

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Evaluación de la Actividad de los Lixiviados de Raquis de Banano
(Musa AAA), Plátano (Musa AAB), y Banano Orito (Musa AA)
Sobre el Agente Causal de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella
Fijiensis Morelet*) En Condiciones In Vitro”.

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Presentada por:

Maritza Fernanda Ortiz Bastidas

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2009

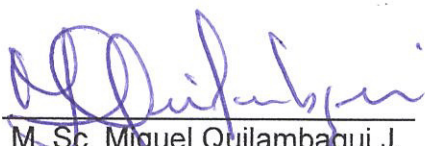
AGRADECIMIENTO

A mi madre por su apoyo,
al Ing. David Argüello mi
amigo incondicional, a
todas las personas que
de uno u otro modo
colaboraron con la
realización de este
trabajo, y a la Dra. María
Isabel Jiménez. PhD.
Directora de Tesis, por su
invaluable ayuda.

DEDICATORIA

A MIS PADRES,
A MIS ABUELOS,
A MI HERMANA,
A MIS AMIGOS.

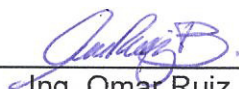
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



M. Sc. Miguel Quilambaqui J.
DELEGADO DE LA FIMCP
PRESIDENTE



Ph.D. María Isabel Jiménez F.
DIRECTORA DE TESIS

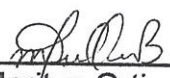


Ing. Omar Ruiz B.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)


Maritza Ortiz Bastidas

RESUMEN

El banano, el cultivo más importante en la economía del Ecuador, enfrenta desde 1987 un problema fitosanitario foliar de difícil manejo conocido como sigatoka negra cuyo agente causal es el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Esta enfermedad produce severos daños en el follaje de la planta lo que ocasiona una disminución en la respiración y la actividad fotosintética, reduciendo indirectamente el rendimiento y la calidad de la fruta.

En el presente estudio se analizó el efecto directo de los lixiviados de raquis de diferentes especies de musáceas: bananos (cavendish, AAA; orito AA) y plátano (AAB), en diferentes concentraciones (0.5%, 1%, 3%, 5%, 10%, 30%, 70%), frente a un testigo absoluto (Control 0%). El impacto de los lixiviados se lo analizó en dos fases: la primera fue la caracterización química de los productos utilizados lo que permitió establecer el contenido nutricional de los mismos. La segunda fase consistió en la evaluación *In Vitro* de la actividad de los lixiviados sobre estructuras de *M. fijiensis*. Asimismo, se analizó el potencial inhibidor de los lixiviados sobre el desarrollo del hongo.

El material fúngico como: ascosporas, colonias y micelio de *M. fijiensis*, que se utilizó para el desarrollo de este estudio se obtuvo bajo condiciones

controladas, siguiendo los protocolos estandarizados del área de fitopatología del CIBE (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador).

El producto que se destacó fue el lixiviado de orito con EM (microorganismos eficientes), ya que presentó los más altos índices de inhibición sobre las estructuras del hongo evaluadas. La dosis que mejor resultado presentó fue la dosis al 70% para todos los tratamientos.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
INDICE DE TABLAS.....	IV
INDICE DE FIGURAS.....	V
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1.	
1. GENERALIDADES.....	3
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Justificación.....	6
1.3. Objetivos.....	8
1.3.1. Objetivo general.....	8
1.3.2. Objetivos específicos.....	8
CAPITULO 2.	
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.1. Características de las musáceas.....	9
2.1.1. Taxonomía.....	10
2.1.2. Diferencia entre las especies.....	12

2.1.3. Importancia económica en el Ecuador.....	17
2.1.4. Manejo agronómico del cultivo.....	19
2.1.5. Manejo sanitario.....	24
2.2. El género mycosphaerella spp. Y su importancia en el banano.....	28
2.2.1. Clasificación.....	31
2.2.2. Caracterización de las especies de importancia mundial.....	31
2.3. Elaboración de los biofertilizantes líquidos.....	33
2.3.1. Calidad de los biofertilizantes líquidos.....	36
2.3.2. Los biofertilizantes líquidos en el control de sigatoka negra.....	37
2.3.3. El potencial de extractos y lixiviados de desechos vegetales.....	38
2.3.4. Propiedades y características de los materiales utilizados en su elaboración.....	39
CAPITULO 3.	
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
3.1. Materiales y métodos.....	42

3.2. Metodología.....	43
3.3. Diseño experimental.....	50
3.4. Análisis estadístico.....	50

CAPITULO 4.

4. ANALISIS DE RESULTADOSY DISCUSIONES.....	52
4.1 Análisis de resultados.....	52
4.2 Discusiones.....	85

CAPITULO 5.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	88
--	----

APENDICES

BIBLIOGRAFÍA

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 3.1. Infraestructura Lixiviadores.....	44
Figura 4.1. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano con EM.....	55
Figura 4.2. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano sin EM.....	55
Figura 4.3. Concentración del lixiviado de raquis de banano con EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	57
Figura 4.4. Concentración del lixiviado de raquis de banano sin EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	57
Figura 4.5. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano con EM	59
Figura 4.6. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano sin EM	59
Figura 4.7. Concentración del lixiviado de raquis de plátano con EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	60
Figura 4.8. Concentración del lixiviado de raquis de plátano sin EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	60
Figura 4.9. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito con EM.....	63
Figura 4.10. Longitud del tubo germinativo de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito sin EM	63
Figura 4.11. Concentración del lixiviado de raquis de orito con EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	64
Figura 4.12. Concentración del lixiviado de raquis de orito sin EM versus el porcentaje de inhibición en ascosporas.....	64
Figura 4.13. Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano con EM	66
Figura 4.14. Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano sin EM.....	66
Figura 4.15. Concentración del lixiviado de raquis de banano con EM versus el porcentaje de inhibición en colonias.....	67
Figura 4.16. Concentración del lixiviado de raquis de banano sin EM versus el porcentaje de inhibición en colonias.....	67
Figura 4.17. Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano con EM.....	69
Figura 4.18. Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano sin EM.....	69
Figura 4.19. Concentración del lixiviado de raquis de plátano con EM versus el porcentaje de inhibición en colonias	70

Figura 4.20.	Concentración del lixiviado de raquis de plátano sin EM versus el porcentaje de inhibición en colonias.....	70
Figura 4.21.	Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito con EM.....	72
Figura 4.22.	Diámetro de colonias de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito sin EM	72
Figura 4.23.	Concentración del lixiviado de raquis de orito con EM versus el porcentaje de inhibición en colonias.	73
Figura 4.24.	Concentración del lixiviado de raquis de orito sin EM versus el porcentaje de inhibición en colonias.....	73
Figura 4.25.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano con EM.....	75
Figura 4.26.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de banano sin EM.....	75
Figura 4.27.	Concentración del lixiviado de raquis de banano con EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.....	76
Figura 4.28.	Concentración del lixiviado de raquis de banano sin EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.....	76
Figura 4.29.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano con EM.....	78
Figura 4.30.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de plátano sin EM.....	78
Figura 4.31.	Concentración del lixiviado de raquis de plátano con EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.....	79
Figura 4.32.	Concentración del lixiviado de raquis de plátano sin EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.....	79
Figura 4.33.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito sin EM	81
Figura 4.34.	Peso de micelio de <i>m. fijiensis</i> tratadas con raquis de orito con EM.....	81
Figura 4.35.	Concentración del lixiviado de raquis de orito con EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.	82
Figura 4.36.	Concentración del lixiviado de raquis de orito sin EM versus el porcentaje de inhibición en micelio.	82
Figura 4.37.	Comparación del diámetro de colonias a los 15 días para raquis de banano con y sin EM.....	83
Figura 4.38.	Comparación del diámetro de colonias a los 15 días para raquis de plátano con y sin EM.....	84
Figura 4.39.	Comparación del diámetro de colonias a los 15 días para raquis de plátano con y sin EM	85

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.	Clasificación de los agentes causales de la sigatoka negra y la sigatoka amarilla.....31
Tabla 2.	Dosis de los productos.....46
Tabla 3.	Coeficiente de variación de las muestras de lixiviados de raquis.....53
Tabla 4.	Longitud del tubo germinativo y porcentaje de inhibición de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de banano con y sin EM54
Tabla 5.	Longitud del tubo germinativo y porcentaje de inhibición de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de plátano con y sin EM58
Tabla 6.	Longitud del tubo germinativo y porcentaje de inhibición de ascosporas de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de orito con y sin EM61
Tabla 7.	Diámetro y porcentaje de inhibición de colonias de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de banano con y sin EM65
Tabla 8.	Diámetro y porcentaje de inhibición de colonias de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de plátano con y sin EM68
Tabla 9.	Diámetro y porcentaje de inhibición de colonias de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de orito con y sin EM.....71
Tabla 10.	peso de micelio y porcentaje de inhibición de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de banano con y sin EM.....73
Tabla 11.	Peso de micelio y porcentaje de inhibición de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de plátano con y sin EM.....77
Tabla 12.	Peso de micelio y porcentaje de inhibición de <i>m. fijiensis</i> , en presencia del lixiviado de raquis de orito con y sin EM.....80

INTRODUCCIÓN

El banano es el cultivo de mayor importancia económica del país, teniendo el 30% de mercado a nivel mundial. Este cultivo sufre considerables perjuicios debido a la incidencia de una enfermedad que ataca a nivel foliar provocando alteraciones en la fotosíntesis de la planta conocida como Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). [44]

La utilización indiscriminada de pesticidas, puede provocar que el hongo desarrolle resistencia a cierto tipo de fungicidas, por consiguiente las dosis del producto utilizadas y los ciclos de fumigación se incrementan para poder controlar la enfermedad lo que incrementa los costos de producción además de perjudicar a las comunidades aledañas a las plantaciones al estar expuestas a una mayor cantidad de pesticidas altamente tóxicos, sin contar el daño que produce sobre el ecosistema y el medio ambiente. [13]

Frente a este inconveniente se ha venido desarrollando nuevas alternativas de manejo. Entre estas alternativas tenemos el desarrollo de planes nutricionales por medio de la aplicación de biofertilizantes líquidos producidos tanto anaeróbicamente como aeróbicamente, usados a nivel radicular y foliar;

obteniendo plantas en mejores condiciones, con un mecanismo de defensa vigoroso frente al ataque de la sigatoka negra.

Los biofertilizantes líquidos, en este caso los lixiviados producidos a partir de la descomposición aeróbica de la materia orgánica vegetal como raquis de banano, según análisis químicos son ricos en macro y micronutrientes, convirtiéndose así en una potencial fuente orgánica de fertilización.[41]

Estudios preliminares evidencian que el uso de lixiviados de raquis de banano y plátano disminuyen el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis*, haciendo menos agresiva la enfermedad. [25]

En el presente estudio se analiza el efecto directo de los lixiviados de raquis en la formación de colonias, longitud de ascosporas y el crecimiento de micelio de *Mycosphaerella fijiensis*, bajo condiciones de laboratorio. Además de realizar un análisis químico de los productos utilizados, que nos permitirá establecer el contenido nutricional de los mismos.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES.

El banano es el cuarto cultivo de mayor importancia a nivel mundial luego del trigo, arroz y maíz. La industria del banano representa una importante fuente de ingresos y empleo para los principales países exportadores de Latinoamérica, el Caribe, Asia y África. [44]

Los cuatro países que lideran las exportaciones son Ecuador, Costa Rica, Filipinas, y Colombia. Mientras que los mayores productores son India, Brasil, China, Ecuador, Filipinas, Indonesia, Costa Rica, México, Tailandia y Colombia. [12]

Entre los principales problemas fitosanitarios que enfrenta el cultivo, se encuentran los ocasionados por hongos y nematodos. En el caso de los hongos, la sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis*, es considerada la enfermedad foliar más limitante y destructiva a nivel mundial. [13]

1.1 Antecedentes.

La sigatoka negra, es la enfermedad más importante que afecta la producción comercial de bananos y plátanos en la mayoría de las regiones productoras del mundo. Esta enfermedad es causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Fue reportada por primera vez en Fiji, 1963, aunque hubo evidencia de su presencia en Hawai y en algunas zonas del pacífico desde mucho antes. [39]

En Centroamérica se descubrió por primera vez en Honduras en 1972 y desde allí se diseminó por el resto de la región; en Sudamérica, se registró en Colombia en 1981; posteriormente en Ecuador en 1987. [32]

Fouré, (1994) planteó la existencia de una estrecha relación entre algunos factores climáticos como: la humedad relativa, temperatura, precipitación. Y el patógeno, los cuales condicionan la incidencia y severidad de la enfermedad. [14]

Esta enfermedad afecta de manera muy significativa al cultivo de banano, aumenta el costo de producción, disminuye las zonas productoras y reduce los ingresos de los productores. Como mecanismo de acción para esta enfermedad, se efectúa constantes

aplicaciones de fungicidas, provocando exposición de los operarios a contracción de enfermedades, y la contaminación de la fruta y del ambiente. [14]

Para disminuir la aplicación indiscriminada de los productos químicos, se debe promover el desarrollo de nuevas alternativas sustentables para el manejo de la enfermedad, sean estas auspiciadas por gobiernos o por las mismas asociaciones de productores; teniendo en cuenta las nuevas tendencias mundiales como es el caso de la no utilización de pesticidas ni fertilizantes sintéticos. [46]

Estudios realizados por el Programa de Modernización de los Servicios Agropecuarios (PROMSA), evidencian que los bioles actúan como fuente de nutrientes y fito estimulantes, ayudando a acelerar el crecimiento vegetativo de ciertas especies. Dando como resultado plantas más vigorosas y resistentes a enfermedades. [44].

Los biofertilizantes líquidos, son productos que resultan de la fermentación aeróbica o anaeróbica de materia orgánica de origen animal y vegetal. Una de las características principales, según análisis químicos realizados a esta clase de productos, muestra que

estos poseen elevadas cantidades de macro y micro nutrientes en las cuales se basa su efecto nutricional. [35].

En el presente estudio se evaluó el efecto que tiene la utilización de biofertilizantes líquidos de raquis de musáceas en condiciones *In Vitro* sobre estructuras de *M. fijiensis*. Además de medir características morfológicas del hongo, como longitud del tubo germinativo, diámetro de colonias, peso del micelio.

1.2 Justificación.

El banano, es uno de los principales productos de exportación del Ecuador, cuya superficie sembrada según el censo Agropecuario del 2002 fue de 180,331 hectáreas con una producción aproximada de 5'274.232 Toneladas métricas. [8]

En el Ecuador, algunos bosques del litoral ecuatoriano fueron deforestados para el establecimiento de plantaciones de este monocultivo provocando un desequilibrio en el ecosistema, actividad que podemos asociar con problemas fitosanitarios en las plantaciones como el caso de la sigatoka negra. [8]

Tratar de recuperar el equilibrio en el ecosistema y lograr la producción de alimentos sanos, son fundamentales para el desarrollo de este tipo de proyectos, ya que el banano es parte de la alimentación básica a nivel mundial. La demanda cada vez mayor de los consumidores de productos orgánicos de calidad, está ocasionando cambios en la tendencia de producción. Inclusive las empresas de agroquímicos se han visto en la necesidad de incluir en sus formulaciones nuevas alternativas para los agricultores que desean salir de lo tradicional a lo orgánico.

Los biofertilizantes líquidos son la nueva tecnología que se está implementando en muchos de los cultivos de producción masiva para el consumo humano, y ha demostrado ser de gran ayuda al actuar como fito estimulantes del crecimiento. Además la utilización de biofertilizantes promueve el no uso de químicos que son nocivos tanto para la salud humana como para el ambiente.

Esta investigación se realizó en condiciones controladas de laboratorio (*In Vitro*) con estructuras del hongo *M. fijiensis*. Usando los lixiviados de raquis de musas en diferentes concentraciones para evaluar la actividad de estos sobre, la longitud del tubo germinativo de ascosporas, peso del micelio y diámetro de las colonias, lo que

permitirá conocer el potencial de estos productos orgánicos sobre el agente causal de la enfermedad.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Analizar y comparar la calidad de los lixiviados obtenidos a partir de raquis de banano, plátano y banano orito y el efecto de diferentes dosis de los mismos sobre *M. fijiensis*.

1.3.2 Objetivos Específicos.

Evaluar *in Vitro* el efecto de tres tipos de lixiviados, sobre la inhibición del crecimiento de *M. fijiensis* determinadas por medio de la germinación de ascosporas, colonias y el crecimiento de micelio.

Determinar la calidad de los lixiviados obtenidos a partir de análisis químicos.

CAPÍTULO 2

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. Características de las Musáceas.

