

## USO DE SUSTRATOS NUTRITIVOS PARA EL DESARROLLO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS Y QUITINOÍTICAS EN EL CONTROL DE LA SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis*) EN BANANO

M.A. Hincapie, M. Soto, F. Elango<sup>1</sup>

Universidad EARTH  
Las Mercedes de Guácimo, Limón, Costa Rica

Recibido 27 de noviembre 2007. Aceptado 17 de enero 2009.

### RESUMEN

La sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) es una de las enfermedades que ocasionan pérdidas en producción y calidad en el cultivo de banano. El objetivo de la presente investigación fue evaluar una estrategia de control de la sigatoka, usando sustratos nutritivos para desarrollar bacterias ácido lácticas y quitinolíticas. Los tratamientos fueron: EM, un Biol 1 con cabezas de camarones, para desarrollar bacterias quitinolíticas y un Biol 2, sin cabezas de camarones, para desarrollar bacteria ácido láctico. Las plantas con el tratamiento del Biol 1 presentaron mejor crecimiento de bacteria quitinolítica y no tenían un significativo aumento en el grado de infección. Con el tratamiento del EM y del Biol 2, se observó un aumento no significativo de bacterias ácido lácticas. Al mismo tiempo el grado de infección fue significativamente más alto con el Biol 2. Estas relaciones entre severidad de infección y poblaciones de bacterias no fue estadísticamente significativa ( $p>0,05$ ).

**Palabras clave:** bacteria ácido láctica, bacteria quitinolítica, control, sigatoka negra.

### ABSTRACT

Black leaf streak (*Mycosphaerella fijiensis*) is the most threatening disease of bananas, causing losses in production and fruit quality. This study evaluated a black leaf streak management strategy involving foliar applications of nutritive substrates in order to increase the beneficial phylloplane population of lactic acid and chitinolytic bacteria. The three treatments included efficient microorganisms (EM), two "Biols" whose composition included shrimp heads for the promotion of chitinolytic bacteria (Biol 1) and a second (Biol 2) without shrimp heads for stimulating the growth of lactic acid bacteria. The plants treated with Biol 1 had the best growth of chitinolytic bacteria and did not have a significant increase in the disease severity. The Biol 2 increased, but not significantly, the lactic acid bacterial population at the end of the six-week evaluation period and had a significant increase in the disease severity. The correlation between bacterial population and disease severity was not statistically significant ( $p>0.05$ ).

**Key words:** lactic acid bacteria, chitinolytic bacteria, control, black leaf streak.

### INTRODUCCIÓN

El surgimiento de las plagas, incluyendo insectos, ácaros, nemátodos y patógenos, en la agricultura se debe a causas como el uso continuo de agrotóxicos y de fertilizantes de alta solubilidad, muerte de los enemigos naturales, nutrición desequilibrada, plantas que reciben un mal tratamiento o aquellas que tienen en su savia productos libres (principalmente aminoácidos)

<sup>1</sup> Contacto Fritz Elango ([felango@earth.ac.cr](mailto:felango@earth.ac.cr))

que los insectos y microorganismos patógenos necesitan para alimentarse y vivir (Suquilanda, 2001). La sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) es una de las enfermedades que actualmente reducen considerablemente el rendimiento y productividad de los cultivos bananeros. Según Arango (2000), el impacto económico sobre los costos de producción que genera el combate de esta enfermedad ocasionó en Costa Rica un incremento del 45 % de los costos por el aumento a la tendencia de utilizar fungicidas. Por otro lado, este aumento de uso de fungicidas ha ocasionado que cada vez más los consumidores se preocupen por la inocuidad de los alimentos, lo que ha generado exigencias en el mercado hacia una producción orgánica y de alta calidad (Arango, 2000).

Para la regulación biológica de patógenos biotróficos, la técnica consiste en el uso de microorganismos antagonistas productores de sustancias antibióticas o enzimas líticas que actúen sobre sus conidias o tubos germinativos en su fase epífita de crecimiento. Por ejemplo, el empleo de microorganismos productores de quitinazas o glucanasas en la regulación de hongos basidiomicetos y ascomicetos ha demostrado ser una estrategia útil, ya que la pared celular de dichos hongos está constituida por microfibrillas de quitina y glucanos, lo que los hace sensibles al ataque de estas enzimas (Patiño *et al.*, 2006).

