

Mixture of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) alcoholic extracts in the control of black Sigatoka in 'Macho' plantain

Mezcla de extracto alcohólico de clavo (*Syzygium aromaticum*) y ajo (*Allium sativum*) en el control de la Sigatoka negra en plátano 'Macho'

María de Lourdes Adriano-Anaya, Sandra Matías-Castillo, Benjamín Moreno-Castillo, Alfredo Vázquez-Ovando, Miguel Salvador-Figueroa*, Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Boulevard Príncipe Akishino S/N Col. Solidaridad 2000, Tapachula Chiapas, CP. 30798, México.

*Corresponding author: miguel.salvador@unach.mx.

Received: July 04, 2022.

Accepted: December 14, 2022.

Adriano-Anaya MdeL, Matías-Castillo S, Moreno-Castillo B, Vázquez-Ovando A and Salvador-Figueroa M. 2023. Mixture of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) alcoholic extracts in the control of black Sigatoka in 'Macho' plantain. Mexican Journal of Phytopathology 41(1): 82-92.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2207-3>

First DOI publication: December 24, 2022.

Primera publicación DOI: 24 de Diciembre, 2022.

Abstract. The incidence and severity of the Black Sigatoka (BS) was assessed in plantain plants "Macho" variety, sprayed with a mixture of alcoholic extracts of clove ($36 \mu\text{g}_{\text{clove}} \text{mL}^{-1}$) and garlic ($150 \mu\text{g}_{\text{garlic}} \text{mL}^{-1}$) under field conditions. Three treatments were evaluated: foliar application every 7 days (T1), every 14 days (T2) and without extracts or control (T3). Initially, the experimental

Resumen. Bajo condiciones de campo se evaluó la incidencia y severidad de Sigatoka Negra (SN) en plátano 'Macho', asperjado con la mezcla del extracto alcohólico de clavo ($36 \mu\text{g}_{\text{clavo}} \text{mL}^{-1}$) – ajo ($150 \mu\text{g}_{\text{ajo}} \text{mL}^{-1}$). Tres tratamientos fueron establecidos: aplicación cada 7 días (T1), cada 14 días (T2) y sin mezcla o control (T3). Las plantas utilizadas tenían 3 meses de edad y el trabajo concluyó, posteriormente, a los 238 días. La incidencia y severidad de la SN, el número total de hojas, la hoja más joven sin SN y el tiempo a florecimiento se determinaron cada 14 día. En relación al T3, las plantas del T1 tuvieron 20.5 y 25.3% menos incidencia y severidad de SN y, las del T2, 11.4 y 22.6% menos. El número de hojas totales fue 9.3, 8.8 y 8.5 y la hoja más joven con SN fue 7.2, 6.4 y 5.6 para T1, T2 y T3, respectivamente. Los días a florecimiento fueron 140 para T1 y 182 para T2. Los resultados muestran el potencial de la mezcla de los extractos alcohólicos de ajo y clavo como alternativa para el control de la SN.

plants were 3 months-old and the experiment concluded 238 days later. Every 14 days the incidence and severity of BS, the total number of leaves, the youngest leaf without symptoms and the time to flowering were measured. In relation to the plants of T3, the weighted average incidence and severity of BS were lower by 20.5 and 25.3% for T1 and 11.4 and 22.6% for T2, respectively. The average of total leaves was, 9.3, 8.8 and 8.5 and the youngest leaf with disease symptoms were 7.2, 6.4 and 5.6 for T1, T2 and T3, respectively. The days to flowering after the beginning of the experiment were 140 for T1 and 182 for T2. The results show the potential of using the alcoholic extracts of garlic and clove as an alternative for the control of the BS.

Keywords. *Pseudocercospora fijiensis*, incidence, severity, plant extracts.

Black Sigatoka (BS) is a disease caused by the fungus *Pseudocercospora fijiensis*. It is present in plantain and banana plantations around the world and can cause the total loss of the crop (Marín *et al.*, 2003). The reduction of the photosynthetic area is the reason why *P. fijiensis* is so harmful (Hidalgo *et al.*, 2006).

Conventional control of BS is based on cultural practices and the application of chemical fungicides. The first consists, primarily, in periodically cutting the parts of the leaves with presence of advanced lesions of the disease, finally removing the whole leaf. The second is carried out through the alternate application of protective and systemic fungicides, which can also be applied together in a mixture (Orozco-Santos *et al.*, 2008). These fungicides, although effective, contaminate the environment (Geissen *et al.*, 2010) and are used with increasing frequency (Martínez and Guzmán, 2010). For the

Palabras clave: *Pseudocercospora fijiensis*, incidencia, severidad, extractos de plantas.