Las Musáceas están distribuidas desde África Occidental hasta el Pacífico, pero su origen es del Sudeste de Asia. [21]

Las Musáceas comestibles son hierbas gigantes con un tallo subterráneo denominado cormo, del cual nace un pseudotallo aéreo formado por las vainas envolventes de las hojas y por cuyo centro crece el eje floral. Del cormo también brotan yemas laterales que darán origen a nuevas plantas, las cuales, cuando jóvenes se denominan hijos. Uno o más de éstos, conocidos como hijos de espada (de hojas lanceoladas) producirán flores cuando la planta del cormo original haya producido su racimo. Otros hijos son

denominados hijos de agua, que se eliminan del cultivo; éstos se caracterizan por presentar hojas cortas y anchas. [9]

2.1.1. Taxonomía.

La familia Musácea está constituida por plantas monocotiledóneas (Clase Liliopsidae), siendo una de las familias más grandes de las Angiospermas. Se clasifica dentro del Orden Zingiberales, el cual está constituido por seis familias de plantas perennes tropicales y subtropicales, las cuales varían en tamaño, desde pocos centímetros a varios metros de altura. En el Orden Zingiberales, además de las Musáceas, se ubican a las familias Strelitziaceae (ej. *Heliconia* spp.), Zingiberaceae (ej. *Zingiber officinale* – jengibre). De todas estas familias, Musaceae es la más importante económicamente y está conformada por dos géneros: Ensete y Musa. [9]

El género *Musa* se divide en cuatro secciones, *Callimusa*, *Australimusa*, *Eumusa* y *Rhodochlamys*. Las especies en las secciones *Callimusa* y *Rhodochlamys* solo son de

interés ornamental, ya que no producen frutas comestibles.

[9]

Todas las variedades de banano y plátano cultivadas en la actualidad han surgido de las especies del grupo Eumusa. Esta sección es la de mayor difusión geográfica, con especies que crecen desde India hasta el Pacífico. La sección contiene unas 11 especies pero la mayoría de los cultivares proceden de solo dos, *Musa acuminata* (genoma A) y *M. balbisiana* (genoma B). La posibilidad de comer las frutas maduras de *M. acuminata* diploide (AA) ocurrió como resultado de mutaciones. [21]

El cruzamiento natural entre estos diploides comestibles y los progenitores silvestres dio como resultado la formación de una progenie híbrida comestible y estéril con los genomas AB, AAA, AAB, ABB, AAAB, etc. Estos diferentes grupos genómicos juntos constituyen la diversidad de los bananos comestibles en existencia actualmente. [9]

El género *musa*, está constituido por dos grupos, series o secciones cada uno, cuyas diferencias, están basadas en el número de cromosomas, la forma y coloración de las brácteas y forma de las semillas. [9]

2.1.2. Diferencia entre las especies

Debido a que existen 15 caracteres taxonómicos que diferencian a *Musa acuminata* de *Musa balbisiana*, se ha logrado clasificar cierto número de cultivares de plátanos. En esta clasificación el número básico de cromosomas es de 11, los cultivares diploides contienen 22, con dos grupos definidos; los cultivares triploides presentan 33 cromosomas, con tres grupos. Con respecto a *musa balbisiana*, ninguno de estos cultivares corresponde fenotípicamente a esta especie.

Las hojas de las plantas diploides, por lo general son erectas; las de triploides son extendidas; y las correspondientes a tetraploides se arquean hacia abajo. Excepcionalmente algunos triploides pueden tener hojas

más erectas o arqueadas, como en el caso del plátano “manzano” o “Silk”. [39]

Los plátanos (*Musa* AAB) y bananos (*Musa* AAA), derivan de dos diploides silvestres de las especies parentales de la sección Eumusa, pertenecientes al género *Musa*: *Musa acuminata* (*Musa* AA) y *Musa balbisiana* (*Musa* BB). La gran diversidad y variación de sus formas y usos, es dada a través del origen de genoma, nivel de ploidía y mutaciones somáticas [39]. Dentro de los grupos diploides procedentes de *M. acuminata*, (‘AA’) tenemos a:

Plátano “moquicho”, también conocidos como “azucarado”, “bocadillo”, “orito” u “ouro”. Son de piel delgada y sumamente dulces, la más pequeña de las bananas cultivadas comercialmente. [39]

El orito es una planta de poco vigor aunque puede alcanzar los 4m de altura. Su pulpa es amarilla, suave pastosa muy dulce y con mucho aroma. Los racimos son pequeños con gran número de dedos cortos, gruesos y rectos. Los frutos de esta planta maduran rápido y su característico sabor dulce se debe al genoma *M. acuminata*. Se diferencia de las

demás variedades de banano por las siguientes características:

- Su especial sabor, aroma, tamaño, color.
- Es más dulce, su olor es más concentrado, su pulpa es de un acentuado color amarillo.
- Contiene más almidones.
- La planta posee hojas más largas anchas, brillosas y son menos inclinadas.
- Es tolerante a la sigatoka negra, por lo que no necesita de atomizaciones aéreas. [46]

Entre los Grupos triploides provenientes de *M acuminata* ('AAA') se encuentran:

Cavendish Enano.- desarrollado en China, hoy la variedad más importante en las islas Canarias y África oriental. La planta es de tamaño grande, con las hojas anchas, tolerante al viento y la sequía; produce frutos medianos, de buena calidad pero propensos al daño en transporte. [46]

Cavendish Gigante o Grand Naine.- de apariencia similar al 'Gros Michel'. Planta de tamaño mediano con el pseudotallo

moteado. Los frutos son de mayor tamaño que el 'Cavendish Enano', de cáscara más gruesa y sabor menos intenso. Este clon es ligeramente susceptible a la sigatoka pero inmune al mal de Panamá. Es la principal variedad en Colombia, Ecuador y Taiwán. [46]

Valery.- una variante de 'Robusta' más resistente a la sigatoka pero de fruto más firme. [46]

Gros Michel.- fue durante mucho tiempo el banano más cultivado de Occidente, hoy casi desaparecido por su sensibilidad a la enfermedad del Mal de Panamá. De gran porte, con grandes racimos de frutos largos y de color amarillo intenso. [46]

Entre los grupos de origen exclusivamente de *M. balbisiana* ('BBB') tenemos a *Maricongo*, que es el principal cultivo comercial de plátano del mundo.

Dentro del Grupo híbridos triploides 'AAB'.- Incluye a los cultivares conocidos como:

“Inguiri” o “dominico”.- La altura de la planta promedio es de 3 m, con un diámetro en su base de 20 cm. Se desarrollan racimos de frutos numerosos y de tamaño mediano.

“Hartón” o “barraganete”.- El racimo al alcanzar su madurez, muestra un promedio de 33 frutos de unos 30-40 cm de largo y con un peso por unidad de 650 gr.

Manzano ‘AAB’.- aunque no existen plantaciones a nivel comercial es el banano más extendido en el trópico. Es un banano muy grande, con sólo una docena de manos por racimo y 16 a 18 frutas por mano, muy resistente a la sigatoka pero susceptible a la enfermedad de Panamá. Los frutos maduros fisiológicamente tienen un sabor ácido agradable con buena aceptación por parte de los consumidores. [39]

2.1.3. Importancia Económica en el Ecuador.

La producción de musáceas en Ecuador tiene una importancia significativa por el consumo generalizado de este tipo de productos que, conjuntamente con el arroz y la

yuca, constituyen alimentos básicos en la población del litoral, especialmente en el área campesina. [11]

La industria del banano representa una muy importante fuente de ingresos y empleo para los principales países exportadores de Latinoamérica, el Caribe, Asia y África. [11]

En Ecuador, primer exportador y cuarto productor del mundo, las divisas generadas por este cultivo representan el 32% del comercio mundial del banano y contribuyen con un 3.84 % del producto interno bruto total, 50% del PIB Agrícola y 20% de las exportaciones privadas del país. [1]

Los países latinoamericanos y del Caribe producen la mayoría de los plátanos que entran en el comercio internacional, unos 10 millones de toneladas, del total mundial de 12 millones de toneladas. Aunque es uno de los cultivos más importantes de todo el mundo, los consumidores del norte lo aprecian sólo como un postre, pero constituye una parte esencial de la dieta diaria para los habitantes de más de cien países tropicales y subtropicales.

Genera trabajo para más de 500.000 familias, esto es más de 2,5 millones de personas localizadas en 8 provincias (Guayas, Los Ríos, El Oro, Esmeraldas, Pichincha, Cotopaxi, Cañar, Azuay) que dependen de la Industria Bananera ecuatoriana. [1].

El banano orito o el “baby banana” como se lo conoce en el mercado internacional, es un cultivo con bajos costos de producción. Las exportaciones de banano orito orgánico han registrado un incremento por la creciente demanda en el exterior, convirtiéndolo en una fuente de ingreso de divisas para el país. Los ingresos de producción de las fincas orgánicas son relativamente altos. Se estima que los productores orgánicos están recibiendo entre un 20 al 40% más sobre el precio de los productos producidos convencionalmente. [46]

2.1.4. Manejo agronómico del cultivo

Las prácticas agronómicas de mayor importancia en el cultivo de musáceas son:

- *Riego*

Puede ser por gravedad, aspersión o inundación, dependiendo de la disponibilidad económica, topografía, fertilidad del suelo, y cantidad de agua disponible.

- *Control de malezas*

Se realiza en forma manual, con la utilización de machetes, y en forma química mediante la aplicación de herbicidas. , se debe tener conocimiento de las especies de malezas existentes para escoger el herbicida más adecuado.

- *Fertilización*

Debe realizarse de acuerdo a análisis químicos de suelos de la zona en la que se desarrolla el cultivo. En los cultivos de banano del Ecuador se ha llegado a determinar que los elementos minerales indispensables y que deben ser aplicados al suelo son el Nitrógeno y el Potasio. El fertilizante debe ser aplicado en la zona de máxima de absorción de la planta, un semicírculo de 1m de radio a partir de la

base de la planta, así como del hijo seleccionado para la producción. Para lograr un programa de fertilización eficiente, las aplicaciones deben realizarse en relación a la disposición del riego, el número de labores de cultivo y la etapa del mismo.

- *Deshije*

Es una práctica cultural que tiene por objeto mantener la densidad adecuada por unidad de superficie, un espaciamiento uniforme entre plantas, regular el número de hijos por unidad de producción, seleccionar los mejores hijos y eliminar los deficientes. La selección de hijos es una práctica muy importante ya que la unidad de producción cíclica esta constituida por la planta madre, el hijo y el nieto. En una planta de banano hay tres clases de hijos: hijo de espada, hijo de agua e hijo de rebrote.

Los hijos de espada.- conocidos también como puyones, son los que crecen fuertes y se encuentran alejados de la base de la planta madre. El follaje termina en punta, de ahí su nombre.

Los hijos de agua.- desarrollan hojas anchas a muy temprana edad debido a deficiencias nutricionales. Siempre deben ser eliminados y se utilizan cuando hay un solo hijo de espada.

Los rebrotes.- son los hijos que vuelven a brotar luego de haber sido cortados, también desarrollan hojas anchas prematuramente.

La rapidez de crecimiento de estos rebrotes decide la frecuencia de los deshijes. Cuando se realiza el deshije los cortes con machetes deben hacerse lo más profundo posible tratando de eliminar la yema de crecimiento del hijo evitando el rebrote. El corte se dirige de adentro hacia afuera para no herir a la madre, luego se procede a cubrir la parte cortada.

- *Deshoje*

Consiste en eliminar las hojas que ya cumplieron su ciclo y las que están interfiriendo el desarrollo del racimo. El corte debe de ser lo más cerca posible a la base de la hoja; si una parte de una hoja joven y sana interfiere con un racimo, entonces puede

eliminarse esa parte rasgándola o cortándola, dejando el resto para que cumpla su función. Esta labor debe ser constante según la frecuencia de la pérdida de hojas por parte de la planta.

- *Apuntalado*

Es necesario realizar esta labor en toda planta con racimo para evitar la caída y pérdida de la fruta. La caña de bambú, caña brava, alambre, piola de yute, piola de plástico o nylon, entre otros, pueden ser utilizados en esta práctica.

- *Enfunde*

Es otra práctica que produce grandes beneficios al productor, consiste en proteger el racimo con una funda de polietileno perforada de dimensiones convenientes. Se ha llegado a comprobar que la fruta enfundada tiene un 10% más de peso y es de mejor calidad porque esta libre de daños causados por insectos.

La época más oportuna para el enfunde es cuando ha caído la tercera bráctea de la inflorescencia y

queda abierta la correspondiente mano. Cintas de plástico de colores son comúnmente utilizadas por los productores, cada color representa un estado diferente de madurez del racimo hasta la fecha de la cosecha.

- Desmane

Consiste en la eliminación ocasional de la última mano o las dos siguientes que se estima no llegarán a adquirir el tamaño mínimo requerido, favoreciendo al desarrollo de las manos restantes.

El desmane se realiza cuando los frutos están colocados en dirección hacia abajo, sin usar herramienta alguna, solamente con la mano. [30]

2.1.5. Manejo sanitario

Es de gran importancia para el control de la sigatoka negra ya que si no se aplican adecuadas medidas de manejo las pérdidas pueden alcanzar el 100%, por lo tanto la fruta producida no va a cumplir con los requisitos de calidad exigidos por el mercado, como tamaño de frutos, forma y

consistencia. Los cultivos se deben establecer en terrenos que posean las mejores condiciones de clima y suelo para su crecimiento, desarrollo y producción como: temperatura, radiación solar y precipitación y/o disponibilidad de agua apropiadas para los requerimientos del cultivo. [13]

Para disminuir la intensidad del ataque de la Sigatoka negra, se debe reducir al máximo la formación y duración de películas de agua sobre las hojas, porque esto favorece los procesos de infección, liberación y dispersión del agente causal de la enfermedad. Para lograr este objetivo se debe eliminar el exceso de agua mediante la construcción de canales de drenaje, evitar el riego por aspersión foliar y establecer hasta donde sea posible sistemas de sombras permanentes para reducir la formación del rocío.

Es necesario combatir oportunamente las malas hierbas con el fin de evitar retrasos y pérdidas en la producción del cultivo de banano. El manejo debe ser integrado, cultural y manual. Las malezas, además de competir con el banano

por espacio, agua, radiación solar y nutrientes, pueden servir como plantas hospederas de plagas y enfermedades y crear a la vez condiciones micro climáticas favorables al ataque de la sigatoka negra. [33]

Nombramos a continuación las principales plagas que perjudican al cultivo de banano:

Enfermedades causadas por hongos

1. Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*)
2. Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musícola*)

Enfermedades causadas por Bacterias

1. Erwinia o Cogollo negro

Nematodos

Los nematodos son gusanos microscópicos que afectan directamente a las raíces, llevando eventualmente a la caída de la planta por falta de anclaje. Los cinco nematodos más importantes en el cultivo del banano son: *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus coffeae*. [36]

Insectos

1. Picudo negro o cosmopolites sordidus

El adulto es un gorgojo de color negro de unos 13 mm. Y cabeza con la prolongación del rostro característico de la especie. En este estado no es dañino. La hembra pone entre 10 y 50 huevos aislados en orificios, que escarban en los rizomas. [36]

2. *Colaspis submetallica*

Es un escarabajo de color verde metálico de 7 mm. de largo que al emerger del suelo vuela directamente hacia los frutos o hacia la hoja bandera. [36]

3. Larvas come hojas o larvas defoliatrices

Las tres especies más comunes son Caterpillar o Costurera (*Ceramidia viridis*), Monturita (*Sibini apicalis*) y Vaquita (*Caligo teucer* y *Opsiphanes tamarindi*).

4. Trips de la mancha roja, *Palleucothrips musae*

Es un insecto pequeño, el adulto mide aproximadamente 1 mm. de largo, es de color blanco cremoso y tiene alas plumosas. [36]

5. Trips de la flor, *Frankliniella parvula*

Produce pequeños puntos en relieve sobre la corteza de la fruta. La hembra deposita sus huevecillos uno por uno en la cáscara de los frutos tiernos recién descubiertos provocando de esta manera la formación de pequeños puntos con relieve o pústulas. [36]

Enfermedades Virales

1. Banana Mosaic Virus (CMV)

El mosaico del banano es causado por “Cucumber Mosaic Virus” (CMV). El CMV en banano es fácilmente transmitido por muchas especies de áfidos. Los dos mas comunes y con el mayor rango de hospederos son el áfido del algodón *Aphis gossypii* y el áfido del maíz, *Rhopalosiphum maidis*. [26]

2. Banana Streak Virus (BSV)

Una característica distintiva de BSV es la periodicidad de la expresión de la infección. Las plantas infectadas pueden no mostrar las manchas en todas las hojas ya que las hojas emergentes pueden ser asintomáticas o solamente mostrar ligeros síntomas. Esta enfermedad

puede reducir el crecimiento y vigor de la planta, el peso del racimo y la producción [26].