Desde el momento en que la sigatoka negra empezó a convertirse en un problema no solo productivo, sino que también económico, generó una creciente necesidad de investigar sobre métodos para combatirla. Recientes investigaciones han presentado resultados que indican que esta enfermedad se podría manejar por medio de bacterias lácticas, quitinolíticas y glucanolíticas, que se presentan en la filosfera de las musáceas, las cuales son capaces de degradar la quitina y glucanos presentes en la pared celular de las ascosporas de la sigatoka (Patiño, 2006). También, se están realizando estudios sobre la efectividad de diferentes microorganismos, especialmente bacterias, entre ellas algunas de los géneros *Serratia* y *Bacillus* con capacidad glucanolítica y quitinolítica, como agentes de control biológico de la sigatoka negra (SENASA, 2003).

Al mismo tiempo, se ha demostrado que las poblaciones del microorganismo antagonista y la efectividad de su acción biorreguladora pueden ser incrementadas mediante la aplicación de sustratos nutritivos (bioles) en forma foliar, que favorezcan nutricionalmente al antagonista. (Patiño *et al.*, 2006). En Colombia, Arango (2002) evaluó la utilización de los sustratos (melaza + quitina + leche) y (quitina + glucano + nitrato de calcio) alternados con la aplicación de los fungicidas tradicionales, los cuales permitieron reducir en 40 % la aplicación de estos, convirtiéndose en una alternativa de gran potencial para el combate de la enfermedad.

Conociendo el constante aumento de los costos de producción de banano a causa del control de la sigatoka y de la creciente tendencia por el consumo de alimentos libres de químicos, se pretende con esta investigación evaluar una alternativa sostenible para controlar la sigatoka por medio de sustratos nutritivos (bioles). El objetivo fue incrementar las bacterias ácido lácticas y quitinolíticas que se encuentran en la hoja de banano en pocas poblaciones, para que ayuden a controlar la sigatoka negra por medio de su acción antagonista, disminuyendo así el uso de fungicidas para el control de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se encontraba ubicado dentro del campus de la Universidad EARTH (10°12' norte, 83°37' oeste y una altura de 50 msnm) en Guácimo, Limón, dentro del bloque #4 de la Finca Agrocomercial. Esta área se presenta condiciones de precipitación promedio de 3200 mm

anuales, humedad de 80 % y temperaturas que oscilan entre los 22 °C y 30 °C (Rodríguez, 2007). Las plantas de banano en el área experimental corresponden a las variedades “Williams” y “Gran enano”.

Se utilizaron cuatro tratamientos para analizar el efecto de los sustratos nutritivos en el incremento de las poblaciones de bacterias ácido lácticas y quitinolíticas en el filoplano del banano (Cuadro 1). El diseño experimental del estudio fue mediante un diseño de bloques completamente al azar, en donde se trabajó con 4 tratamientos y 6 repeticiones. Cada repetición estaba constituida por 20 plantas, utilizándose en total 480 plantas.

**Cuadro 1.** Preparación de los tratamientos.

Tratamiento	Bacteria	Preparación
T1	EM: fuente de bacterias ácido lácticas bajo un proceso de fermentación	Activación del EM: 5 L de EM, 5 L de melaza y 90 L de agua
T2	Biol 1: cabezas de camarones que tienen un alto contenido de quitina y fuente de las bacterias quitinolíticas	50 kg estiércol bovino, 1 L de EM, 1 kg MgSO <sub>4</sub> , 1 kg de urea, 0,25 kg H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , 0,25 kg ZnSO <sub>4</sub> , 1 kg KNO <sub>3</sub> y 50 kg de cabezas de camarones en 200 L de agua
T3	Biol 2: desarrollo de las bacterias lácticas bajo un proceso de fermentación	50 kg estiércol bovino, 1 L de EM, 1 kg MgSO <sub>4</sub> , 1 kg de urea, 0,25 kg H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , 0,25 kg ZnSO <sub>4</sub> y 1 kg KNO <sub>3</sub> en 200 L de agua
T4	Testigo	Ningún tipo de aplicación

Para realizar las aplicaciones en todos los tratamientos, se utilizó la máquina electrostática (bomba de motor), la cual tiene capacidad para realizar aplicaciones de 18 L de soluciones concentradas. Durante la aplicación de los sustratos, el aplicador mantenía un paso constante y corto en todo el trayecto, para aplicar 15 L de cada sustrato en los seis bloques de cada tratamiento.

