	-	-	±	-	-
MTF12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PMB10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
PMA13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = inhibición del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*; - = no inhibición del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*; ± = 50 % inhibición del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*.

En el dendrograma de la Figura 5, se presentan las cuatro cepas bacterianas PGPRs más efectivas en el control de *M. fijiensis* y la relación con su comportamiento ante dicho hongo. Se formaron tres grupos: un primer grupo con las cepas DARA33 (*B. licheniformis*), MTF12 (*B. safensis*) y PMB10

(*B. amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum*), que muestran un control total para el hongo (Figura 5). Un segundo grupo solo incluye a MAM11 (*L. adecarboxylata*) con un control medio, y el tercer grupo con 16 cepas que no controlan el crecimiento del hongo (Figura 5).

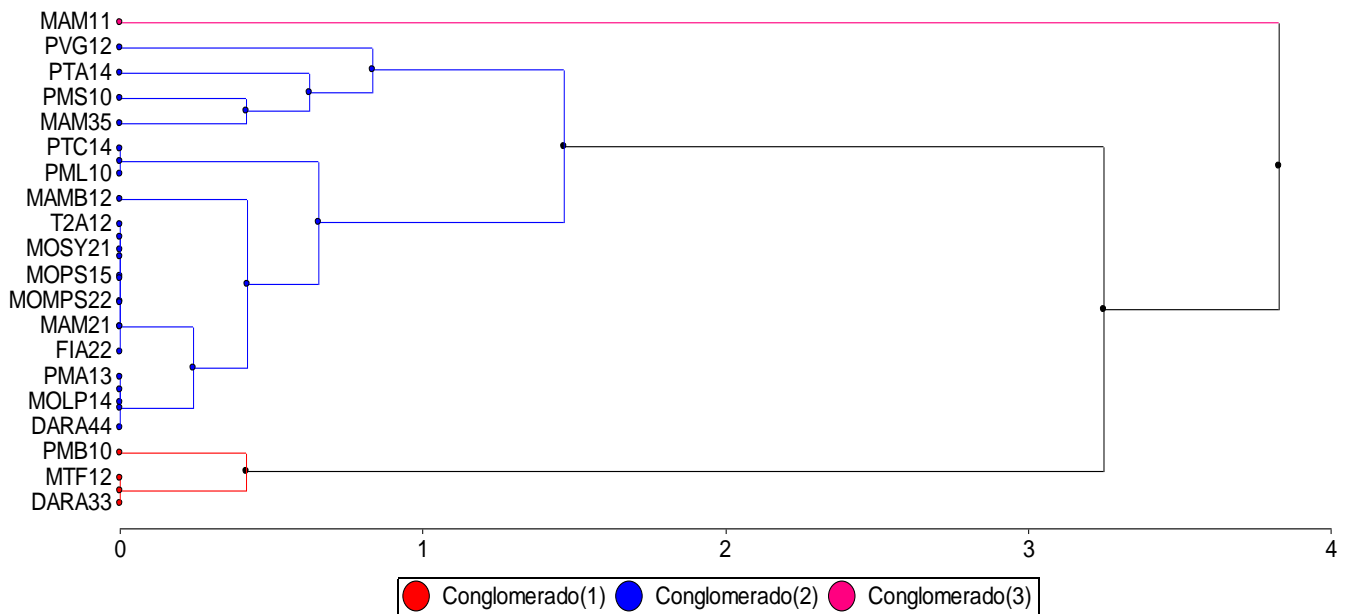


Figura 5. Dendrograma con los grupos bacterianos que se forman según su control sobre el hongo *Mycosphaerella*. ● DARA 33, MTF12, PMB10 (control total); ● MAM11 (control medio) y ● resto de las bacterias (no control).

## CONCLUSIONES

En el uso de los iniciadores MFactF y ACTR, y MF137 y R635 de secuencias conocidas para *M. fijiensis*, se comprobó la presencia e identificación del hongo aislado. El ensayo inhibitor del crecimiento de *M. fijiensis* demostró que las cepas codificadas como DARA33 (*Bacillus licheniformis*), MTF12 (*Bacillus safensis*), PMB10 (*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*) y MAM11 (*Leclercia adecarboxylata*), inhiben el crecimiento de *M. fijiensis* bajo condiciones *in vitro* en laboratorio. En el ensayo inhibitor del crecimiento de *M. fijiensis*, dieciséis cepas no inhiben el crecimiento del hongo, aunque sí poseen propiedades PGPRs. Las cepas inhibitoras del desarrollo del hongo *M. fijiensis*, deben ser estudiadas y ensayadas *in vivo* y observar el comportamiento de estas bacterias como controladoras biológicas de este patógeno.