La Sigatoka Negra (SN) es una enfermedad provocada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*. Esta enfermedad está presente en las plantaciones de plátano y banano de todo el mundo y puede causar la pérdida total de la cosecha (Marín *et al.*, 2003). La reducción del área fotosintética es la razón por la cual *P. fijiensis* resulta tan dañino (Hidalgo *et al.*, 2006).

El control convencional de la SN se basa en prácticas culturales y en la aplicación de fungicidas químicos. La primera consiste, primordialmente, en cortar periódicamente las secciones de hojas con presencia de lesiones avanzadas de la enfermedad, concluyendo con la eliminación total de la hoja. La segunda se realiza mediante la aplicación alternada, o en mezcla, de fungicidas protectores y sistémicos (Orozco-Santos *et al.*, 2008). Estos últimos, aunque eficaces, son contaminantes del ambiente (Geissen *et al.*, 2010) y cada vez se utilizan con más frecuencia (Martínez y Guzmán, 2010). Por esta última razón el control de SN representa entre el 35 - 45% del costo de producción del fruto (Garrido-Ramírez *et al.*, 2011).

Una alternativa de control de SN es el uso de productos biológicos, entre los que se encuentran tanto microorganismos antagonistas y sus metabolitos, como extractos de plantas (Okigbo y Emoghene, 2003). En laboratorio, los extractos de *Commelina difusa* (canutillo), *Momordica charantia* (melón amargo), *Pavonia* spp. (flor de tigre), *Ple-nax* sp., *Piper hispidum* (cigarrillo), *Pelargonium peltatum* (geranio hiedra), *Sida rhombifolia* (escobilla), *Syzygium aromaticum* (clavo) y *Topobea discolor* (amarraboy), inhibieron la germinación de esporas y el crecimiento de la colonia de *P. fijiensis* (Mosquera *et al.*, 2009; Riveros y Arciniegas, 2003).

latter reason, the control of BS represents between 35-45% of the production cost of plantains and bananas (Garrido-Ramírez *et al.*, 2011).

An alternative method of BS control is the use of biological products, including antagonistic microorganisms and their metabolites, as well as plant extracts (Okigbo and Emoghene, 2003). In the laboratory, extracts from *Commelina diffusa* (canutillo), *Momordica charantia* (bitter melon), *Pavonia* spp. (tiger flower), *Plenax* sp., *Piper hispidum* (cofalillo), *Pelargonium peltatum* (ivy geranium), *Sida rhombifolia* (arrowleaf sida), *Syzygium aromaticum* (clove), and *Topobea discolor* (amarraboyo) inhibited the germination of spores and the colony growth of *P. fijiensis* (Mosquera *et al.*, 2009; Riveros and Arciniegas, 2003).

Under shade house conditions, Vargas *et al.* (2009) evaluated the ethanolic extracts of leaves of *Heliotropium indicum* (Indian heliotrope), *Lippia origanoides* (Mexican oregano), *Ricinus communis* (castor bean), and their combinations, in three-month-old “Harton” plantain plants infected with *P. fijiensis*. They found that the lowest weighted average incidence of the infection, and the highest position of the youngest diseased leaf were obtained with *H. indicum* + *R. communis*, while the highest total number of leaves was obtained with the treatment with *H. indicum* + *L. origanoides* + *R. communis*. In three-months-old “Gran Enano” banana clone inoculated with conidia of *P. fijiensis*, Morales *et al.* (2011) found that spraying every 15 days the aqueous extracts of cundeamor (*Motorbike charantia*), sage (*Salvia officinalis*), and lemon grass (*Cymbopogon citratus*) yielded a similar response to treatment with Mancozeb.

Likewise, the combination of alcoholic extracts of clove (*S. aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*), in concentrations of 36 µg mL⁻¹ and 150 µg mL⁻¹, respectively, reduced the colony growth

A escala de casa sombra Vargas *et al.* (2009) evaluaron los extractos etanólicos de hojas de *Heliotropium indicum* (cola de mico), *Lippia origanoides* (orégano de México), *Ricinus communis* (higuerilla) y sus combinaciones, en plantas de plátano “Hartón” de tres meses de edad infectadas con *P. fijiensis*, encontrando que el menor valor del promedio ponderado de la infección, y la mayor posición de la hoja más joven enferma se obtuvo con *H. indicum* + *R. communis*, y el mayor número total de hojas se observó en el tratamiento con *H. indicum* + *L. origanoides* + *R. communis*. En banana clon Gran Enano de tres meses de edad e inoculados con conidios de *P. fijiensis*, Morales *et al.* (2011), encontraron que la aspersión cada 15 días de los extractos acuoso de cundeamor (*Motorbike charantia*), salvia (*Salvia officinalis*) y caña santa (*Cymbopogon citratus*) tuvieron una respuesta similar al tratamiento con Mancozeb.