2.2. El género *Mycosphaerella* spp. Y su importancia en el banano

La raya negra de la hoja (causada por *M. fijiensis*) y la enfermedad de Sigatoka amarilla (causada por *M. musicola*) son las enfermedades que afectan de manera más significativa el cultivo del banano, pues aumentan los costos de producción, disminuyen las zonas productoras y reducen los ingresos de los productores.[38]

La Sigatoka Negra es la enfermedad de mayor impacto económico en los cultivos de banano y plátano debido a la alta demanda de uso de fungicidas de síntesis química, necesarios para obtener una fruta que cumpla con los estándares de calidad para exportación, los cuales se ven afectados por la enfermedad principalmente en la duración de la vida verde de la fruta cosechada. Dichos fungicidas deben ser aplicados en intervalos de 7-12 días, lo cual genera la aplicación de 35-50 ciclos de fungicidas/ año en los países bananeros, con altos costos de producción en sus cultivos. [38]

La sigatoka negra, se describió como una enfermedad en 1963, también en Fiji, aunque hay evidencias de su presencia en Hawai y en algunas zonas del Pacífico desde mucho antes. En Centroamérica se describió por primera vez en Honduras en 1972 y desde allí se diseminó por el resto de la región. [47]

La sigatoka negra es más virulenta que la sigatoka amarilla aunque los factores que influyen su desarrollo son los mismos para ambas enfermedades. El control químico convencional de esta enfermedad significa el uso de fungicidas en ciclos 3 veces mayores y dosis hasta 2 veces más elevadas, que para la sigatoka amarilla. El uso de fungicidas se recomienda convencionalmente para plantaciones cuya fruta sea para exportación. El número de aplicaciones por año está determinado por el tipo de producto. No es recomendable usar un mismo producto durante largos periodos pues el hongo se podría tornar resistente a la acción del mismo.

Sigatoka amarilla, esta enfermedad es un serio defoliador, toma su nombre del valle Sigatoka, Fiji, en donde la enfermedad se reconoció por primera vez en 1902. Otros registros sobre daños

causados a la industria bananera por esta enfermedad han sido en la década de 1930-1940 en Centro América, islas del Caribe y Sudamérica; como también en África. Posteriormente se registró su presencia en casi la totalidad de las regiones productoras de musáceas del mundo y ha sido considerada como una de las enfermedades más devastadoras del cultivo. [37]

Para asegurar el tamaño y la calidad de la fruta, la planta debe tener por lo menos 8 hojas funcionales en el momento de la floración, aunque lo ideal son 12 hojas. El tiempo caluroso y alta humedad relativa favorecen la rápida propagación del hongo. Condiciones que favorecen la alta humedad como suelos mal drenados, plantaciones muy cerradas, exceso de malezas e hijos, deben ser controladas. La fertilización, sobre todo en suelos pobres, ayuda a la planta a levantar sus defensas. [37]

2.2.1. Clasificación

En la siguiente tabla, se presenta la clasificación de los agentes causales de la sigatoka Negra y de la sigatoka amarilla.

TABLA 1.
CLASIFICACION DE LOS AGENTES CAUSALES DE LA SIGATOKA
NEGRA Y LA SIGATOKA AMARILLA

	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	<i>Mycosphaerella musicola</i>
REINO	Fungi	Fungi
DIVISION	Ascomycota	Ascomycota
SUBDIVISION	Pezizomycotina	-
CLASE	Dothideomycetes	Dothideomycetes
SUBCLASE	-	Dothideomycetidae
ORDEN	Mycosphaerellales	Capnodiales
FAMILIA	-	Mycosphaerellaceae
GENERO	Mycosphaerella	Mycosphaerella
ESPECIE	fijiensis	musicola
CLASIFICADOR	Pierre A. Morelet	R. Leach ex J.L. Mulder, (1976)

Marín D. 2003.

2.2.2. Caracterización de las especies de importancia mundial

Las Sigatoka Negra y la amarilla, son difíciles de diferenciar entre sí a nivel de campo con base en los síntomas externos, lo cual no permite establecer con claridad cual de las dos enfermedades tiene mayor incidencia cuando están coexistiendo a nivel de microscopio, *M. fijiensis* y *M. musicola* se distinguen principalmente por las diferencias morfológicas de sus anamorfos.

A nivel de campo los síntomas ocasionados por ambas enfermedades pueden indicar diferencias, éstas no son suficientemente claras para distinguir con precisión ambas sigatokas. A nivel microscópico, los peritecios del estado sexual de *M. musicola* y *M. fijiensis* son muy parecidos y se localizan inmersos en el tejido necrosado de las lesiones, midiendo aproximadamente 51-86 x 35-77 μ . El estado asexual de *M. musicola* forma estromas (esporodoquios) tanto en la haz como en el envés de las hojas, siendo más abundantes sobre la haz y los conidios, y sin cicatriz (hilio) en el punto de unión con el esporodoquio; mientras que el estado asexual de *M. fijiensis* produce conidióforos simples con cicatriz, tanto en la base de los conidios como en los conidióforos. [14]

En ambas especies los conidios son alargados, septados, hialinos y aciculares. De acuerdo con lo anterior, los estados sexuales de *M. musicola* y *M. fijiensis* son indistinguibles. Ambos microorganismos se distinguen principalmente a través de diferencias morfológicas de sus anamorfos, en particular las características de los conidióforos y conidios, específicamente

por la presencia de cicatrices en los conidióforos y conidios de *M. fijiensis*, ausentes en *M. musicola*. La abundancia de estromas y conidios de *P. fijiensis* en la parte inferior de las lesiones y de *P. musae* en la parte superior, también sirve como guía rápida para la identificación de estas especies [15].

2.3. Elaboración de los biofertilizantes líquidos

Los biofertilizantes líquidos, son enmiendas a base de productos de origen animal o vegetal que se incorporan al suelo para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, que se aplican al follaje para potenciar su vigor y resistencia. Se diferencian exclusivamente por los materiales empleados para su elaboración y del tipo de descomposición a la que se someten, los materiales por ejemplo suelen ser los que se tengan a disposición cerca de la finca o sea de bajo costo su adquisición.

En cuanto al tipo de descomposición de los materiales esta puede ser aeróbica en la que los microorganismos consumen oxígeno y utilizan una fuente de carbono orgánico para generarlos posteriormente en dióxido de carbono, nitratos y sulfatos, entre otros

compuestos. La descomposición anaeróbica al contrario de la anterior sucede en ausencia de oxígeno en el cual están presentes la bacterias hidrolíticas estas se encargan de convertir las moléculas orgánicas complejas a más simples, estas bacterias formadoras de ácidos transforman las moléculas simples en ácidos orgánicos luego éstas los transforman a metano, dióxido de carbono y otros productos como el ácido sulfhídrico.

Otro punto importante para la elección del tipo de descomposición es el tiempo con que se cuente ya que la descomposición aeróbica es más rápida y la descomposición anaeróbica toma varios días hasta meses para obtener el producto deseado. [44]

Para la elaboración de lixiviados se puede emplear cualquier materia orgánica, con la condición de que no se encuentre contaminada a fin de evitar la proliferación de microorganismos patógenos. Generalmente estas materias primas proceden de:

- Restos de cosechas. Pueden emplearse para hacer compost. Los restos vegetales jóvenes como hojas, frutos, tubérculos, etc. son ricos en nitrógeno y pobres en carbono. Los restos

vegetales más adultos como troncos, ramas, tallos, etc. son menos ricos en nitrógeno.

- Abonos verdes, malas hierbas, etc.
- Las ramas de poda de los frutales. Es preciso triturarlas antes de su incorporación al compost, ya que con trozos grandes el tiempo de descomposición se alarga.
- Hojas. Pueden tardar meses o años en descomponerse, por lo que se recomienda mezclarlas con otros materiales.
- Restos urbanos. Se refiere a todos aquellos restos orgánicos procedentes de las cocinas como pueden ser restos de fruta y hortalizas, restos de animales de mataderos, etc.
- Estiércol animal. Destaca el estiércol de vaca, aunque otros de gran interés son la gallinaza, estiércol de caballo, de oveja y los purines.
- Plantas marinas. Especies marinas como *Posidonia oceánica*, que pueden emplearse como materia prima para la fabricación de compost ya que son compuestos ricos en N, P, C, oligoelementos y biocompuestos.

- Algas. También pueden emplearse numerosas especies de algas marinas, ricas en agentes antibacterianos y antifúngicos y fertilizantes para la fabricación de compost. [32]

2.3.1. Calidad de los biofertilizantes líquidos

La calidad de los biofertilizantes líquidos depende mucho de la fuente de la que son obtenidos los materiales para su elaboración y del manejo adecuado de los mismos. Los biofertilizantes líquidos son productos que poseen altos valores proteicos y de micronutrientes. La calidad se la cuantifica con sus respectivos análisis químicos de micro y macronutrientes presentes y de microorganismos tomando en cuenta si estos son o no benéficos.

La presencia de minerales en los biofertilizantes brindan una característica de sustancias mejoradoras de los suelos. Dicho de otra manera los biofertilizantes líquidos son fuentes naturales de nutrientes que pueden superar con creces el efecto de los fertilizantes sintéticos en algunas ocasiones. [49]

2.3.2. Los biofertilizantes líquidos en el control de Sigatoka negra

Soto (2000), afirma que el uso de bioestimulantes, aplicados a cultivos ejercen funciones fisiológicas importantes que provocan una serie de efectos positivos en las plantas, entre los cuales se mencionan, aumento del área foliar y una mejor absorción de nutrientes, aspectos que benefician en el control de la sigatoka negra. [46]

Los nutrientes presentes en los biofertilizantes, actúan activando mecanismos de defensa en la planta en algunos casos el endurecimiento de la cutícula de la hoja dificultando la colonización del agente causal de la sigatoka negra.

Según Francis Chaboussou y su teoría de la trofobiosis, la aparición de las plagas es ocasionada por la utilización de fertilizantes sintéticos ya que se crea un desequilibrio en la planta al existir un exceso de aminoácidos libres, azúcares y nitratos en las hojas los que las hace más apetecibles para los insectos.[48]

2.3.3. El potencial de extractos y lixiviados de desechos vegetales en el control de la sigatoka negra

Los residuos de origen vegetal son materiales fertilizantes de gran importancia en la práctica de la agricultura orgánica, pues debidamente procesados son capaces de mejorar la calidad física, química y biológica de los suelos. Estos residuos se deben aplicar a los suelos haciendo parte de enmiendas orgánicas de acuerdo a los requerimientos nutricionales de los mismos.

Los ácidos fúlvicos extraídos del raquis de plátano contienen una alta concentración de potasio, el cual tiende a inducir resistencia a algunas enfermedades. [4]

Estudios realizados por Stindt y Weltzein (1990), Weltzein (1992) y Yohalem *et al.* (1994), relatan que los lixiviados se han usado durante muchos años en aspersiones a nivel foliar para el control de enfermedades fungosas en plantas. Además, en estudios publicados por Álvarez *et al.* (2002) se afirma que las aplicaciones al 5% de ácidos fúlvicos

provenientes del lixiviado de plátano reduce la severidad del mildew polvoso en rosa. [4]

Es importante tener en cuenta la relación C/N en los lixiviados obtenidos a partir de los raquis de los diferentes materiales, para saber que tipo de proceso se esta dando si es mineralización (descomposición microbiana Orgánica a inorgánica) o inmovilización (descomposición microbiana inorgánica a orgánica) [5]

2.3.4. Propiedades y características de los materiales utilizados en su elaboración

Lo que caracteriza a la agricultura orgánica es que no existe una receta específica para el desarrollo de productos, esto nos indica que existen infinidad de materiales que se pueden utilizar para la elaboración de los biofertilizantes, aquí lo importante es trabajar con materiales que se tengan a la mano o nos resulten fáciles de conseguir y no sean de elevado costo, Por esta característica podemos clasificar los

materiales en 4 grandes grupos dependiendo de la función que van a cumplir en el proceso de elaboración.

- Fuente de energía: su función es la de proporcionar la energía que necesitan los microorganismos para su desarrollo en forma de azúcares, como por ejemplo: melaza, azúcar, panela.
- Fuente disolvente: El agua cumple la función de mantener hidratados los componentes del biofertilizante.
- Fuente de microorganismos procesadores: Estiércol, nitrógeno, microorganismos eficientes, levadura.
- Fuente de minerales: aquí tenemos algunos componentes como son materia verde, leche, harina de pescado, etc.

Además de los ingredientes básicos se pueden utilizar otros ingredientes dependiendo de las necesidades de nuestro cultivo. También se pueden agregar sales minerales permitidas en la agricultura orgánica para aumentar el contenido de macro y micro nutrientes en el biofertilizante.

El lixiviado es el líquido que se obtiene a partir de la descomposición lenta y en forma aeróbica de la materia orgánica. [10]

La materia orgánica descompuesta, como en el caso de los lixiviados adicionados a los suelos agrícolas mejora las propiedades físicas del suelo, aumentando la permeabilidad y capacidad de retención de agua del suelo. Mejora las propiedades químicas, Aumenta el contenido en macronutrientes N, P, K, y micronutrientes, es fuente y almacén de nutrientes para los cultivos. Mejora la actividad biológica del suelo incrementando la biomasa microbiana contribuyendo con el mantenimiento de la productividad del ecosistema por medio de la transformación de los materiales orgánicos del suelo. [40]

CAPÍTULO 3

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Materiales y Métodos.

Ubicación geográfica.- El desarrollo de esta investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), edificio PROTAL de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, Campus “Gustavo Galindo” ubicado en el Km 30,5 de la vía Perimetral en la ciudad de Guayaquil, Ecuador.

Con respecto a los materiales utilizados, se los presenta en dos grupos:

Material fúngico.- Colonias, ascosporas y micelio de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, obtenidas bajo condiciones controladas, siguiendo protocolos estandarizados del área de Fitopatología del CIBE (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador). Ver apéndice A.

Lixiviados de raquis.- productos líquidos obtenidos de la descomposición de raquis de las especies en estudio: bananos (Cavendish, AAA; orito, AA) y plátano (AAB). Ver apéndice B.

3.2 Metodología

Obtención de lixiviados

Se construyó 12 camas recolectoras (lixiviadores) con una base de cemento de 1x1 m con una leve inclinación en el centro para facilitar la escorrentía de los líquidos, las camas estaban protegidas contra la lluvia y el exceso de sol con láminas de Zinc. Se realizó una abertura en la tapa de los tanques de recolección para facilitar el libre ingreso del lixiviado mediante gravedad, que fue conducido a través de un tubo de PVC previamente adaptado. Ver apéndice B

Una vez que se obtuvo los raquis de las especies de interés, se los cortó en mitades. Luego se los ubicó en los lixiviadores formando un montículo de aproximadamente 1 m de altura, dejando un espacio libre entre las filas de raquis y el extremo que colinda con el tanque recolector para que el lixiviado fluya sin problema. Posteriormente se regó con agua algunas de las camas. Para otros tratamientos se

preparó una mezcla de 1 L de microorganismos eficientes con 1 L de melaza en 20 L de agua. Esta preparación se dejó reposar por tres días. Se aplicó la mezcla en una proporción de 10 L por cama para obtener el efecto de humedad. Este procedimiento se lo realizó con una frecuencia de tres veces por semana para todos los tratamientos.

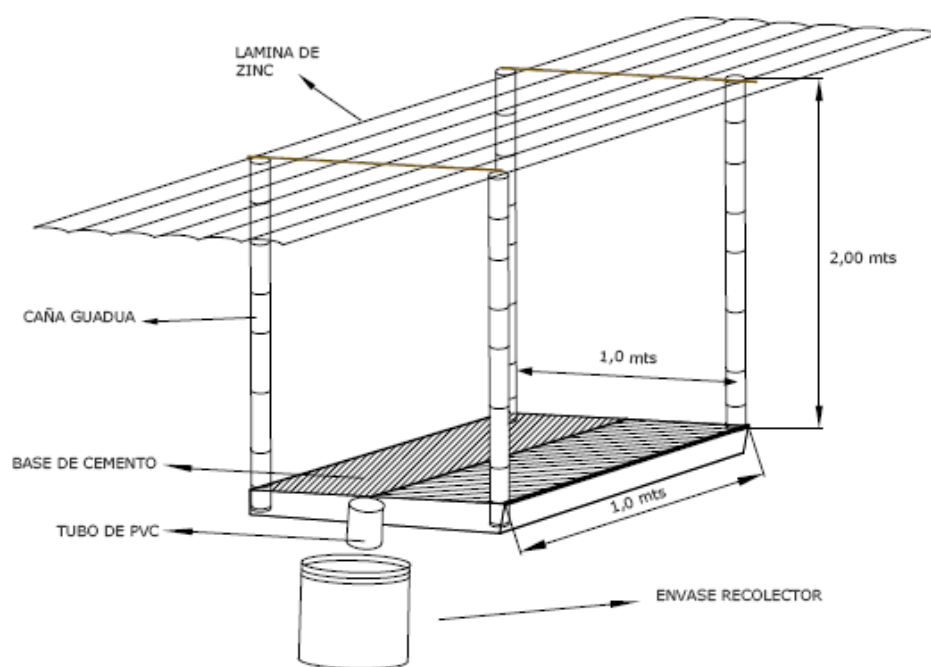


FIGURA 3.1. INFRAESTRUCTURA LIXIVIADORES.