## Agradecimientos

Al Ministerio de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (MESCyT) y al Fondo Nacional de Innovación y Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDOCyT), por el financiamiento del proyecto “2015-2A5-163”. Además se agradece a la Universidad Autónoma de Santo Domingo, en Especial la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, por ser contrapartida y ejecutor del proyecto. Se agradece a la Asociación de Bananeros Ecológicos de la Línea Noroeste (BANELINO), por facilitar el acceso a las plantaciones de banano orgánico para la realización de los muestreos.

## BIBLIOGRAFÍA

Arbeláez, N. 2018. Evaluación del potencial controlador de extractos metabólicos bacterianos frente a la enfermedad Sigatoka negra en banano causada por *Pseudocercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis* M. Morelet) (en línea). Doctoral dissertation. Disponible en <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/64163/1128283610.2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Arzanlou, M; Abeln, EC; Kema, GH; Waalwijk, C; Carlier, J; Vries, Id; Guzmán, M; Crous, PW. 2007. Molecular diagnostics for the sigatoka disease complex of banana (en línea). *Phytopathology* 97(9):1112-8. Disponible en <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-9-1112>

Arzate-Vega, J; Michel-Aceves, AC; Domínguez-Márquez, VM; Santos-Eméstica, OA. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) *in vitro* e invernadero (en línea). *Revista*

Mexicana de Fitopatología 24:98-104. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/612/61224203.pdf>

BANELINO, Asociación Bananos Ecológicos de la Línea Noroeste. 2017. Orígenes del Banano: variedades y siembra (en línea). Disponible en <https://banelino.com.do/2017/06/26/origenes-del-banano-variedades-y-siembra/>

Barquero, M. 2014. Caracterización y selección de bacterias y hongos micorrícicos aislados en raíces de alubia y pimiento, en la provincia de León, para el desarrollo de biofertilizantes (en línea). Universidad de Salamanca, España. 241 p. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=92958>

Beltran, PA; Jaime, C. 2023. Uso de PGPR como una alternativa biofertilizante en procesos de restauración ecológica (en línea). *Revista Saywa*, 4(5):18–26. Disponible en <https://doi.org/10.54104/saywa.v4n5.1587>

Benavides-López, LF. 2019. Cuantificación temprana de *Pseudocercospora fijiensis* por medio de qpcr en modelos predictivos de Sigatoka negra en plantas de banano (*Musa* AAA) (en línea). Instituto Tecnológico De Costa Rica. Disponible en <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/10838/Cuantificaci%C3%B3n%20temprana%20de%20Pseudocercospora%20fijiensis%20por%20medio%20de%20qpcr%20en%20modelos%20predictivos%20de%20Sigatoka%20negra%20en%20plantas%20de%20banano%20%28Musa%20AAA%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Beneduzi, A; Ambrosini, A; Passaglia, LM. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents (en línea). *Genet Mol Biol.*;35(4(suppl)):1044-51. Disponible en <https://doi.org/10.1590/s1415-47572012000600020>

Chávez, KT; Guato, JJ; Rodríguez, JL; Cedeño, ÁV; Romero, RF; Canchignia, HF. 2020. Rizobacterias con potencial antagonista *in vitro* a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (en línea). *Ciencia y Tecnología*, 13(2):9-16. Disponible en <https://doi.org/10.18779/cyt.v13i2.387>

Checa, A. 2017. Método: Gel de electroforesis Agarosa (en línea). Conogasi.org. Disponible en <https://conogasi.org/articulos/metodo-gel-de-electroforesis-agarosa/>

Conde-Ferráez, L; Grijalva-Arango, R; Raigoza-Flores, NE; James-Kay, AC. 2008. A Simple Method to Obtain Single Conidium Isolates Directly from Banana (*Musa* sp.) Leaves Infected with *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (en línea). *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1):76-78. Disponible en [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092008000100012](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100012)

FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2023. Banano. Análisis del mercado de banano 2022 (en línea). Disponible en <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstream/s/b7c671ae-c669-4f54-a7d2-c2fc9e4a489f/content>

Johanson, A; Jeger, MJ. 1993. Use of PCR for detection of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*, the causal