Asimismo, la combinación de extracto alcohólicos de clavo (*S. aromaticum*) y ajo (*Allium sativum*), en concentraciones de 36 µg mL⁻¹ y 150 µg mL⁻¹, respectivamente, redujeron hasta 41% el desarrollo de la colonia de *P. fijiensis* (Adriano-Anaya *et al.*, 2018). Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar la incidencia y severidad de Sigatoka Negra en plantas de plátano ‘Macho’, asperjadas con la mezcla del extracto alcohólico de clavo – ajo, bajo condiciones de campo.

El trabajo se realizó en la Estancia Agroecológica “AYOL” de Tapachula, Chiapas (14°49’44.7”N 92°17’48.5”W; 76 msnm; clima cálido húmedo con abundantes lluvias en verano), durante el periodo de septiembre del 2018 a mayo del 2019. Las plantas empleadas fueron hijuelos tipo “espada” de plátano ‘Macho’ de tres meses de edad (1.0-1.2 m de altura) sembradas en parcelas de 100 m² (20 plantas por surco y tres surcos) con distancias de 1.5 m entre plantas y 2.0 m entre surcos. Todas las plantas fueron fertilizadas bimestralmente con

of *P. fijiensis* by up to 41% (Adriano-Anaya *et al.*, 2018). Therefore, the present work aimed to evaluate the incidence and severity of Black Sigatoka in 'Macho' plantain plants sprayed with a mixture of alcoholic extract of clove and garlic, under field conditions.

The work was carried out at the Estancia Agroecológica "AYOL" in Tapachula, in the state of Chiapas (14° 49' 44.7" N 92° 17' 48.5" W; 76 masl; warm humid climate with abundant rains in summer), between September 2018 and May 2019. The plants used were three months old 'Macho' plantain sword type suckers (1.0-1.2 m high) planted in 100 m² plots (20 plants per row and three rows) at distances of 1.5 m between plants and 2.0 m between rows. All plants were fertilized bimonthly with compost (25 kg plant⁻¹) and weekly with biol (4 L plant⁻¹). The non-useful shoots (suckers) were removed every two months and the accompanying flora was subjected to mechanical pruning every 28 days. When required, the plants were hydrated with well water.

To evaluate the effect of the mixture of garlic (150 µg mL⁻¹) and clove (36 µg mL⁻¹) extracts, three treatments (plots) were established according to the frequency of application: in Treatment 1 (T1) the mixture was applied every 7 days; in Treatment 2 (T2) the mixture was applied every 14 days; in Treatment 3 (T3), or control, only an alcohol solution in water was applied. All solutions used commercial soap as adherent. All treatments were applied (5 L manual sprinkler, Truper) between 07:30 and 08:30 am on the top and underside of the leaves up to the dew point.

The garlic extract was prepared by crushing 45 g of garlic material, which was subsequently subjected to reflux extraction (six cycles) with 200 mL of ethanol (60%) at a temperature of 80 °C in a Soxhlet equipment. The extract was stored in an opaque glass container and kept at room

compost (25 kg planta⁻¹) y semanalmente con biol (4 L planta⁻¹). Los brotes (hijuelos) no útiles se eliminaron cada dos meses y la flora acompañante fue sometida a poda mecánica cada 28 días. Cuando así fue requerido, las plantas fueron hidratadas con agua de pozo.

Para establecer el efecto de la aplicación de la mezcla de los extractos de ajo (150 µg mL⁻¹) y de clavo (36 µg mL⁻¹) se establecieron tres tratamientos (parcelas) en función de la frecuencia de aplicación: Tratamiento 1 (T1) aplicación cada 7 días, Tratamiento 2 (T2) aplicación cada 14 días y Tratamiento 3 (T3), o control, aplicación de una solución de alcohol en agua. Todas las soluciones utilizaron jabón comercial como adherente. La aplicación de los tratamientos (aspersor manual Truper de 5 L) fue realizada entre las 07:30 h a 08:30 h en el haz y el envés de las hojas hasta punto de rocío.

El extracto de ajo se preparó triturando 45 g del material, el cual posteriormente fue sometido a extracción por reflujo (seis ciclos) con 200 mL de etanol al 60% a temperatura de 80 °C en un equipo Soxhlet. El extracto se almacenó en recipiente de vidrio opaco y se mantuvo a temperatura ambiente hasta su empleo (máximo un mes). El extracto de clavo se preparó triturando 100 g del aromático el cual, posteriormente fue homogeneizado en 1 L de etanol (96%) contenido en un recipiente opaco. El homogeneizado se mantuvo a temperatura ambiente por 28 días, durante los cuales fue agitado, manualmente, cada tercer día. Al concluir el tiempo de extracción, el homogeneizado se filtró (Wathman no 1) y se dejó a temperatura ambiente hasta su uso (máximo dos meses). La concentración de sólidos solubles totales de cada extracto se determinó, mediante evaporación (70 °C) de 10 mL, en una termo-balanza (Oahus BL-MB23).