Antes de iniciar las aplicaciones, se determinó el total de hojas por cada planta y la hoja más joven enferma (HMJE). Seguidamente del muestreo inicial se procedió a realizar las aplicaciones de los sustratos semanalmente, durante seis semanas. Esta evaluación se realizó cada 15 días, durante ocho semanas. Se seleccionaron cinco plantas de cada repetición, evaluándose un total de 120 plantas en cada evaluación. Al mismo tiempo se evaluó la severidad de la sigatoka por medio de la metodología de Stover modificada por Gauhl (1992). Esta metodología permitió evaluar la incidencia y severidad por medio de una estimación visual del área foliar enferma en todas las hojas de la planta próxima a la floración, exceptuando la hoja candela. (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Escala de los grados de infección para evaluar sigatoka negra. †

Grado de Ataque	Intensidad de Ataque
0	0 % sin síntoma
1	< 1 % rayas y/o hasta 10 manchas
2	1 % a 5 % área foliar atacada
3	6 % a 15 % área foliar atacada
4	16 % a 33 % área foliar atacada
5	34 % a 50 % área foliar atacada
6	> 50 % área foliar atacada

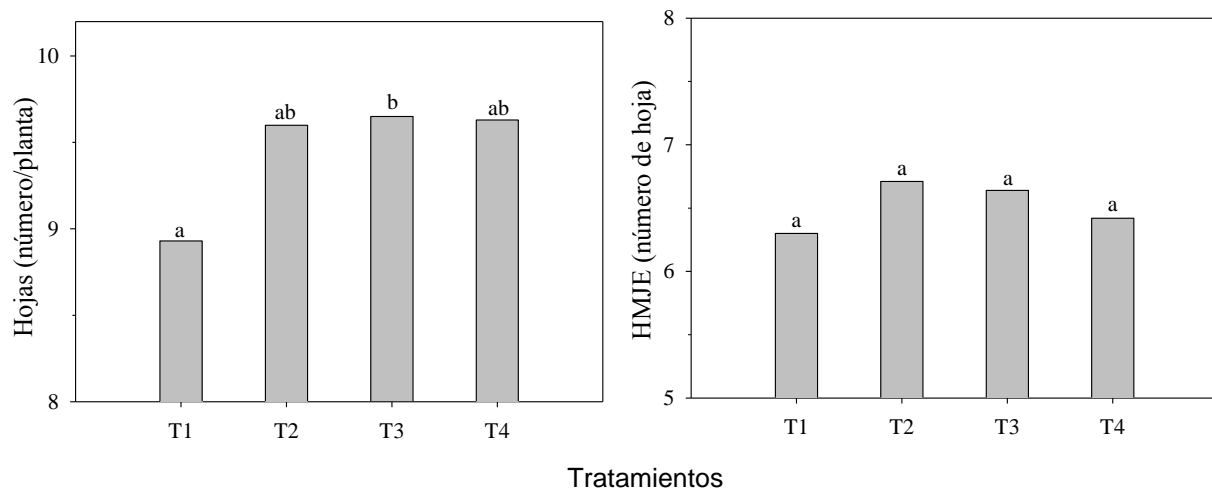
† Gauhl (1992).

También se realizó un muestreo foliar para conocer las poblaciones de bacterias que se encontraban en las hojas naturalmente. Después de la primera aplicación se realizaban muestreos cada tres semanas. Por cada repetición se seleccionaron cinco plantas al azar y por medio del método destructivo, extrayendo un trozo de hoja, se obtuvo 5 g de la hoja no. 5 por planta. Se evaluaron las poblaciones de bacterias ácido lácticos y quitinolíticas en la filósfera de banano según en la metodología usada por Patiño *et al.* (2006).