- agents of Sigatoka leaf spots in banana and plantain (en línea). *Mycol. Res.* 97:670–674. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80145-7](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80145-7)
- Klopper, JW; Lifshitz, R; Zablutowicz, RM. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity (en línea). *Trends in Biotechnology.* 7:39-44. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7)
- Leiva-Mora, M; Alvarado-Capó, Y; Acosta-Suárez, M; Cruz-Martín, M; Sánchez-García, C; Roque, B. 2010. Protocolo para la inoculación artificial de plantas de *Musa* spp. con *Mycosphaerella fijiensis* y evaluación de su respuesta mediante variables epifitológicas y componentes de la resistencia (en línea). *Biotecnología Vegetal.* 10:79-88. Disponible en <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/274/804>
- Manzo-Sánchez, G; Orozco-Santos, M; Guzmán-González, S. 2001. Caracterización Morfológica de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet de la Región Pacífico-Centro de México y su desarrollo en medios líquidos (en línea). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1):66-71. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219109>
- Marcano, IE. 2014. Aislamiento y caracterización de bacterias de la rizosfera de banano (*Musa* sp.) en República Dominicana y selección de cepas para el desarrollo de biofertilizantes (en línea). 269 p. Tesis doctoral. Disponible en <http://hdl.handle.net/10612/4157>
- Martínez, G; Rey, JC; Urias, C; Lescot, T; Roux, N; Salazar, J; Rodríguez, Y. 2023. Banana bunchy top virus: amenaza para las musáceas en América Latina y el Caribe (en línea). *Agronomía Mesoamericana*, 34(1):24. Disponible en <https://dx.doi.org/10.15517/am.v34i1.49577>
- Martínez-Bolaños, L; Téliz-Ortiz, D; Rodríguez-Maciel, JC; Mora-Aguilera, JA; Nieto-Ángel, D; Cortés-Flores, JI; Mejía-Sánchez, D; Nava-Díaz, C; Silva-Aguayo, G. 2012. Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del sureste mexicano (en línea). *Agrociencia*, 46(7):707-717. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952012000700006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952012000700006&lng=es&tlng=es)
- Mia, MAB; Shamsuddin, ZH; Wahab, Z; Marziah, M. 2009. The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime (en línea). *African Journal of Biotechnology.* 8: 5855-5866. Disponible en <https://doi.org/10.5897/AJB09.882>
- Navarro Cedeño, DM. 2020. Exportación de fertilizante orgánico dirigido al mercado bananero de República Dominicana (en línea). Bachelor's thesis, Guayaquil: ULVR, 2020. Disponible en <http://repositorio.ulvr.edu.ec/bitstream/44000/4002/1/T-ULVR-3361.pdf>
- Pérez-Martínez, C; Rojas-Martínez, RI; Alatorre-Rosas, R; Hernández-Rosas, F. Otero Colina, G. 2013. Análisis de la variación intraespecífica de *Conidiobolus coronatus* usando RAPD y secuencias ITS (en línea). *EnfermInfeccMicrobiolClin* 31(6):357-362. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.10.007>
- Portal, O; Acosta-Suárez, M; Ocaña, B; Schäfer, W; Jiménez, E. Höfte, M. 2012. A green fluorescent protein-transformed *Mycosphaerella fijiensis* strain shows increased aggressiveness on banana (en línea). *Australasian Plant Pathology* 41:645-647. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0155-1>
- Riveros, AS; Arciniegas, AM. 2003. Productos naturales como biofungicidas e inductores de resistencia para el manejo de la Sigatoka negra. En: Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos (en línea). Rivas, G; y Rosales, F.E. (eds) pp. 31-32. Disponible en [https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/\\_migrated/uploads/tx\\_news/Manejo\\_convencional\\_y\\_alternativo\\_de\\_la\\_Sigatoka\\_negra\\_nematodos\\_y\\_otras\\_plagas\\_asociadas\\_al\\_cultivo\\_de\\_Mus%C3%A1ceas\\_en\\_los\\_tr%C3%B3picos\\_1242.pdf](https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Manejo_convencional_y_alternativo_de_la_Sigatoka_negra_nematodos_y_otras_plagas_asociadas_al_cultivo_de_Mus%C3%A1ceas_en_los_tr%C3%B3picos_1242.pdf)
- Santamaría, JE. 2021. Análisis económico de los costos de producción de banano orgánico de una finca en República Dominicana.
- Sepúlveda, L. 2016. Caracterización fenotípica de *Mycosphaerella fijiensis* y su relación con la sensibilidad a fungicidas en Colombia (en línea). *Revista Mexicana de Fitopatología* 34(1):1-21. Disponible en <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507.8>
- Singh, J. 2013. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (en línea). *Resonance* 18:275-281. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s12045-013-0038-y>
- Tubay, VA. 2021. Identificación de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raza 1 (Mal de Panamá) y su antagonismo contra PGPR's en condiciones in vitro (en línea). Quevedo, UTEQ. 77p. Disponible en <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6461>

Artículo recibido en: 24 de abril del 2024

Aceptado en: 13 de diciembre del 2024