Cada 14 días, y antes de aplicar la mezcla de extractos, en todas las plantas se determinó el número total de hojas (H_T), el promedio ponderado de

temperature until further use (for a maximum of one month). The clove extract was prepared by grinding 100 g of the material, which was subsequently homogenized in 1 L of ethanol (96%) contained in an opaque container. The homogenate was kept at room temperature for 28 days, during which it was manually shaken every third day. At the end of the extraction time, the homogenate was filtered (Wathman no. 1) and kept at room temperature until further use (for a maximum of two months). The concentration of total soluble solids of each extract was determined by evaporation (70 °C) of 10 mL in a thermo-balance (Ohaus BL-MB23).

Every 14 days, and before applying the mixture of extracts, the total number of leaves (TL), the weighted average incidence of BS (I_{BS}), the weighted average severity of BS (S_{BS}), the youngest leaf free of BS symptoms (L_{Y0}), and the time to flowering were determined in all plants. In leaves with BS symptoms, the degree (G) of severity was determined using the Stover scale modified by Gauhl (1989). Leaves that showed a degree of severity of 6 (G6) were removed from the plant. The I_{BS} was calculated as the quotient between the leaves with BS symptoms divided by the total number of leaves [$I_{BS} = (L_{WBS}) / (TL)^{-1}$]. The S_{BS} was calculated by adding the multiplication values between the number leaves (Ln) and the degree of severity of the disease (G0-6) divided by 100 [$S_{BS} = \sum [(G_0L_0) + (G_1H_1) + \dots (G_6H_6)] / (100)^{-1}$]. All the data were subjected to analysis of variance. Significant differences were determined using Duncan's test at $p > 0.05$. The statistical analyses were performed with the software InfoStat Professional Ver. 2018. The results were described and discussed considering that banana plants do not produce leaves after flowering.

Figure 1 shows the flowering dynamics of the 'Macho' banana plantain plants used in the different treatments under study. As can be seen,

incidencia de SN (I_{SN}), el promedio ponderado de la severidad de SN (S_{SN}), la hoja más joven libre de síntomas de SN (H_{MJ0}) y el tiempo a florecimiento. En hojas con síntomas de SN el grado (G) de severidad fue determinado con la escala de Stover modificada por Gauhl (1989); cuando la hoja mostró grado 5 o 6 (G_{5-6}), se eliminó de la planta. El I_{SN} fue calculado mediante el cociente entre las hojas con síntomas de SN dividido entre las hojas totales [$I_{SN} = (H_{SSN}) / (H_T)^{-1}$]. El S_{SN} fue calculada mediante la sumatoria de la multiplicación del número de hojas (N_n) por el grado de la enfermedad (G_{0-6}) dividida entre 100 [$S_{SN} = \sum [(G_0H_0) + (G_1H_1) + \dots (G_6H_6)] / (100)^{-1}$]. Todos los datos fueron sometidos al análisis de varianza y donde se encontró diferencias se aplicó la prueba de Duncan a $p > 0.05$, empleando el programa InfoStat Profesional Ver. 2018. Tomando en consideración que las plantas de plátano ya no emiten hojas después del florecimiento, los resultados de las variables analizadas fueron descritos y discutidos con dicho marco de referencia.

En la Figura 1, se muestra la dinámica del florecimiento de las plantas de plátano 'Macho' empleadas en los diferentes tratamientos de este trabajo. Como se puede observar las plantas del T1 iniciaron el florecimiento a los 140 días después de iniciado el trabajo (DDIT), las del T2 a los 182 días, y ninguna planta del T3 emitió flor durante el periodo de estudio. La cantidad máxima de plantas florecidas (~80%) en T1 y T2 fue alcanzado, respectivamente, a los 196 y 224 DDIT. La observada inducción del florecimiento de las plantas (Figura 1) asperjadas con los extractos de clavo y ajo, puede estar relacionada con los componentes de dichos extractos, ya que ninguna de las plantas del tratamiento control floreció durante el tiempo del trabajo. Así mismo, los resultados de florecimiento orientan a pensar que es necesario alcanzar una concentración crítica para la inducción ya que las plantas asperjadas cada 14 días se "retrasaron" 42 días respecto a las plantas asperjadas cada 7 días.