La degradación de estos materiales fue mediante descomposición aeróbica. La solución de EM se aplicó para que acelere el proceso de descomposición. A los 7 días se realizó la primera recolección del

producto, la segunda recolección se realizó 10 días después y así sucesivamente hasta completar un total de 4 recolecciones.

Las muestras recolectadas fueron envasadas e identificadas. Para su conservación se utilizó envases plásticos que fueron almacenados a temperatura ambiente en un lugar fresco y seco. Se filtró y se tomó el pH de los lixiviados para su registro.

Caracterización de los lixiviados

Para la caracterización química de los lixiviados utilizados en los ensayos de este estudio se tomó 6 muestras de aproximadamente 500ml, que fueron enviadas a un laboratorio químico.

Evaluación In vitro de la actividad de los lixiviados sobre estructuras de *M. fijiensis*.

Tratamientos.- Se realizó los ensayos con 3 tipos de lixiviados provenientes de raquis de orito, banano o plátano; los cuales, fueron elaborados con y sin la aplicación de microorganismos eficientes. Los 6 productos que se probaron sobre todas las estructuras de *M. fijiensis* en diferentes dosis que se mencionan en el cuadro inferior.

TABLA 2.
DOSIS DE LOS PRODUCTOS

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>CONCENTRACION DE LIXIVIADOS (%)</i>
T1	0.5
T2	1
T3	3
T4	5
T5	10
T6	30
T7	70
T8	Control

Evaluación sobre ascosporas.

Para la obtención de ascosporas, se seleccionó hojas de banano con síntomas esporulantes de sigatoka negra y se separó las partes con mayor presencia de síntomas. Luego de limpiar dichas partes de las hojas, se realizó cortes de 2 x 3 cm. Con el envés a la vista, se grapó de 5 a 6 secciones de hoja en un pedazo de papel filtro. Luego se colocó éstas muestras en cámara húmeda durante 48 horas a temperatura ambiente para generar el microclima necesario para la esporulación del hongo. Ver apéndice D.

El medio agar/agua se preparó con antelación. Se dispuso las cantidades preestablecidas de producto, para luego esterilizar el medio más producto en los matraces de erlenmeyer.

Una vez esterilizado, en la cámara de flujo laminar se dispensó el medio con sus respectivos tratamientos en las cajas petri, se dejó enfriar hasta que el medio se solidificó. Luego de esto se impregnó los papeles filtro a las tapas de las cajas petri para permitir la descarga. Se esperó 1 hora hasta que ocurra la descarga, finalmente se selló las cajas petri y se las incubó durante 72 horas a 26°C.

Después del periodo de incubación se evaluó la longitud del tubo germinativo de las ascosporas. Se contó y midió alrededor de 25 ascosporas germinadas por tratamiento con la ayuda del microscopio invertido. Ver apéndice E. En este ensayo se realizó 8 tratamientos con 25 observaciones utilizando un diseño completamente al azar DCA.

Evaluación sobre colonias

El crecimiento de colonias de *M. fijiensis* se valoró utilizando medios de cultivo sólido en donde se realizó siembras de órganos asexuales del patógeno (conidias).

Se preparó el medio de cultivo PDA. En este experimento se utilizó las siguientes dosis:

- 0.5% con 0.2 ml de lixiviado
- 1% con 0.4 ml de lixiviado
- 3%, con 1.2 ml de lixiviado
- 5% con 2 ml de lixiviado
- 10% con 4 ml de lixiviado
- 30% con 12 ml de lixiviado
- 70% con 28 ml de lixiviado.

En el caso del control solo se aplicó medio solido sin lixiviado. Se procedió a esterilizar en la autoclave a 121°C, con una presión de 10^5 Pa durante de 25 minutos. Bajo condiciones asépticas y con la ayuda de la cámara de flujo laminar se dispensó 10ml de medio envenenado por cada caja petri.

Se cuantificó las conidias con la ayuda de una cámara de Neubauer para determinar la concentración conidial por ml siendo óptima la concentración de 7000 conidias por ml. Utilizando una micro pipeta de 10:100 se colocó 100 µl de solución conidial en cada una de las cajas. Después de la inoculación con *M. fijiensis* las cajas fueron mantenidas

en una incubadora a 26⁰ C, para luego de 7 y 15 días de la inoculación proceder a su evaluación.

Transcurridos los 7 y 15 días de siembra de las conidias, se seleccionó 5 colonias por caja en cada repetición por tratamiento. Las colonias desarrolladas en las cajas petri fueron medidas con ayuda de una regla milimetrada. Ver apéndice F.

En este ensayo se realizó 8 tratamientos, cada uno con 20 observaciones.

Evaluación sobre micelio

Para la evaluación del peso del micelio se preparó medio nutritivo líquido PD-V8 modificado, después de preparado el medio se lo distribuyó en los frascos de cristal, según el número de tratamientos que se realizó. Luego se los esterilizó en una autoclave a 121⁰ C y 15 lb/pul² por 25 minutos.

En cada frasco se dispensó una cantidad de 25 ml de medio más producto por dosis. Una vez dispensado se dejó enfriar los frascos en la cámara de flujo laminar. Se seleccionó colonias limpias de *M. fijiensis* y con el bisturí fueron cortadas y trasladadas al medio líquido. Una vez que se realizó la inoculación por tratamiento se los mantuvo en inoculación por 15 días dispuestos aleatoriamente en una zaranda New

Brunswick a 140 r.p.m. Todos los frascos fueron colocados aleatoriamente en un equipo de agitación rotatoria en la que permanecieron durante 15 días, hasta su evaluación. Ver apéndice G.

Para determinar el crecimiento del micelio del hongo; se filtró el micelio de cada frasco con papel filtro previamente pesado e identificado, y se registró su peso húmedo a las 4 horas y a las 48 horas su peso seco. En este ensayo se realizó 8 tratamientos con 5 observaciones en cada uno, utilizando el diseño completamente al azar, DCA.

3.3. Diseño Experimental

En el experimento se utilizó un diseño completamente al azar. (DCA) debido a que todas las condiciones fueron controladas en laboratorio.

3.4. Análisis Estadístico

En la presente investigación se empleó análisis de varianza de una vía (ADEVA). El ADEVA es utilizado para determinar la presencia de diferencias entre las medias de dos o más muestras que se someten a diferentes tratamientos. Se toma como supuestos que las observaciones son independientes, existe homogeneidad de varianzas y que existe

normalidad de los datos. La prueba indica, si existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos en evaluación, pero no establece cual es la diferencia entre los tratamientos. Para conocer esto, se utilizó las pruebas de significancia como Duncan, Tukey o pruebas de comparación de medias.

Los datos obtenidos de diámetro de colonias, longitud de tubo germinativo en ascosporas, y peso de micelio fueron introducidos en tablas probit, las que arrojan el porcentaje de inhibición tomando como referencia las medidas del control.

El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la media de las observaciones de control para cada estructura analizada. Para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%INH = \frac{\bar{x}_{control} - x_i}{\bar{x}_{control}} * 100$$

En donde: $\bar{x}$ media
 x_i observación de cada
 Tratamiento

Luego se tomó cada resultado del porcentaje de inhibición y se lo promedió para obtener el porcentaje promedio de inhibición para cada uno de los tratamientos.

CAPÍTULO 4.

4. ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación se presenta el efecto de los tratamientos estudiados sobre los parámetros analizados.

4.1. Análisis de Resultados

Caracterización de lixiviados

La caracterización de los lixiviados se la realizó mediante pruebas de laboratorio. Las pruebas químicas fueron realizadas por la Dra. Carmen Montiel. Jefe de laboratorio de Inspectorate del Ecuador S.A. Ver apéndice H.

En la siguiente tabla se muestra el coeficiente de variación de los productos de orito, banano y plátano. Basados en los resultados obtenidos del análisis químico tanto para macro y micro nutrientes.

TABLA 3.
COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LAS MUESTRAS DE LIXIVIADOS DE RAQUIS

	Elementos	ORITO	BANANO	PLATANO
		CV %	CV %	CV %
MACRONUTRIENTES % (g/100g)	N	5,57	30,68	47,30
	P (%)	2,18	0,00	42,13
	K	3,61	11,63	48,01
	Ca	2,05	130,50	113,30
	Mg	0,79	127,39	72,22
MICRONUTRIENTES (ppm)	Zn	9,03	103,15	127,04
	Cu	15,71	114,48	116,28
	Mn	27,89	112,82	130,85
	Fe	57,50	123,73	118,41
	Si mg/l	4,88	79,63	29,84

En la tabla 3. se puede observar que en el coeficiente de variación del contenido de macro y micro nutrientes para los diferentes lixiviados estudiados, existe mucha variabilidad, a excepción del nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y silicio (Si), donde el coeficiente de variación se encuentra entre 30 y 50%.

Con esto se puede deducir que los elementos N, P, K y Si, se encuentran presentes en la producción de lixiviados de musáceas, esto es algo beneficioso ya que el silicio es un elemento que ayuda en la inducción de resistencia de las plantas contra las enfermedades en este caso contra el hongo de la Sigatoka Negra.

Evaluación In vitro de la actividad de los lixiviados sobre estructuras de *M. fijiensis*

A continuación se presenta las tablas de resultados obtenidas y las figuras comparativos.

Evaluación sobre ascosporas.

Una vez confirmada la existencia de diferencia significativa ($\alpha < 0,001$), entre los tratamientos, se realizó una prueba de Duncan para determinar cuál es el mejor tratamiento. Además se efectuó el cálculo del porcentaje de inhibición para cada producto donde se encontró los siguientes resultados:

TABLA 4.
LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE ASCOSPORAS DE *M. FIJIIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON Y SIN EM

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Banano con EM	0,5	6,96	50,99
	1	15,08	-6,20
	3	14,16	0,28
	5	11,16	21,41
	10	9,76	31,27
	30	5,16	63,66
	70	4,24	70,14
	Control	14,2	0
Raquis de Banano sin EM	0,5	26,68	-45,00
	1	18,04	1,96
	3	20,08	-9,13
	5	11,4	38,04
	10	19,16	-4,13
	30	14,12	23,26
	70	11,04	40,00
	Control	18,4	0

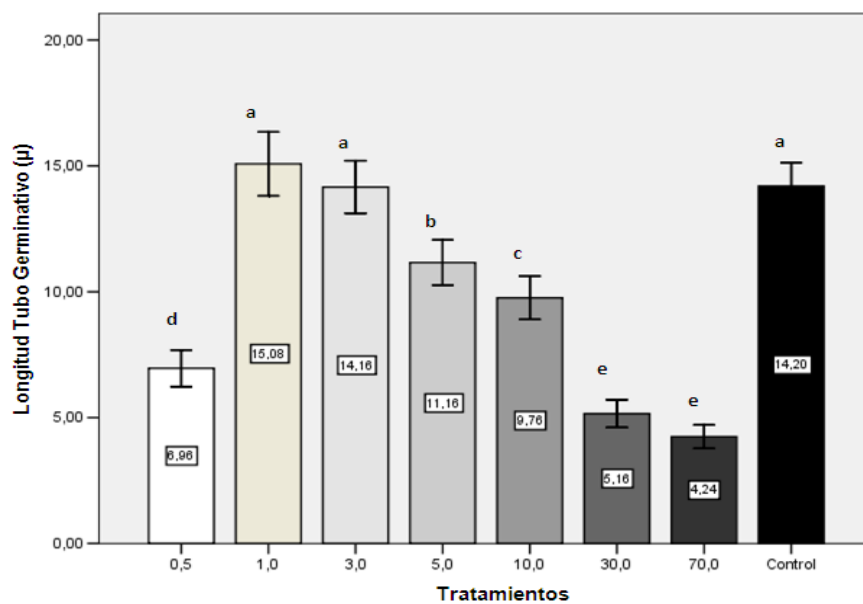


FIGURA 4.1. LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO CON EM.

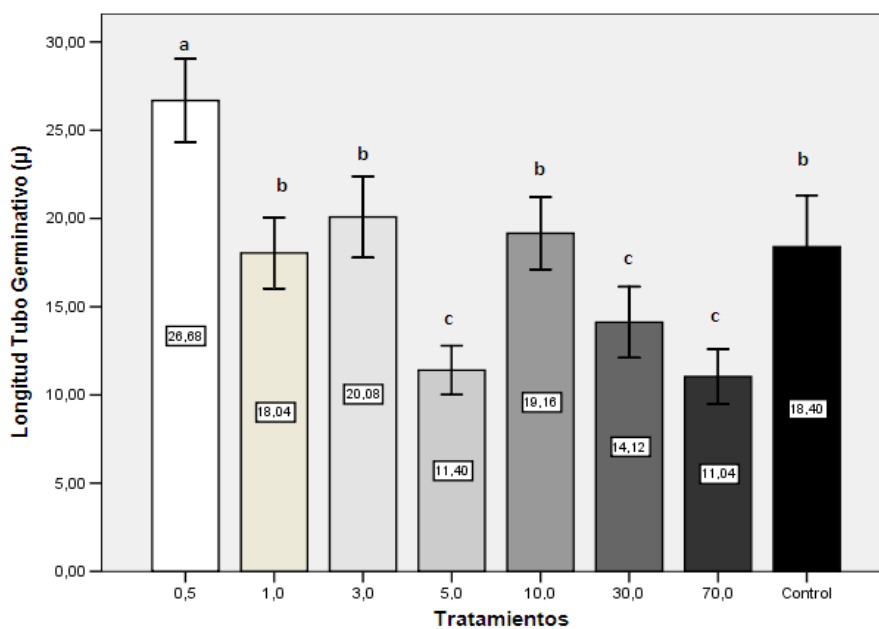


FIGURA 4.2. LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO SIN EM.

Se utilizó la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$), individualmente, para los tratamientos de raquis de banano con y sin EM, y se puede resaltar el porcentaje de inhibición con un valor de 70,14%, para el lixiviado de raquis de banano con EM, aunque estadísticamente este tratamiento es igual al tratamiento del 30% de raquis de banano con EM. La dosis letal DL50, se la puede ubicar en un 16,4 %.

Por otro lado se puede destacar que el tratamiento que menor porcentaje de inhibición obtuvo fue el de la dosis del 0,5% del producto raquis de banano sin EM, registrando un valor de -45%, esto nos indica que el crecimiento del tubo germinativo fue mucho mayor que en el tratamiento de control.

En las siguientes figuras se presenta los porcentajes de inhibición versus las concentraciones, se aplicó una línea de tendencia polinómica de tercer grado que ayudó a explicar el comportamiento de los datos.