El análisis estadístico realizado sobre las variables correspondió al modelo de análisis de la varianza (ANOVA) para un diseño de bloques completos al azar (DBCA). El modelo estadístico usado para la determinación del análisis de las comparaciones fue el Tukey de un programa estadístico (Infostat, 2004).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de hojas fue una de las variables evaluadas, ya que esta se encuentran relacionada con la producción de la planta, al ser éstas las encargadas de la actividad fotosintética. Al inicio, el tratamiento en donde se iba a realizar las aplicaciones con EM (T1) presentó el menor número de hojas, en comparación con los otros tratamientos que fueron establecidos para realizar las distintas aplicaciones. Durante las seis semanas del estudio, se determinó que la variación en el número de hojas durante el tiempo en cada tratamiento no fue significativa. Al finalizar las mediciones, el Biol 2 (T2) presentó el mayor número de hojas y esto fue significativamente diferente que el número de hojas en T1 (Figura 1). Sin embargo, no se podría afirmar que los distintos sustratos aplicados tuvieron efecto sobre el número de hojas, ya que desde antes de realizar las aplicaciones, los bloques en donde se encontraba el T1 presentaban el menor número de hojas.

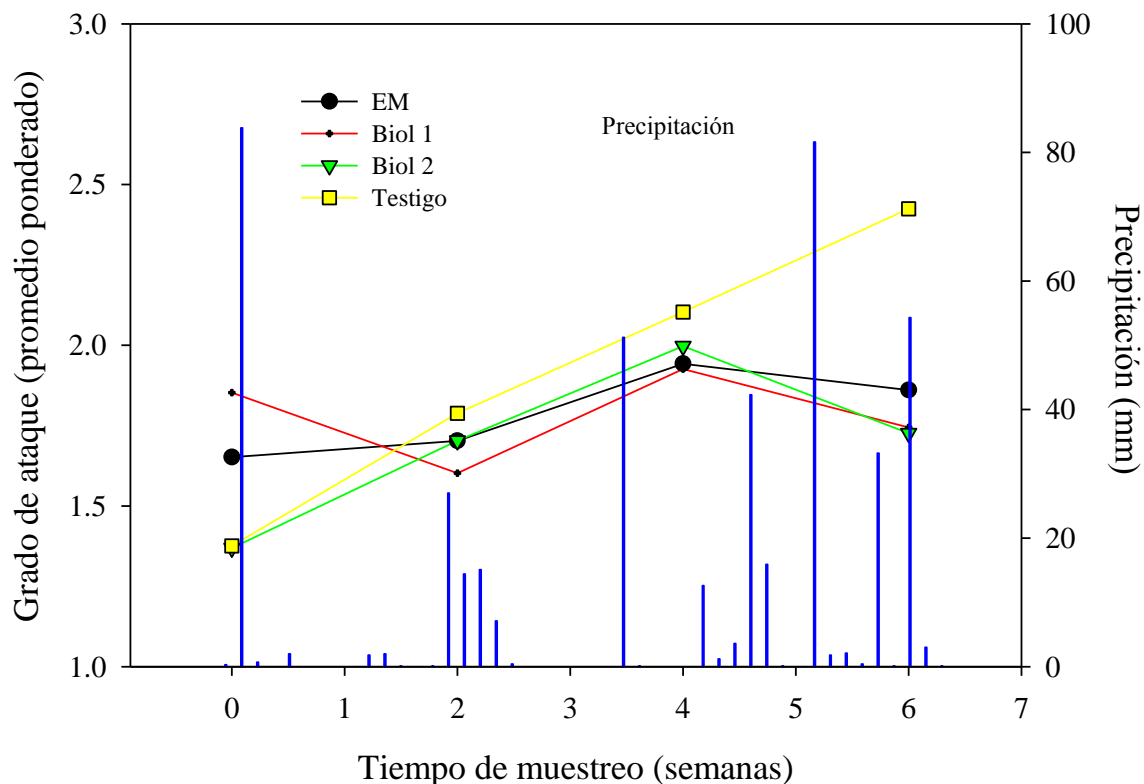


**Figura 1.** Número de hojas por tratamiento y número de la hoja más joven enferma (HMJE) durante el tiempo de muestreos (barras con letras diferentes muestran diferencias significativas,  $p < 0,05$ ).