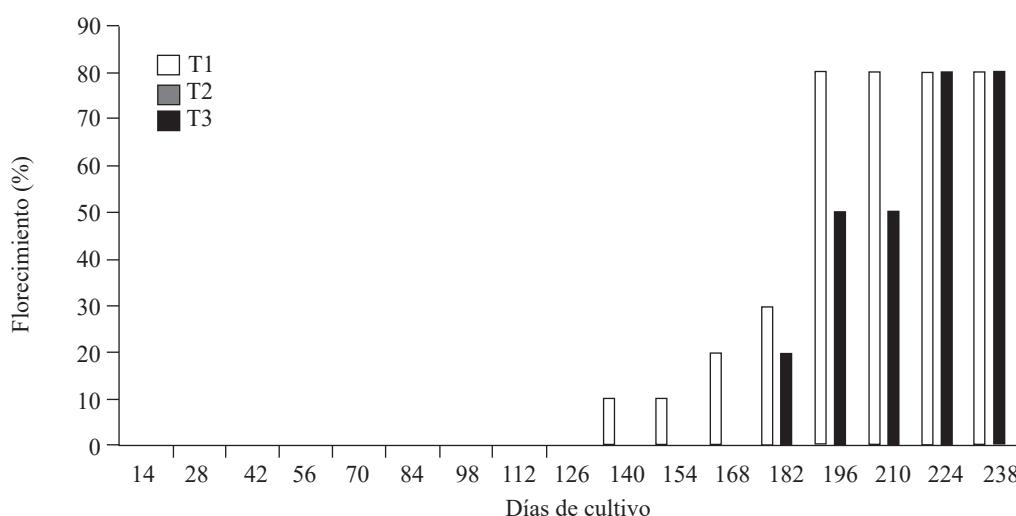


Figure 1. Flowering dynamics of “Macho” plantain plants subjected to Black Sigatoka control treatments with a mixture of clove and garlic extracts. T1: mixture applied every 7 days. T2: mixture applied every 14 days. T3: control plants.
Figura 1. Dinámica de florecimiento de plantas de plátano “Macho” sometidas a los tratamientos de control de Sigatoka Negra con una mezcla de extractos de clavo y ajo. T1: mezcla aplicada cada 7 días, T2: mezcla aplicada cada 14 días y T3: plantas control.

the T1 plants started flowering 140 days after the start of the study (DASS). The T2 plants started at 182 days. No T3 plant produced flowers during the study period. The maximum number of flowering plants (~80%) in T1 and T2 was reached, respectively, at 196 and 224 DASS. The observed induction of flowering in plants (Figure 1) sprayed with clove and garlic extracts may have been related to the components of said extracts, since none of the control treatment plants flowered during the study time. The flowering results suggested that it was necessary to reach a critical concentration to induce flowering since the plants sprayed every 14 days were “delayed” 42 days compared to the plants sprayed every 7 days. The induction of flowering through the spraying of plant extracts is a phenomenon that hadn’t been reported before in studies using plant extracts to control BS (Vargas *et al.*, 2009; Thangavelu *et al.*, 2013; Kumakech *et al.*, 2017). The possible reason could be that in previous studies the extracts were sprayed less frequently than in the present work.

La inducción del florecimiento por el asperjado de extractos de plantas es un fenómeno no reportado en la literatura cuando se han empleado extractos de plantas para el control de la SN (Vargas *et al.*, 2009; Thangavelu *et al.*, 2013; Kumakech *et al.*, 2017) y la posible razón pudiera ser que en general los extractos fueron asperjados con menor frecuencia a la empleada en este trabajo.

Durante todo el tiempo del estudio, las plantas de T1 y T2 tuvieron, respecto a T3, mayor cantidad de H_T , situación que se repite cuando se comparan las H_T hasta antes del inicio del florecimiento y después de iniciado dicho proceso (Cuadro 1). Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas (Duncan $\alpha=0.05$; EE =0.17, 0.15 y 0.12 para T1, T2 y T3, respectivamente). La significativa diferencia entre los tratamientos puede asociarse al daño provocado por la enfermedad, ya que siempre fueron eliminadas las hojas con G_6 . Por lo tanto, cuantas más hojas en la planta, mayor sanidad de la plantación.

During the entire time of the study, the plants of T1 and T2 had, compared to T3, a greater amount of TL, a situation that is repeated when comparing the TL before the beginning of flowering and after the beginning of said process (Table 1). The differences found were statistically significant (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.17, 0.15 and 0.12 for T1, T2 and T3, respectively). The significant differences between the treatments could be associated with the damage caused by the disease, since the leaves with G_6 were always removed. Therefore, the more leaves on the plants, the greater health of the plantation.