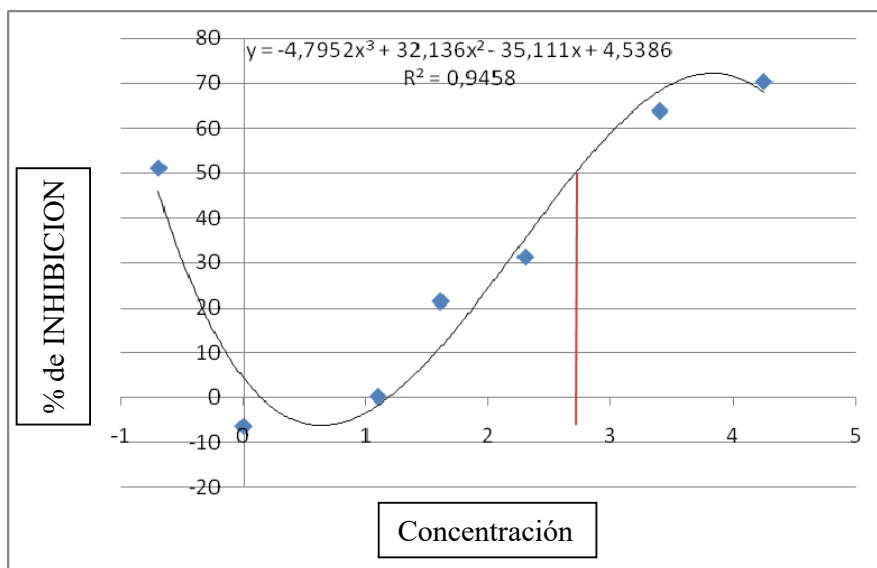


FIGURA 4.3. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

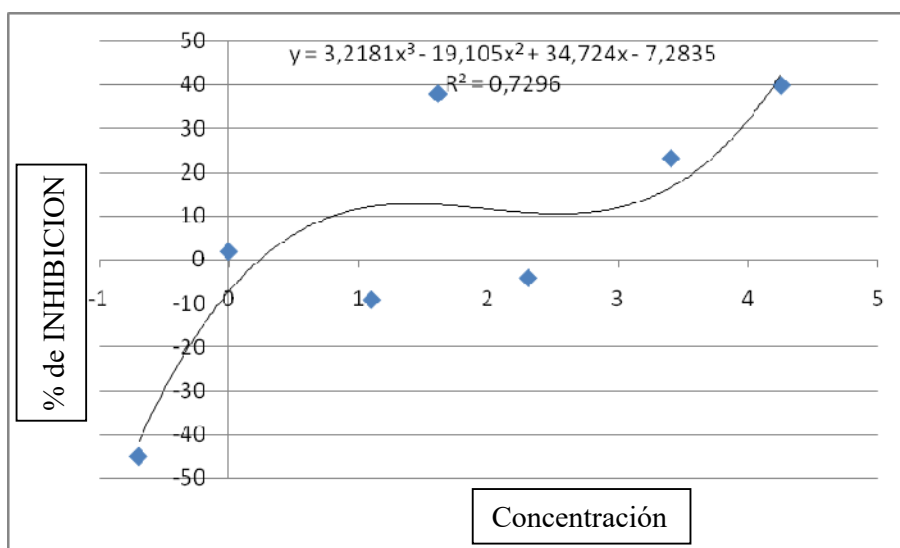


FIGURA 4.4. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

TABLA 5.

LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE ASCOSPORAS DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLÁTANO CON Y SIN EM

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Plátano con EM	0,5	10,24	12,93
	1	8,48	27,89
	3	8,8	25,17
	5	10,24	12,93
	10	9,48	19,39
	30	7,28	38,10
	70	5,68	51,70
	Control	11,76	0
Raquis de Plátano sin EM	0,5	15,44	-7,22
	1	12,72	11,67
	3	12,08	16,11
	5	13,36	7,22
	10	11,92	17,22
	30	10,48	27,22
	70	9,84	31,67
	Control	14,4	0

En los análisis de Duncan para los productos de raquis de plátano con y sin EM, para cada uno, se puede observar que el tratamiento con un mayor porcentaje de inhibición y estadísticamente diferente del resto es el de raquis de plátano al 70% registrando un valor de 51,70%. La dosis letal DL50 calculada es de 60,34%. Mientras que el tratamiento que obtuvo el menor porcentaje de inhibición es el tratamiento de raquis de plátano sin EM con un valor promedio de -7,22%, ya que en éste, el hongo creció mucho más que en el control. Estas diferencias se pueden observar en las figuras 4.5 y 4.6.

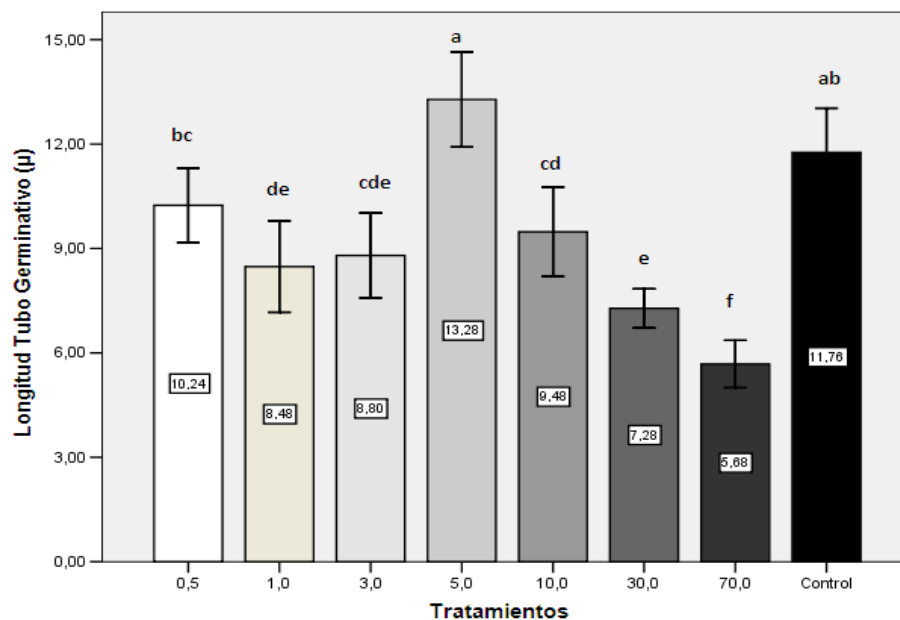


FIGURA 4.5 LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOSPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLATANO CON EM.

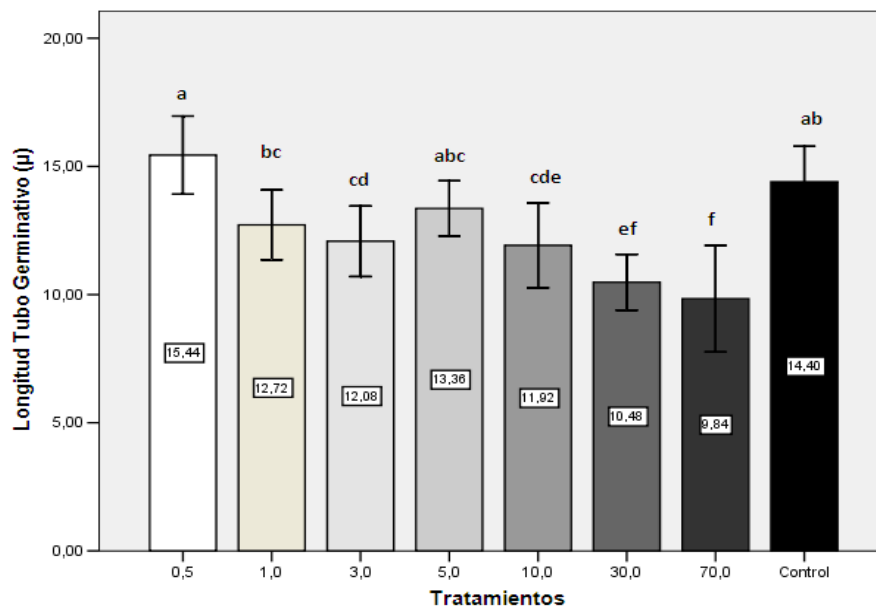


FIGURA 4.6. LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOSPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLATANO SIN EM.

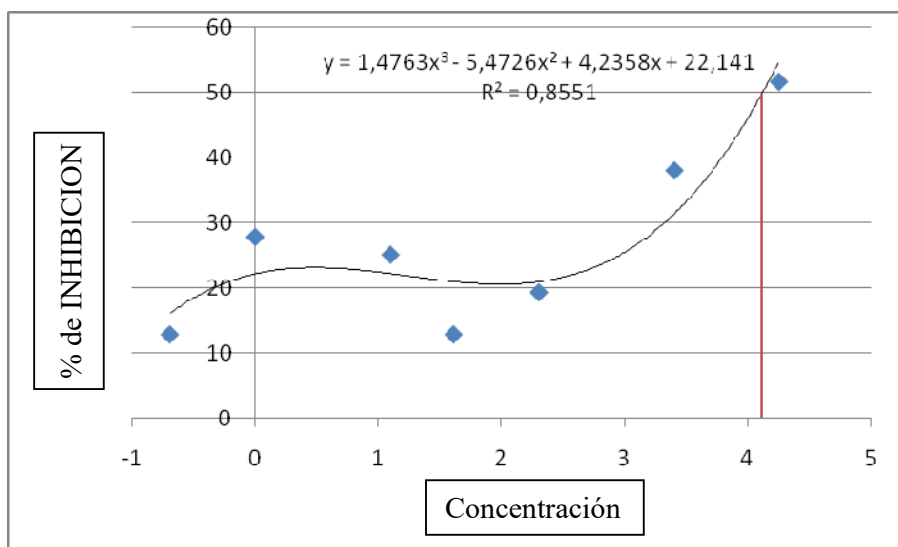


FIGURA 4.7. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

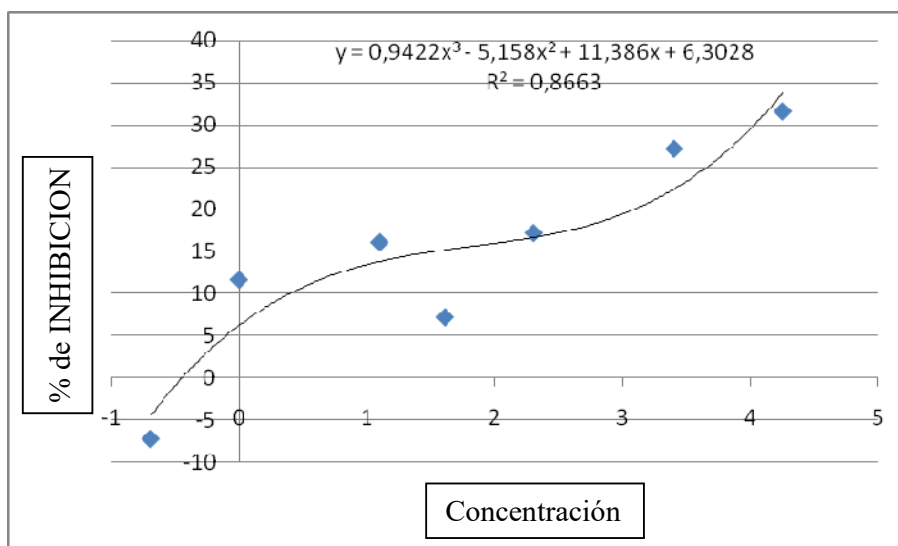


FIGURA 4.8. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

En las figuras 4.7 y 4.8, se presenta una comparación de la concentración del raquis de plátano con y sin EM respectivamente, versus el porcentaje de inhibición sobre el tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis*, en donde se utilizó una línea de tendencia polinómica de tercer grado para explicar el comportamiento de los datos, el valor de correlación (R^2), nos indica que tan bien se ajusta la línea de tendencia a los datos.

En la tabla 6. se muestra los resultados obtenidos para los tratamientos con lixiviados de raquis de orito con y sin EM.

TABLA 6.

LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE ASCOSPORAS DE *M. FIJIIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON Y SIN EM

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Orito con EM	0,5	21,68	23,71
	1	13,68	37,13
	3	16,52	24,08
	5	23,68	-8,82
	10	22,52	-3,49
	30	16,88	22,43
	70	8,96	58,82
	Control	21,76	0
Raquis de Orito sin EM	0,5	9,28	28,40
	1	8,92	31,17
	3	6	53,70
	5	11,04	14,81
	10	8,4	35,19
	30	4,52	65,12
	70	3,6	72,22
	Control	12,96	0

Asimismo con el análisis de Duncan el tratamiento con mayor inhibición, de los lixiviados de orito, sobre el crecimiento del tubo germinativo de las ascosporas de *M. fijiensis* fue el de la dosis al 70% sin EM con un porcentaje de inhibición del 72,22%. La dosis letal DL50 calculada fue de 66,69%.

Mientras que el tratamiento que tuvo el menor porcentaje de inhibición fue el de la dosis al 5% con EM, registrando un valor de inhibición del -8.82%. Esto se puede observar en las figuras 4.9 y 4.10.

En las figuras 4.11 y 4.12, se presenta una comparación de la concentración del raquis de orito con y sin EM, por separado, versus el porcentaje de inhibición sobre el tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis*.

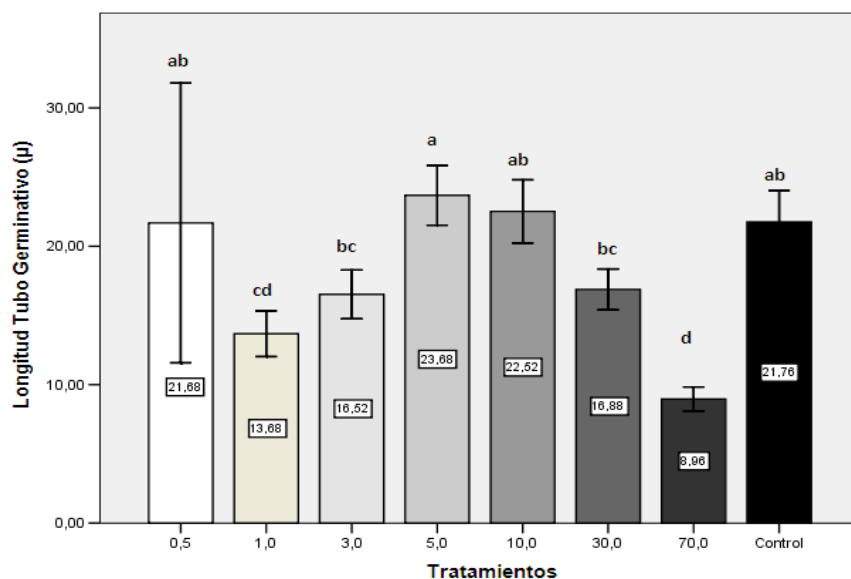


FIGURA 4.9. LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOSPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO CON EM.

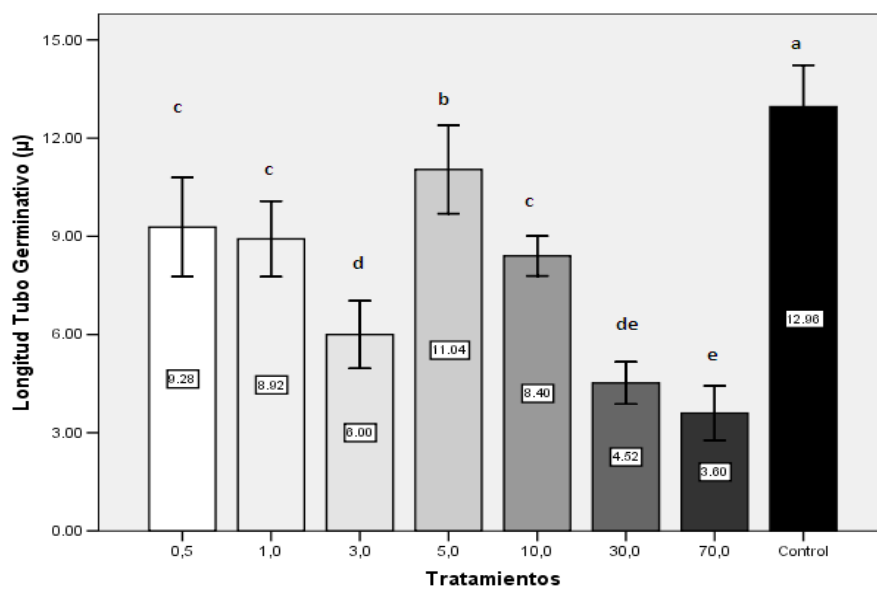


FIGURA 4.10. LONGITUD DEL TUBO GERMINATIVO DE ASCOSPORAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO SIN EM.