Para estimar el grado de severidad de la enfermedad, se evaluó la hoja más joven enferma (HMJE). Este parámetro permite conocer la agresión de la enfermedad desde sus inicios en la hoja más joven que se encuentra afectada por sigatoka. Antes de iniciar las aplicaciones, el testigo (T4) fue el que presentó la hoja más joven enferma. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos y entre las distintas mediciones realizadas (Figura 1). Con el tratamiento T1 (EM) se detectó indicios de la enfermedad desde la hoja 6 lo que podría afectar el número de hojas aptas que llegarán a la época de la parición.

El promedio ponderado de grado de ataque de infección fue otra variable evaluada para determinar la severidad de la sigatoka en cada uno de los tratamientos. La infección en el testigo (T4) continuaba aumentando durante este período y tenía infección significativamente más alta al fin de período de estudio (Figura 2). Igual que para el T4, la incidencia de infección en las plantas con el Biol 2 (T3) fue significativamente más alta al fin del período de estudio. Las incidencias de infección en las plantas con los otros dos tratamientos no aumentaron significativamente durante el período de estudio.

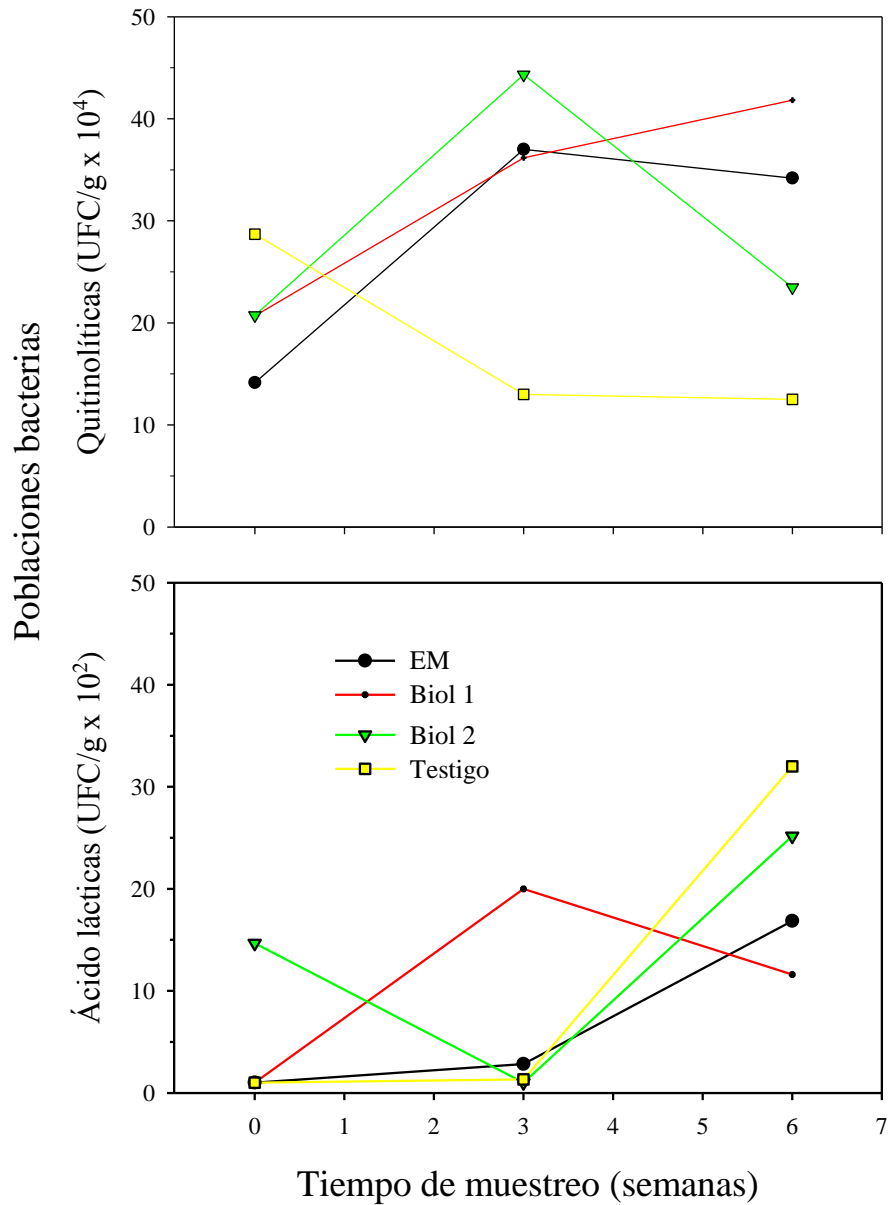
Durante las primeras mediciones, ocurrieron incidencias aisladas de precipitación, mientras entre el tercer y cuarto período de mediciones hubieron precipitación continuo (Figura 2). La humedad relativa del ambiente era alta, 90 %, para los meses del estudio, y la temperatura oscilaba en 32 °C. Las condiciones de alta precipitación, humedad y temperatura se favorece la germinación de las esporas de sigatoka (SENASA, 2003). Sin embargo, los tratamientos con EM (T1) y con quitina (T2) efectivamente impidieron un aumento en la incidencia de infección bajo esas condiciones (Figura 2).