In plants with application of the extract mixture every 7 days (T1) and every 14 days, the I_{BS} (Table 2) was 20.5 and 13.0%, respectively. These values were lower compared to the plants where said extracts were not applied (T3). The differences

Por su parte el I_{SN} (Cuadro 2) en las plantas con aplicación de la mezcla de extractos cada 7 días (T1) y con aplicación de extractos cada 14 días, fue 20.5 y 13.0% menor respecto a las plantas donde no se aplicaron dichos extractos (T3). Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.01, 0.01 y 0.01 para T1, T2 y T3). La reducción en la I_{SN} , en estudios de campo, escasamente es reportada, sin embargo, Kumakech *et al.* (2017) encontraron 34.8% de disminución en el número de lesiones en vitroplantas de plátanos de las variedades Mpologoma, Mbwazirume y Kibuzi asperjadas con extracto acuoso de *Azadirachta indica*.

Por otro lado, el S_{SN} en las plantas del T3 fue 25.3 y 11.6% mayor respecto a las plantas con frecuencia de aplicación de 7 y 14 días respectivamente

Table 1. Average total leaves in “Macho” plantain plants grown with control of Black Sigatoka based on a mixture of alcoholic extract of garlic and cloves applied every 7 days (1) and 14 days (2). Control plants (3).

Cuadro 1. Promedio de hojas totales en plantas de plátano “Macho” cultivado con control de Sigatoka Negra basado en una mezcla de extracto alcohólico de ajo y clavo aplicada cada 7 días (1), 14 días (2) y plantas control (3).

Tratamiento	Todo el tiempo	126 días después de iniciado el trabajo	Después de iniciado el florecimiento
1	9.25 A	8.01 AB	10.63 A
2	8.78 B	8.30 A	9.34 B
3	8.54 C	7.75 B	8.54 C

Table 2. Weighted average of the incidence of Black Sigatoka in “Macho” plantain plants treated with a mixture of alcoholic extract of garlic and cloves applied every 7 days (1) and 14 days (2). Control plants (3).

Cuadro 2. Promedio ponderado de la incidencia de Sigatoka Negra en plantas de plátano “Macho” tratadas con una mezcla de extracto alcohólico de ajo y clavo aplicada cada 7 días (1), 14 días (2) y plantas control (3).

Tratamiento	Todo el tiempo	126 días después de iniciado el trabajo	Después de iniciado el florecimiento
1	0.35 C	0.36 C	0.35 C
2	0.39 B	0.40 B	0.40 B
3	0.44 A	0.46 A	0.44 A

found were statistically significant (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.01, 0.01 and 0.01 for T1, T2 and T3). A decrease in I_{BS} has been rarely reported in field studies. However, Kumakech *et al.* (2017) found a 34.8% decrease in the number of lesions in banana vitroplants of the Mpologoma, Mbwazirume and Kibuzi varieties sprayed with aqueous extract of *Azadirachta indica*.

The S_{BS} in T3 plants was 25.3 and 11.6% higher compared to plants with an application frequency of 7 and 14 days, respectively (Table 3). The differences found were statistically significant (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.02, 0.03 and 0.03 for T1, T2 and T3). The observed decrease in S_{SN} was lower than that reported by Deshmukh *et al.* (2018), who found average decrease values of 72.8% using aqueous extracts of *Datura ferox* (toloache), *Azadirachta indica* (neem), *Parthenium hyster* (asthma herb), and *Allium sativum* (garlic). It was also lower than the value reported by Thangavelu *et al.* (2013), who found a 55% decrease using an aqueous extract of zimmu leaves (*Allium cepa* x *Allium sativum*). Both of those studies were carried out in “Gran Enano” clone banana plants. However, those studies were conducted under shade house conditions, which limited contact with conidia of *P. fijiensis*. Likewise, the results of S_{SN} obtained in the present work, with the application of the

(Cuadro 3). Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.02, 0.03 y 0.03 para T1, T2 y T3). La reducción de S_{SN} observada fue inferior a lo reportado por Deshmukh *et al.* (2018), quienes encontraron promedios de reducción de 72.8% utilizando extractos acuosos de *Datura ferox* (toloache), *Azadirachta indica* (neem), *Parthenium hyster* (yerba de asma) y *Allium sativum* (ajo) y a lo reportado por Thangavelu *et al.* (2013) quienes encontraron 55% de reducción con extracto acuoso de hojas de zimmu (*Allium cepa* x *Allium sativum*), ambos en plantas de banano clon Gran Enano. Sin embargo, estos últimos trabajos fueron realizados bajo condiciones de casa sombra donde el contacto con la “atmósfera” de conidios de *P. fijiensis* es limitado. Así mismo, los resultados de S_{SN} , con la aplicación de los extractos de ajo y clavo de este trabajo (0.45 – 0.98), fueron mejores a los reportados por Vargas *et al.* (2009) quienes emplearon extractos etanólicos de hojas secas de *Ricinus communis* (higuerilla), *Heliotropium indicum* (heliotropo indio) y *Lippia origanoides* (oregano de monte) en plátano Musa AAB cv. Hartón, y cuyos valores estuvieron entre 1.84 – 3.15.