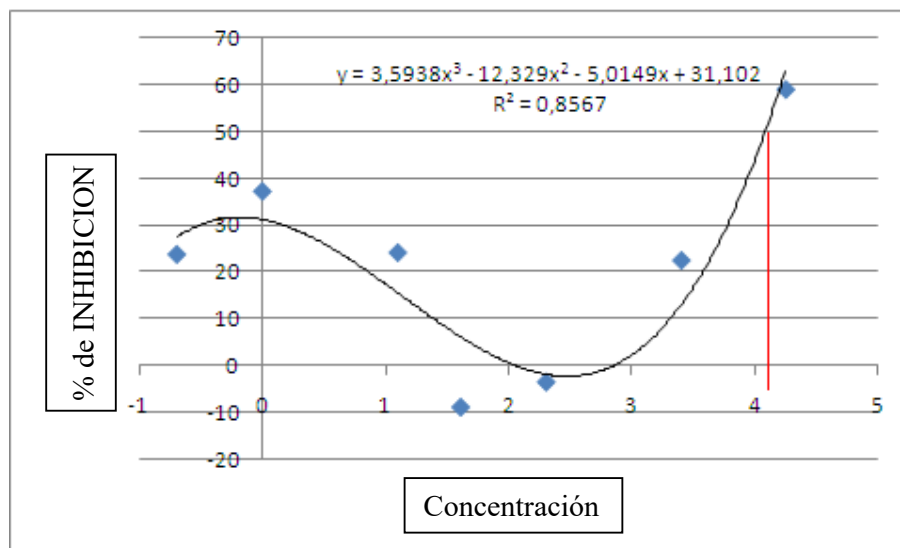


FIGURA 4.11. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

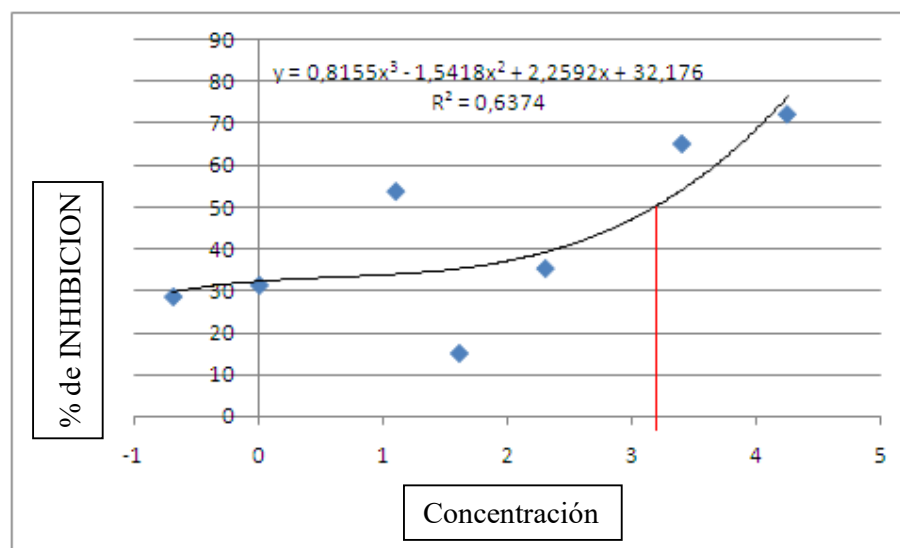


FIGURA 4.12. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN ASCOSPORAS.

Evaluación sobre colonias

Se presenta los datos de inhibición a los 15 días de los ensayos, donde se obtuvo los siguientes resultados:

TABLA 7.
DIÁMETRO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE COLONIAS DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON Y SIN EM

Producto	Concentración	Diámetro Colonias (mm)	% INH.
Raquis de Banano con EM	0,5	2,5	5,66
	1	2,4	9,43
	3	2,6	1,89
	5	2,525	4,72
	10	2,2	16,98
	30	2,075	21,70
	70	0,625	76,42
	Control	2,65	0
Raquis de Banano sin EM	0,5	2,8	38,46
	1	3,3	27,47
	3	2,73	40,00
	5	4,2	7,69
	10	3,5	23,08
	30	1,85	59,34
	70	1,05	76,92
	Control	4,55	0

Se determinó, mediante la prueba de Duncan, que el tratamiento que mayor porcentaje de inhibición sobre el desarrollo de colonias de *M. fijiensis* obtuvo, fue el de raquis de banano con EM con un valor de 76.42%, aunque el tratamiento raquis de banano sin EM al 70% tiene un mayor porcentaje de inhibición, este es descartado como el mejor, ya que al revisar la figura de porcentaje de inhibición versus la concentración (figura 4.15 y 4.16), se observa que el coeficiente de

correlación en el caso de raquis de banano con EM se acerca al valor de uno mucho más que en el caso de raquis de banano sin EM.

Es por esto que la dosis letal DL50 calculada fue de 44,70% para el tratamiento de raquis de banano con EM.

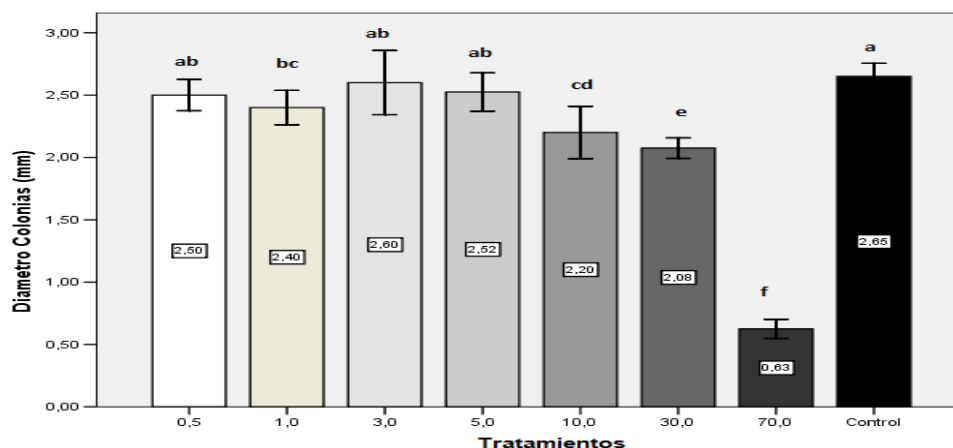


FIGURA 4.13. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO CON EM.

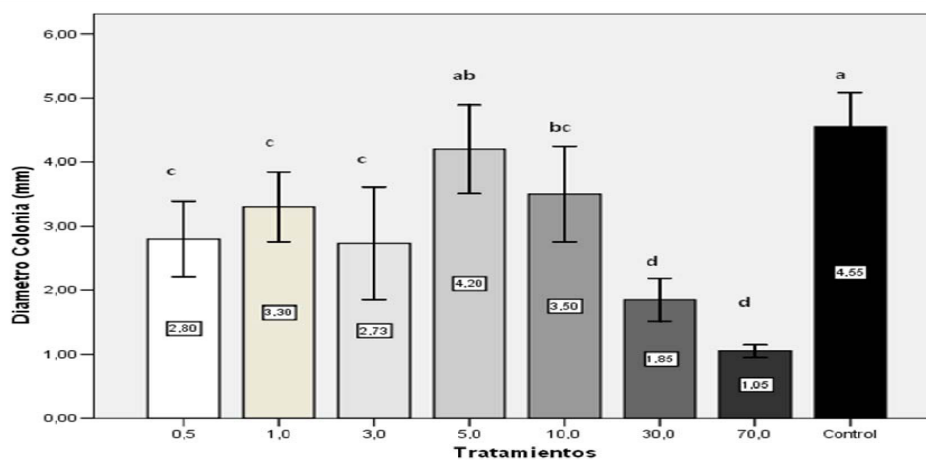


FIGURA 4.14. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO SIN EM.

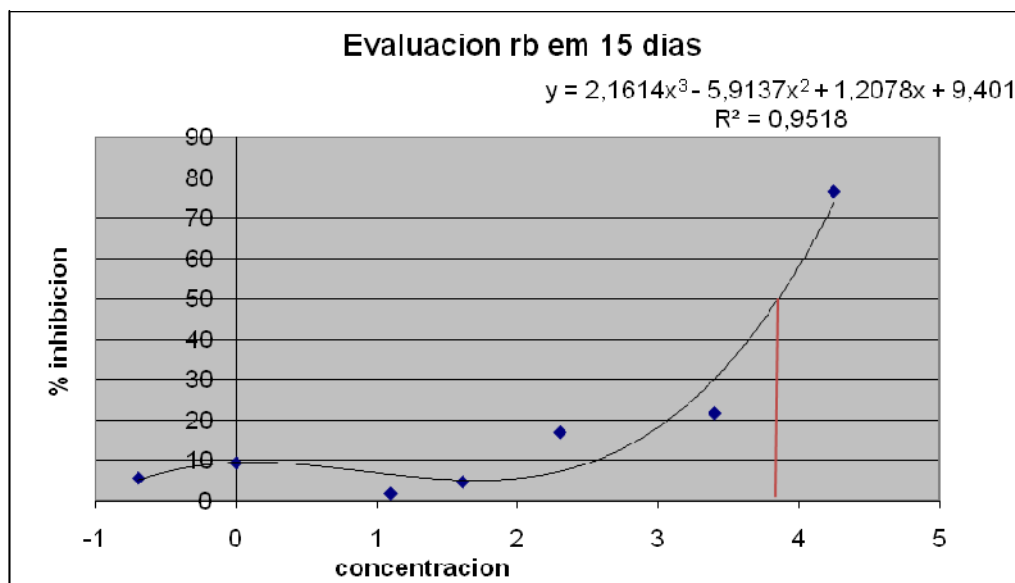


FIGURA 4.15. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

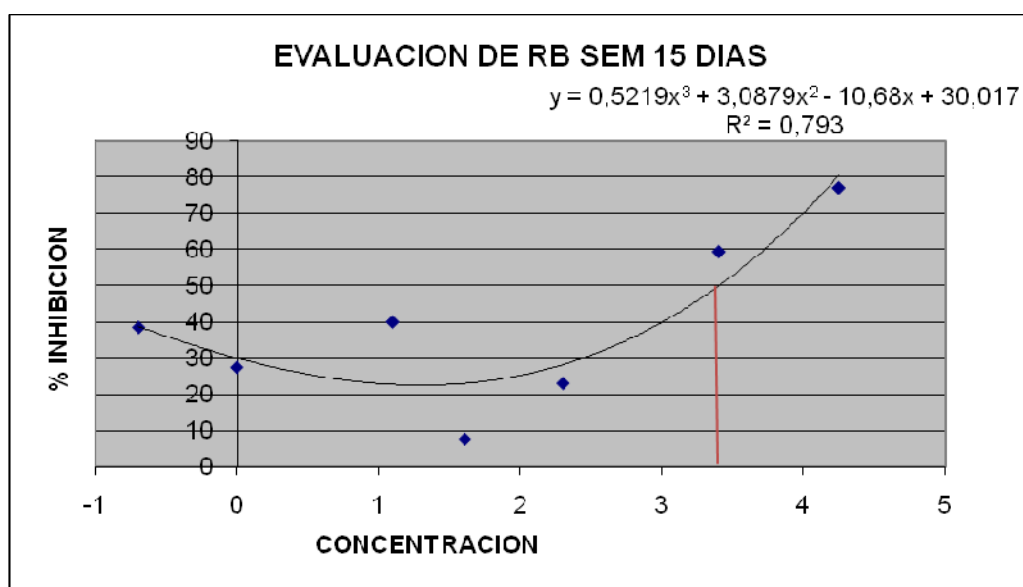


FIGURA 4.16. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

TABLA 8.

DIÁMETRO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE COLONIAS DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLÁTANO CON Y SIN EM.

Producto	Concentración	Diámetro Colonias (mm)	% INH.
Raquis de Plátano con EM	0,5	4,095	2,27
	1	3,255	22,32
	3	3,27	21,96
	5	2,945	29,71
	10	3,215	23,27
	30	2,69	35,80
	70	2,105	49,76
	Control	4,19	0
Raquis de Plátano sin EM	0,5	4,65	-12,05
	1	4,075	1,81
	3	4,225	-1,81
	5	4,175	-0,60
	10	4,15	0,00
	30	3,675	11,45
	70	2,95	28,92
	Control	4,15	0

En la tabla 8. se puede observar la media del diámetro de las colonias de *M. fijiensis* y la inhibición ocasionada por los lixiviados de raquis de plátano. El tratamiento de raquis de plátano con EM al 70%, manifiesta un porcentaje de inhibición del 49,76%, casi el doble de la inhibición que en caso de raquis de plátano sin EM.

La dosis letal media para el lixiviado de raquis de plátano con EM fue 66,7%.

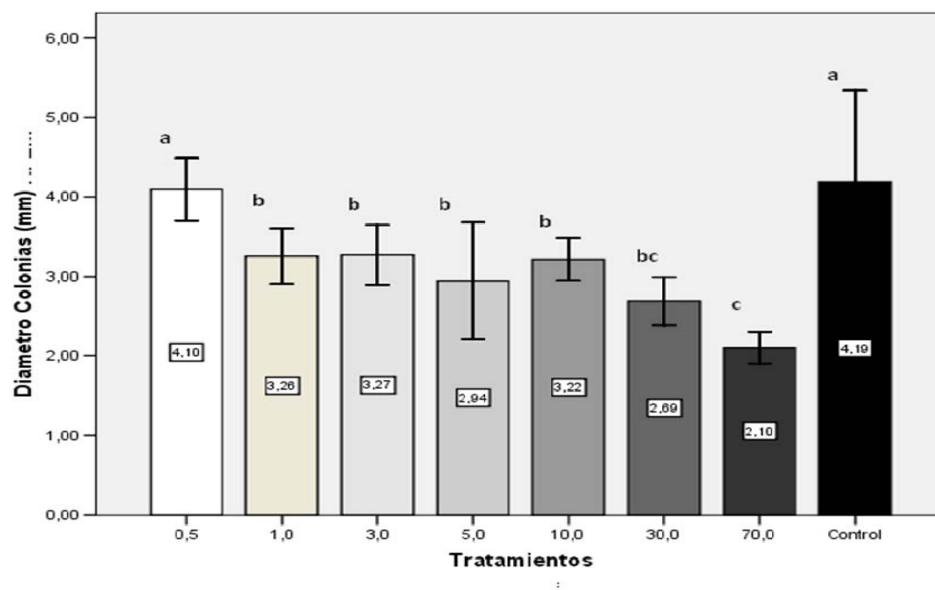


FIGURA 4.17. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLÁTANO CON EM.

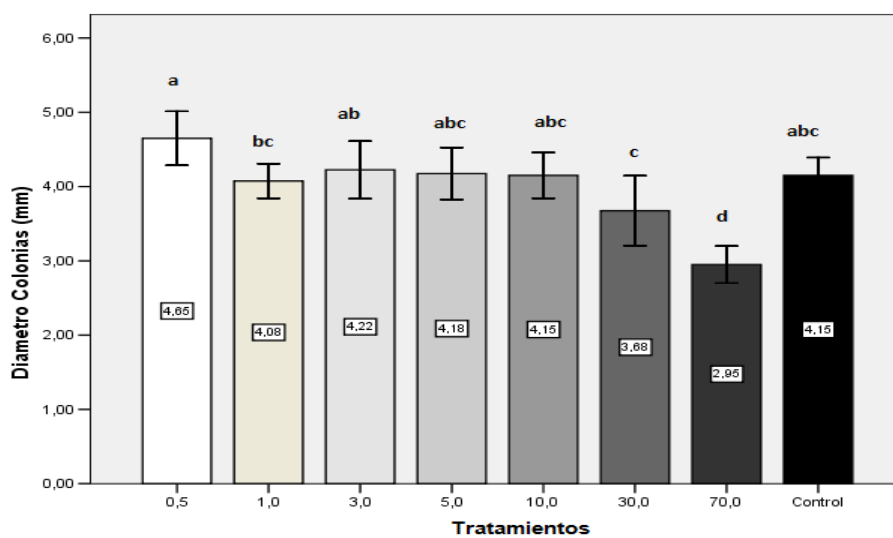


FIGURA 4.18. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLÁTANO SIN EM.