**Figura 2.** Comparación del promedio ponderado de grado de ataque en cada uno de los tratamientos a través del tiempo.

Para hacer una relación de las poblaciones de bacterias quitinolíticas y ácido lácticas en la disminución de los niveles de severidad de la enfermedad, se determinaron las poblaciones de bacterias quitinolíticas y ácido lácticas a través del tiempo. De todos los tratamientos, el Biol 1 (T2) fue el que presentó un crecimiento en las poblaciones de bacterias quitinolíticas durante las tres mediciones (Figura 3). La adición de cabezas de camarones al sustrato contiene quitina que promueve el desarrollo de estas bacterias. Sin embargo, durante el período de estudio, no hubo diferencias significativas en el crecimiento de las bacterias ni en este tratamiento ni en los otros tratamientos. Tampoco existieron diferencias significativas entre los tratamientos en las distintas mediciones realizadas.

El Biol 1 (T2) permitió un crecimiento a través del tiempo de las bacterias quitinolíticas sobre el filoplano (Figura 3). Al relacionarse este crecimiento con el control de la enfermedad (Figura 2), se anotó que no hubo un aumento en el grado de infección como observó con T3 y T4. Estadísticamente se realizó un análisis de probabilidad para determinar la relación entre el crecimiento de estas bacterias con el promedio de infección en las plantas. Sin embargo, la correlación entre las poblaciones de bacterias quitinolíticas en el control de la sigatoka no fue significativa.



**Figura 3.** Poblaciones de bacterias quitinolíticas y ácido lácticas a través del tiempo en cada uno de los tratamientos.

Antes de realizar la primera medición, las poblaciones de ácido lácticas sobre el filoplano de banano se encontraban muy bajas (Figura 3). Tres semanas después de iniciar las aplicaciones con los distintos sustratos, las poblaciones de ácido lácticas en el T2 (Biol 1) y T4 (testigo) se incrementaron en mayor proporción que los otros tratamientos (Figura 3). Sin embargo, no fue significativo el cambio de poblaciones de bacterias en el tiempo de estudio en ninguno de los tratamientos. Tampoco existieron diferencias significativas entre los tratamientos en las distintas mediciones realizadas.

Se realizó una relación del efecto de las bacterias ácido lácticas del EM (T1) y del Biol 2 (T3) con el promedio ponderado de infección en las plantas. Las poblaciones de ácido lácticas en el

tratamiento EM (T1) aumentaron progresivamente (Figura 3). Al mismo tiempo, la severidad de la enfermedad en este tratamiento no aumentó significativamente (Figura 2). Sin embargo, al realizarse un estudio estadístico de probabilidad de la relación entre estas variables, encontró que el incremento de las poblaciones de bacterias ácido lácticas en el control de la sigatoka en el tratamiento EM (T1) no fue significativo.