Finalmente, los valores de la H_{MJO} se muestran en el Cuadro 4. Durante todo el tiempo que duró el trabajo las plantas del T1 tuvieron, en promedio,

Table 3. Weighted average of the severity of Black Sigatoka in “Macho” plantain plants treated with a mixture of alcoholic extract of garlic and cloves applied every 7 days (1) and 14 days (2). Control plants (3).

Cuadro 3. Promedio ponderado de la severidad de Sigatoka Negra en plantas de plátano “Macho” tratadas con una mezcla de extracto alcohólico de ajo y clavo aplicada cada 7 días (1), 14 días (2) y plantas control (3).

Tratamiento	Todo el tiempo	126 días después de iniciado el trabajo	Después de iniciado el florecimiento
1	0.71 C	0.74 C	0.67 C
2	0.84 B	0.85 B	0.78 B
3	0.95 A	0.97 A	0.95 A

garlic and clove extracts (0.45 - 0.98), were better than those reported by Vargas *et al.* (2009), who used ethanolic extracts from dry leaves of *Ricinus communis* (castor bean), *Heliotropium indicum* (Indian heliotrope), and *Lippia origanoides* (mexican oregano) on *Musa* bananas AAB cv. Harton, with values between 1.84 and 3.15.

Table 4 shows the values of the L_{y0} . During the entire time of the study, the T1 plants had, on average, 1.57 healthier leaves than the control plants (T3). The BS symptoms were observable in older leaves (lower leaves). The number of leaves free of BS symptoms in plants to which the mixture of garlic and clove extracts had been applied increased, compared to control plants, after the start of flowering. The differences found were statistically significant (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.15, 0.14 and 0.11 for T1, T2 and T3).

In the control plants, the L_{y0} was similar to that reported by Torrado-Jaime and Castaño-Zapata (2018) for the plantain and banana varieties Dominico Harton, Africa, FHIA 20, and FHIA 21. The L_{y0} of control plants was lower than that reported by Thangavelu *et al.* (2013) for the 'Gran Enano' banana clone (youngest diseased leaf 7.6). However, in the plants to which the mixture of extracts was applied every 7 days and every 14 days (Table 4), the L_{y0} was better than that reported by Vargas *et al.* (2009), who reported the youngest

1.57 hojas más sanas que las plantas control (T3) es decir, los síntomas de SN fueron observables en hojas de mayor edad (hojas más "bajas"). La cantidad de hojas libres de síntomas de SN en las plantas donde se aplicó la mezcla de los extractos de ajo y clavo se incrementó, respecto a las plantas control, después de iniciado el florecimiento. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas (Duncan $\alpha=0.05$; EE = 0.15, 0.14 y 0.11 para T1, T2 y T3).

La H_{Mj0} en las plantas control de este trabajo fue similar a lo reportado por Torrado-Jaime y Castaño-Zapata (2018) para plátano de las variedades Dominico Hartón, África, FHIA 20 y FHIA 21 y menor que lo reportado por Thangavelu *et al.* (2013) para banano clon 'Gran Enano' (hoja más joven enferma 7.6). Sin embargo, la H_{Mj0} en las plantas con aplicación de la mezcla de los extractos cada 7 días y cada 14 días (Cuadro 4), fue mejor a lo reportado por Vargas *et al.* (2009) quienes reportaron la hoja más joven sin síntomas de SN entre 1.42 y 3.75 cuando asperjaron en plantas de plátano (*Musa* AAB cv. Hartón) extractos etanólicos de hojas de *R. communis*, *H. indicum* y *L. origanoides*; aunque menor a lo reportado por Thangavelu *et al.* (2013) para banano clon 'Gran Enano' asperjado con extracto de zimmu.

En conclusión, la aplicación cada 7 o 14 días de la combinación de extractos alcohólicos de clavo

Table 4. Average of the youngest leaf free of symptoms of Black Sigatoka in "Macho" plantain plants treated with a mixture of alcoholic extract of garlic and cloves applied every 7 days (1), 14 days (2) and control plants (3).

Cuadro 4. Promedio de la hoja más joven libre de síntomas de Sigatoka Negra en plantas de plátano "Macho" tratadas con una mezcla de extracto alcohólico de ajo y clavo aplicada cada 7 días (1), 14 días (2) y plantas control (3).