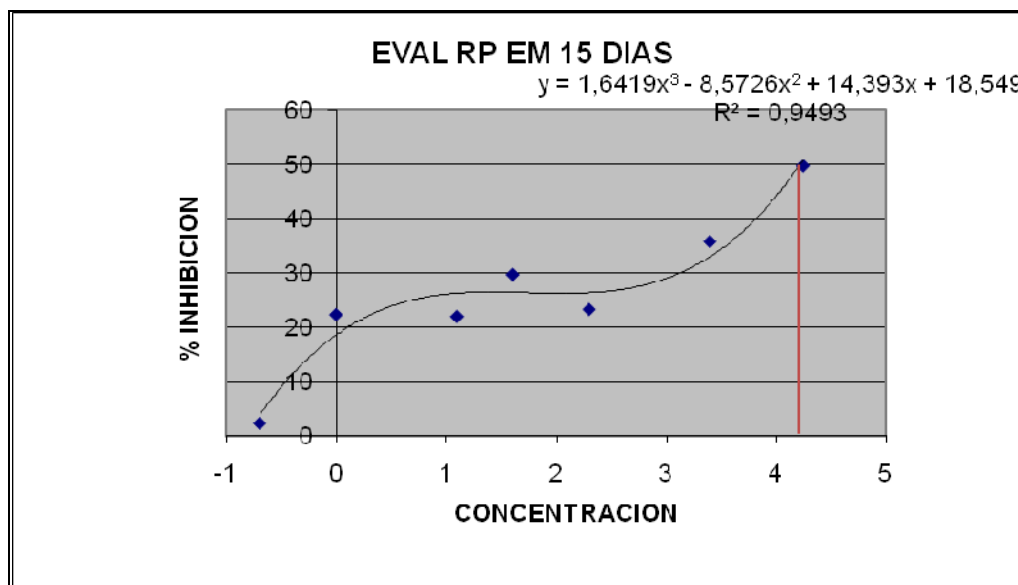


FIGURA 4.19. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

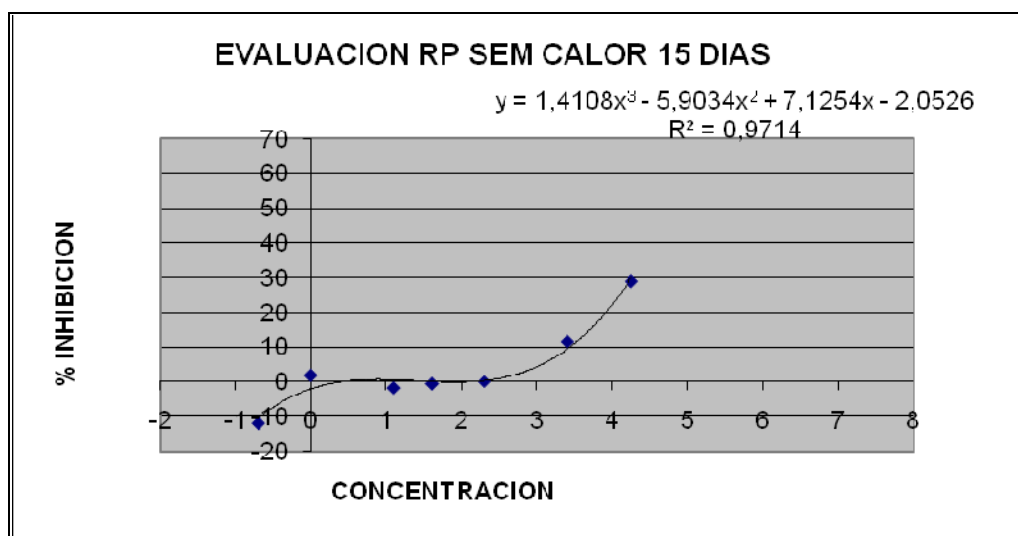


FIGURA 4.20. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

TABLA 9.

DIÁMETRO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE COLONIAS DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON Y SIN EM.

Producto	Concentración	Diámetro Colonias (mm)	% INH.
Raquis de Orito con EM	0,5	3,6	0
	1	3,6	0
	3	3,1	13,89
	5	2,9	19,44
	10	2,05	43,06
	30	1,2	66,67
	70	0,205	94,31
	Control	3,6	0
Raquis de Orito sin EM	0,5	4,7	9,62
	1	5,45	-4,81
	3	5,05	2,88
	5	4,9	5,77
	10	4,15	20,19
	30	1,5	71,15
	70	0,33	93,65
	Control	5,2	0

En las figuras 4.21 y 4.22 se muestra que el producto que inhibió el crecimiento sobre el diámetro de las colonias fue el lixiviado de raquis de orito con EM al 70%, dando un porcentaje de inhibición del 94,31%. La dosis letal media calculada es de 16,4% de producto.

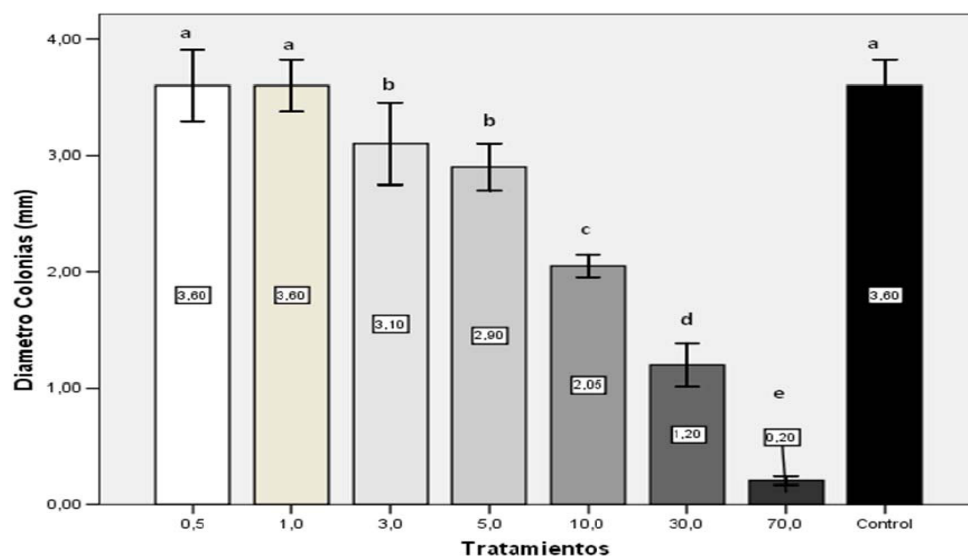


FIGURA 4.21. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO CON EM.

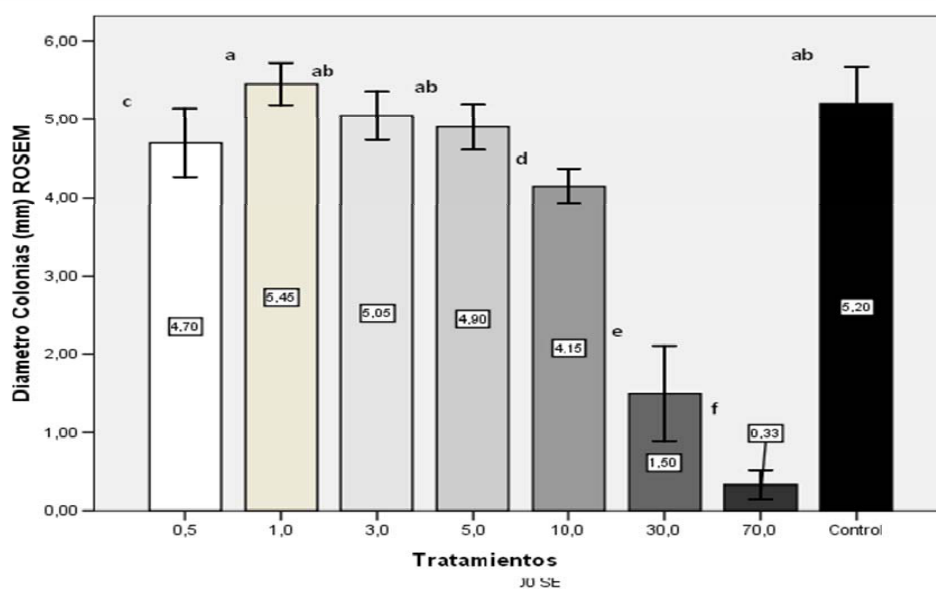


FIGURA 4.22. DIÁMETRO DE COLONIAS DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO SIN EM.

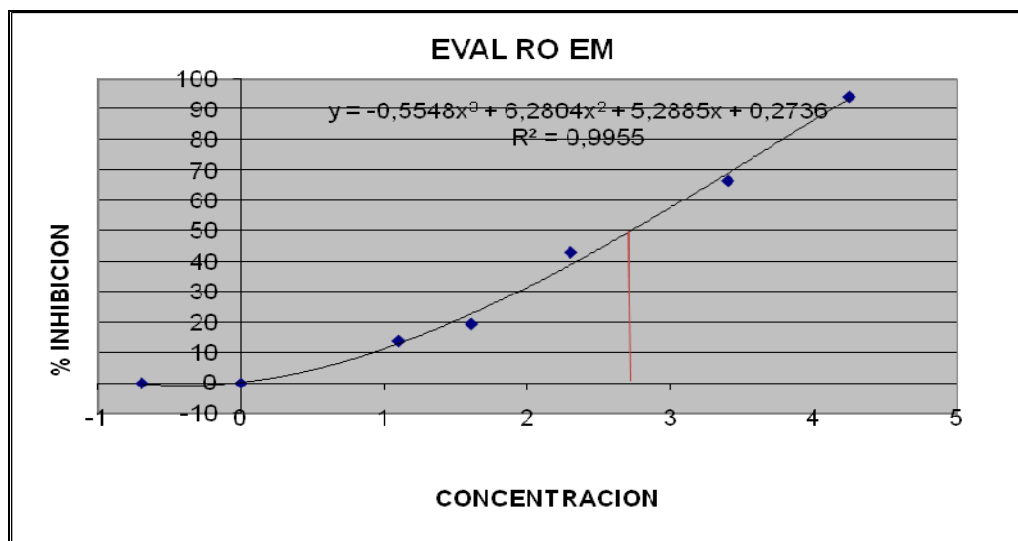


FIGURA 4.23. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

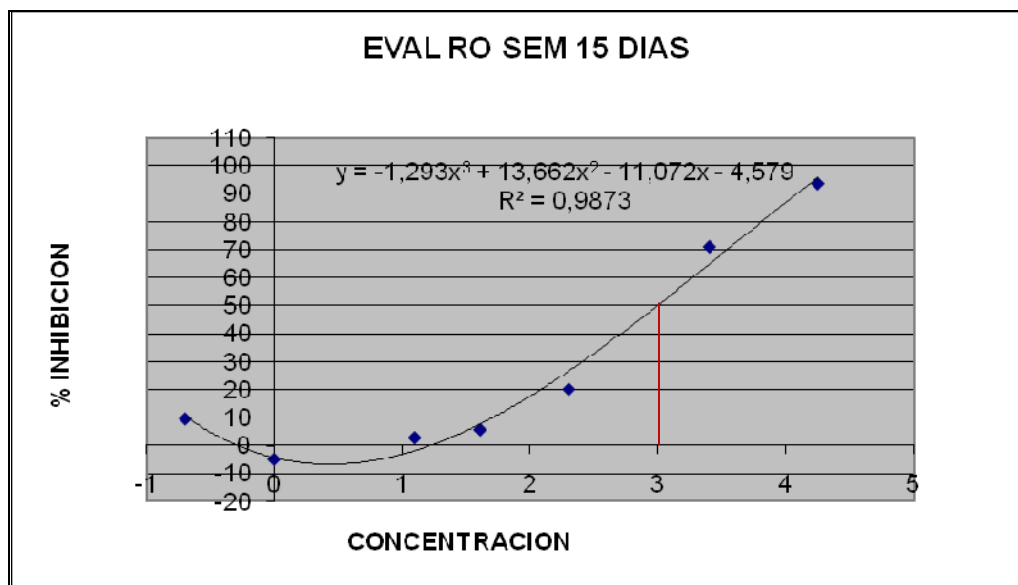


FIGURA 4.24. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN COLONIAS.

Evaluación sobre micelio

La siguiente tabla muestra diferencias entre los tratamientos, expresados en las medias de peso de micelio para cada producto, además se efectuó el cálculo del porcentaje de inhibición, donde se encontró los siguientes resultados:

TABLA 10.

PESO DE MICELIO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON Y SIN EM.

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Banano con EM	0,5	0,23	0,00
	1	0,18	21,24
	3	0,11	51,33
	5	0,10	57,52
	10	0,09	61,06
	30	0,08	63,72
	70	0,06	74,34
	Control	0,21	0
Raquis de Banano sin EM	0,5	0,15	0,00
	1	0,15	-2,67
	3	0,16	-5,33
	5	0,12	22,67
	10	0,10	33,33
	30	0,06	61,33
	70	0,03	81,33
	Control	0,35	0

Aquí se observa que el tratamiento con mejor resultado es el tratamiento de raquis de banano sin EM al 70%, dando un porcentaje de inhibición del 81,33%. Siendo su dosis letal media 18,20% de producto.

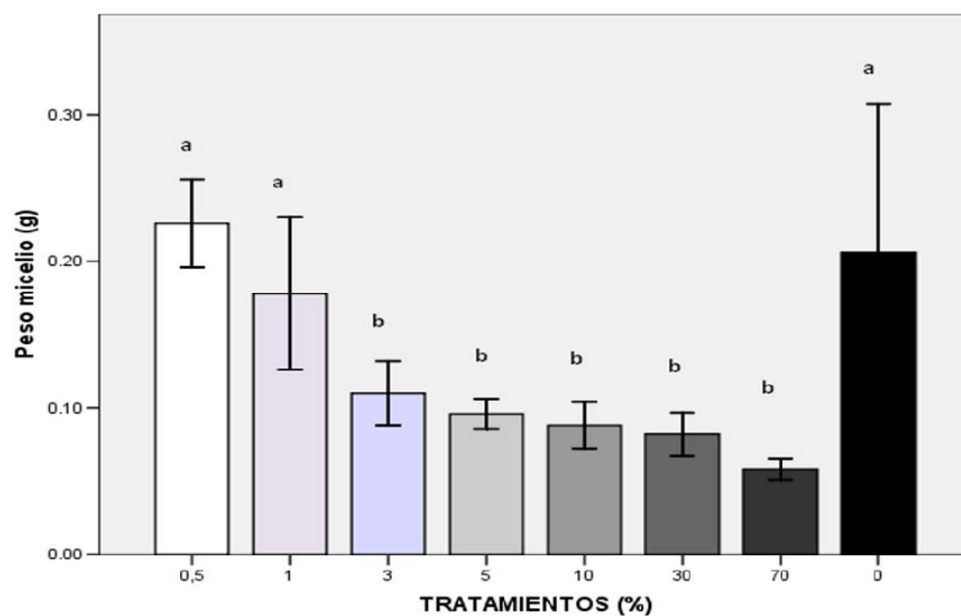


FIGURA 4.25. PESO DE MICELIO DE *M. fijiensis* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO CON EM.

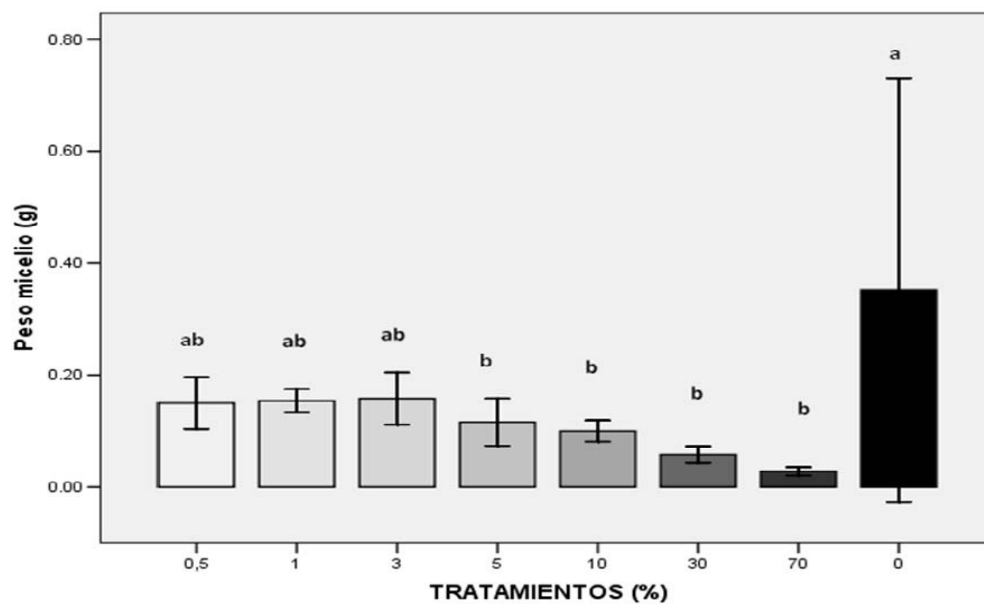


FIGURA 4.26. PESO DE MICELIO DE *M. fijiensis* TRATADAS CON RAQUIS DE BANANO SIN EM.

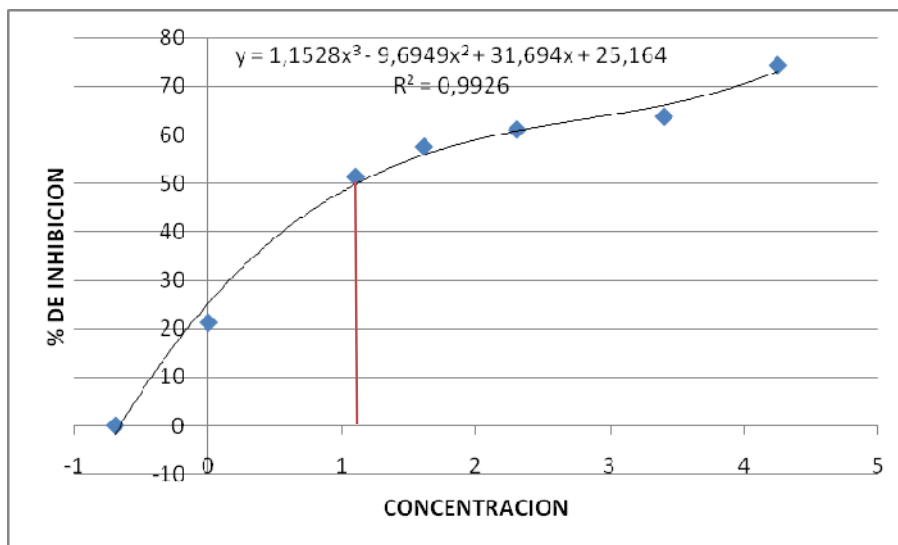


FIGURA 4.27. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO.