Antes de iniciar las aplicaciones, las poblaciones de estas bacterias en el tratamiento Biol 2 (T3) se encontraban bajas; sin embargo, al transcurrir las aplicaciones en este tratamiento disminuyeron aún más las poblaciones que se encontraban inicialmente (Figura 3). Al mismo tiempo la infección en las plantas fue significativamente más alta con este tratamiento (Figura 2) indicando que esto no tenía una influencia en la disminución del nivel de infección.

### CONCLUSIONES

Las poblaciones de bacterias quitinolíticas presentaron la mejor tendencia de crecimiento a través del tiempo en el tratamiento Biol 1. Sin embargo, no hubo diferencia significativa de las poblaciones de estas bacterias entre los tratamientos. Por otro lado, las bacterias ácido lácticas presentaron mejor tendencia de crecimiento en el tratamiento EM, pero igual, no hubo diferencia significativa en las poblaciones de bacterias entre tratamientos ni entre las mediciones.

Al realizar una relación del efecto de las poblaciones de las bacterias con el nivel de incidencia, se concluyó que en el tratamiento Biol 1, a medida que aumentaban las poblaciones de bacterias quitinolíticas, al mismo tiempo no tenía un aumento significativo en el grado de infección de la enfermedad. A pesar de que la interacción estadísticamente no fue significativa, se genera la idea del comportamiento de crecimiento de esta bacteria y su potencial efecto en la reducción de la sigatoka en banano.

### LITERATURA CITADA

- Arango, O. 2000. *Manejo de sustratos para el control biológico de sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en el cultivo del banano (Musa AAA)* [Tesis Mag. Sc.]. Turrialba (CR) : CATIE. [consultado 11 febrero 2007]. Nota: también disponible en el *World Wide Web*: <<http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rev61/tesis.pdf>>.
- Arango, M. 2002. Alternativas de manejo para el control biológico de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano (Musa AAA) [en línea]. Medellín (CO) : Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. [consultado 19 julio 2007]. Disponible en el *World Wide Web*: <[http://musalit.inibap.org/pdf/IN030017\\_es.pdf](http://musalit.inibap.org/pdf/IN030017_es.pdf)>.
- Gauhl, F. 1992. *Epidemiología y ecología de la sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en plátano (Musa sp.) en Costa Rica*. Traducido por J. Espinosa. Panamá : UPEB. 80 p. ISBN 90008363.
- InfoStat. 2004. *Manual del usuario InfoStat, versión 2004* [programa de cómputo]. 2ª ed. Córdoba (AR): Universidad Nacional de Córdoba.
- Patiño L.; Collazos J.; Piedrahita R. y Bustamante E. 2006. *Bacterias líticas y sustratos en la filósfera de banano y plátano para el control de la sigatoka negra*. Medellín (CO) : Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. 140 p.
- Rodríguez, W. 2007. [Datos climáticos promedios registrados en Guácimo]. Universidad EARTH, Unidad de Ingeniería Agrícola. Datos en bruto no publicados.



- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, PE). 2003. *Sigatoka negra del plátano* [en línea]. Lima (PE). [consultado 03 septiembre 2007]. Disponible en el *World Wide Web*: <[http://www.senasa.gob.pe/Sanidad\\_vegetal/programas\\_fitosanitarios/ci\\_sigatoka\\_negra\\_platano/sigatoka\\_negra\\_platano.htm](http://www.senasa.gob.pe/Sanidad_vegetal/programas_fitosanitarios/ci_sigatoka_negra_platano/sigatoka_negra_platano.htm)>.
- Suquilanda M. 2001. Manejo *Alternativo de la sigatoka negra* [en línea]. Proyecto SICA Banco Mundial. [consultado 20 agosto 2007]. Disponible en el *World Wide Web*: <[http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/organicos/organicos\\_ecuador/sigatoka\\_organico.htm](http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/organicos/organicos_ecuador/sigatoka_organico.htm)>.