Tratamiento	Todo el tiempo	126 días después de iniciado el trabajo	Después de iniciado el florecimiento
1	7.16 A	6.29 A	8.00 A
2	6.38 B	5.86 B	7.33 B
3	5.59 C	5.16 C	5.70 C

leaf without BS symptoms between 1.42 and 3.75 when spraying ethanolic extracts from leaves of *R. communis*, *H. indicum* and *L. origanoides* on banana plants (Musa AAB cv. Hartón). However, the H_{MJO} was lower than that reported by Thangavelu *et al.* (2013) for 'Gran Enano' banana clone sprayed with a zimmu extract.

In conclusion, the application, every 7 or 14 days, of a combination of alcoholic extracts of clove and garlic (36 and 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$) was able to control BS and induce flowering in "Macho" banana plantain plants, under field conditions.

CITED LITERATURE

- Adriano-Anaya ML, 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>
- Deshmukh R, Dhutraj SV and Damodhar VP. 2018. Field evaluation of bio-control agent and phyto-extract against intensity of Sigatoka leaf spot and yield of banana cv. Ardhapuri. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. Special Issue-6: 101- 104. ISSN 2319-7706. <https://www.ijcmas.com>
- Garrido-Ramírez ER, Hernández-Gómez E y Noriega-Cantú DH. 2011. Manual de producción de banano para la región del Soconusco. Estrategias para el manejo de la Sigatoka Negra. Folleto Para Productores N° 10. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Sur. Campo Experimental Centro de Chiapas, Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México. 35p.
- Gauhl F. 1989. Untersuchunge zurepidemiologie un okoloigie de Schuwargen sigatoka krankheit (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) an kockbonanen (*Musa* sp.) in Costa Rica. Thesis. Univ. Gottingen (West Germany), 128 p.
- Geissen V, Ramos FQ, de JB-BP, Diaz-Gonzalez G, Bello-Mendoza R, Huerta-Lwanga E and Ruiz-Suarez LE. 2010. Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 85:407-413. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0077-y>
- Hidalgo M, Tapia A, Rodríguez W y Serrano E. 2006. Efecto de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (*Musa* sp. AAA, cv. Valery). Agronomía Costarricense 30: 35-41. ISSN 0377-9424. <https://revistas.ucr.ac.cr>
- Kumakech A, Jørgensen H JL, Collinge DB, Edema R y Okori P. 2017. *Azadirachta indica* reduces Black Sigatoka in east African highland banana by direct antimicrobial effects against *Mycosphaerella fijiensis* without inducing resistance. Journal of Agricultural Science 9: 61-76. <https://doi.org/10.5539/jas.v9n4p61>.
- Marín DH, Romero RA, Guzmán M and Sutton TB. 2003. Black sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. Plant Disease 87:208-222. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.208>
- Martínez I y Guzmán M. 2010. Sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a fungicidas. Pags. 227-238. In: Informe Anual 2009, Dirección de Investigaciones CORBANA (Corporación Bananera Nacional, CR). San José, CR.
- Morales LM, Ullauri MA 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(2): 77-84. <http://cagricola.uclv.edu.cu>.
- Mosquera OP, Echeverry LM y Niño J. 2009. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales sobre el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Scientia et Technica 41: 232 - 236. ISSN 0122-1701. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916680041>
- Okigbo RN y Emoghene AO. 2003. Antifungal activity of leaf extracts of some plant species on *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, the causal organism of Black Sigatoka disease in banana (*Musa acuminata*). Nigerian Journal of Plant Protection. 20: 101-110. <https://www.scirp.org>
- Orozco-Santos M, Orozco-Romero J, Pérez-Zamora O, Manzo-Sánchez G, Farías-Larios J y da Silva-Morales W. 2008. Prácticas culturales para el manejo de la sigatoka negra en bananos y plátanos. Tropical Plant Pathology 33:189-196. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762008000300003>
- Riveros AS y Arciniegas AM. 2003. Productos naturales como biofungicidas e inductores de resistencia para el manejo de la Sigatoka negra. Pags. 31-32. In: Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas. Actas del Taller Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas. INIBAP, Montpellier. Guayaquil, EC.
- Thangavelu R, Ganga Devi P, Gopi M and Mustaffa MM. 2013. Management of Eumusae leaf spot disease of banana caused by *Mycosphaerella eumusae* with Zimmu (*Allium sativum* x *Allium cepa*) leaf extract. Crop Protection 46: 100-105. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.12.022>

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

Torrado-Jaime M y Castaño-Zapata J. 2018. Incidencia y severidad de las sigatokas negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach et Mulder) del plátano según los estados fenológicos. *Agronomía Colombiana* 26: 435-442. ISSN 0120-9965. <http://www.scielo.org.co/>

Vargas JL, Rodríguez D, Sanabria ME y Hernández J. 2009. Efecto de tres extractos vegetales sobre la Sigatoka negra del plátano (*Musa* AAB cv. Hartón). *Revista UDO Agrícola*. 9: 182-190. <https://www.researchgate.net/publication/47372025>