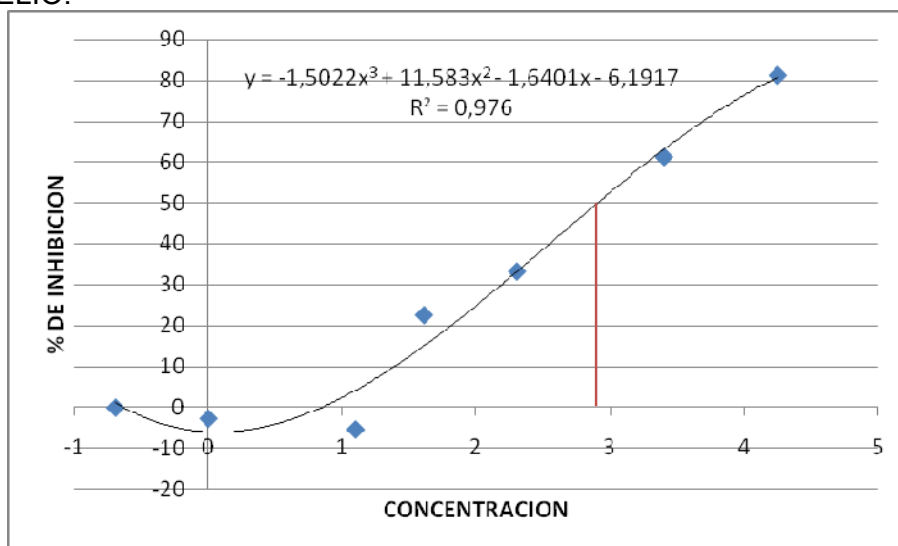


FIGURA 4.28. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE BANANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO.

TABLA 11.

PESO DE MICELIO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE *M. FIJENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLÁTANO CON Y SIN EM.

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Plátano con EM	0,5	0,10	0,00
	1	0,18	-80
	3	0,09	10
	5	0,10	22
	10	0,11	-12
	30	0,07	28
	70	0,05	48
	Control	0,11	0
Raquis de Plátano sin EM	0,5	0,12	0,00
	1	0,15	-31,03
	3	0,17	-46,55
	5	0,20	-68,97
	10	0,17	-43,10
	30	0,05	60,34
	70	0,09	24,14
	Control	0,17	0

El valor de la media de las figuras 4.29 y 4.30 nos indica que el producto con mayor inhibición es el raquis de plátano sin EM al 30% con un 60,34%. Siendo un valor estadísticamente diferente lo cual no ocurre en el lixiviado de raquis de plátano sin EM.

En las figuras 4.31 y 4.32 no se pudo determinar la dosis letal DL50 debido a que los datos son muy variables y en algunos tratamientos el hongo se desarrolló más que en el control.

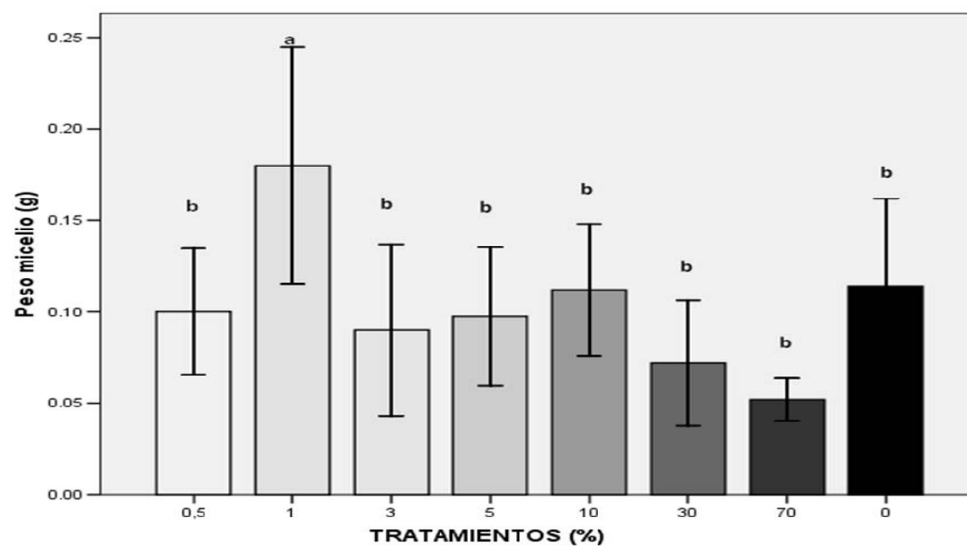


FIGURA 4.29. PESO DE MICELIO DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLÁTANO CON EM.

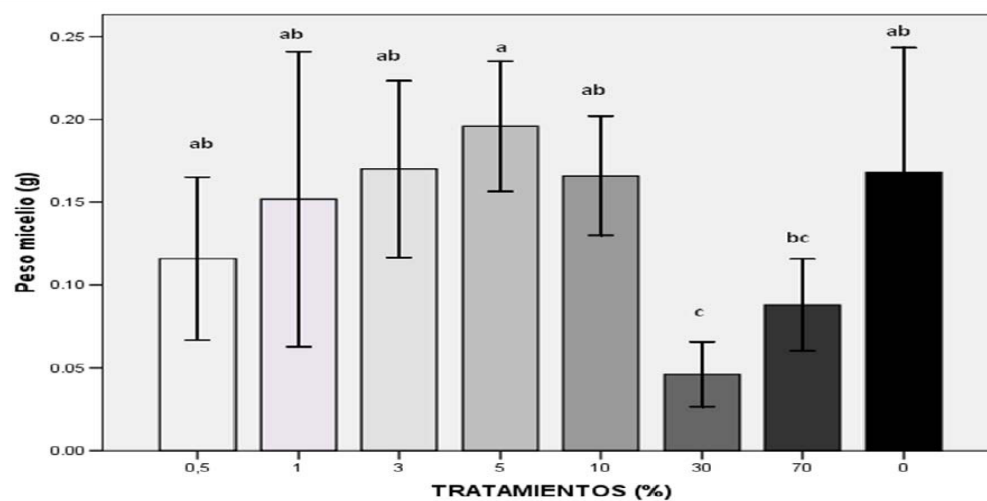


FIGURA 4.30. PESO DE MICELIO DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE PLÁTANO SIN EM.

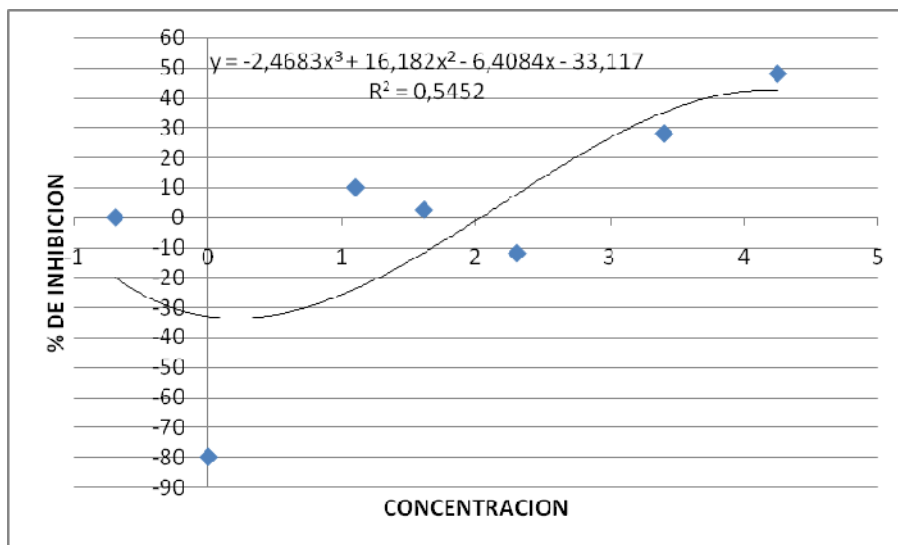


FIGURA 4.31. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO

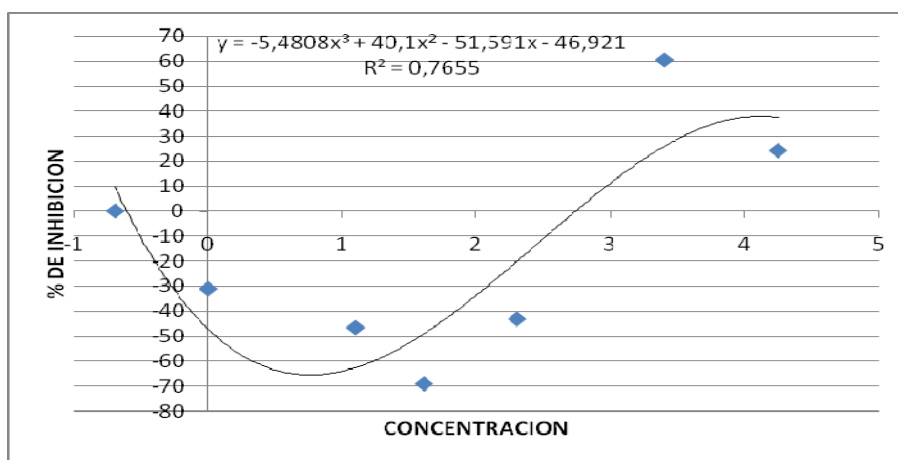


FIGURA 4.32. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLATANO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO

TABLA 15.

PESO DE MICELIO Y PORCENTAJE DE INHIBICION DE *M. FIJIENSIS*, EN PRESENCIA DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON Y SIN EM.

Producto	Concentración	Longitud Tubo Germinativo (μ)	% INH.
Raquis de Orito con EM	0,5	0,17	40,0
	1	0,23	-5,0
	3	0,10	64,2
	5	0,13	40,0
	10	0,16	10,0
	30	0,07	61,9
	70	0,07	57,3
	Control	0,21	0
Raquis de Orito sin EM	0,5	0,29	0,00
	1	0,40	-38,36
	3	0,17	40,41
	5	0,24	19,18
	10	0,16	46,92
	30	0,06	78,77
	70	0,06	78,60
	Control	0,23	0

Los lixiviados de raquis de orito sin EM al 30 y 70%, son los tratamientos que tienen los porcentajes con mayor porcentaje inhibición 78,77 y 78,60% respectivamente, siendo valores estadísticamente iguales. La dosis letal DL50 del producto de raquis de orito sin EM se la puede ubicar en una dosis del 10%.

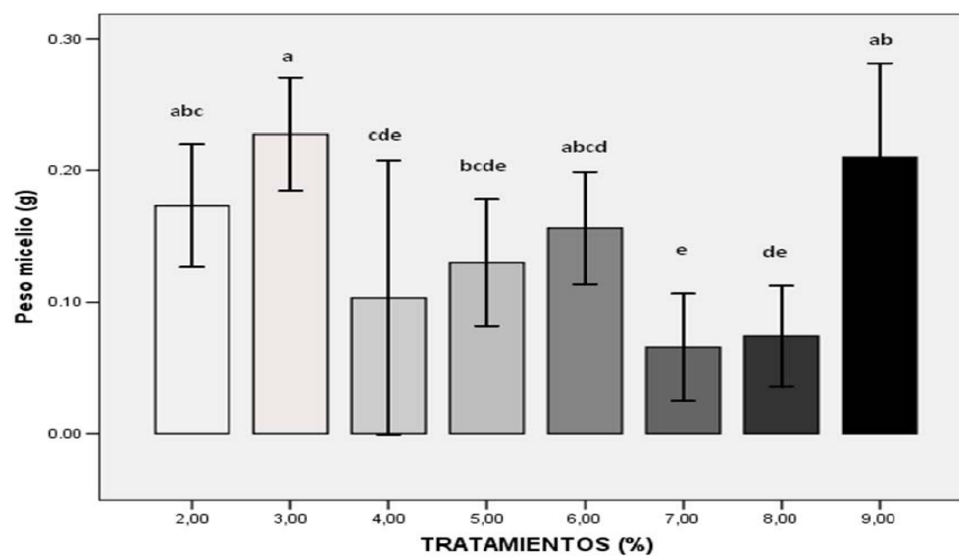


FIGURA 4.33. PESO DE MICELIO DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO CON EM.

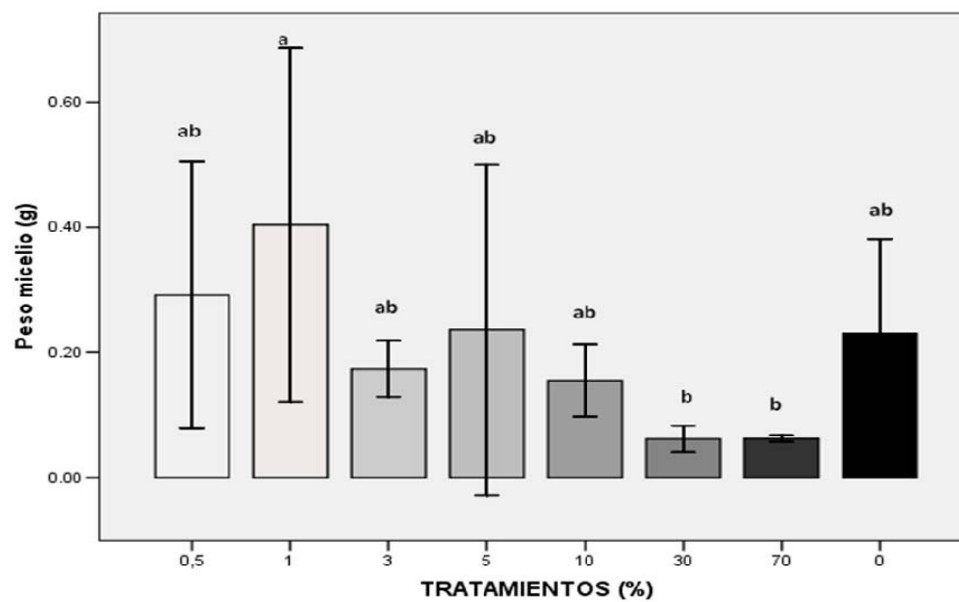


FIGURA 4.34. PESO DE MICELIO DE *M. FIJENSIS* TRATADAS CON RAQUIS DE ORITO SIN EM.

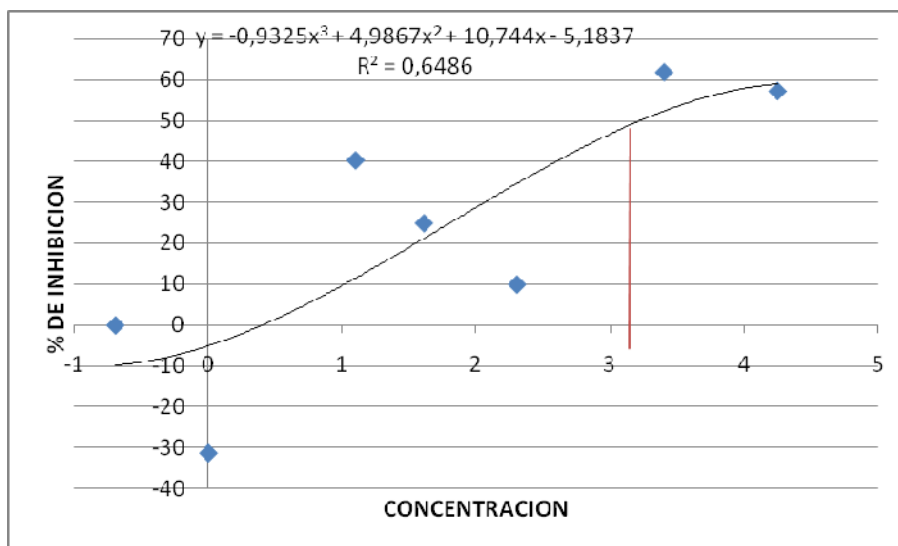


FIGURA 4.35. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO CON EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO.

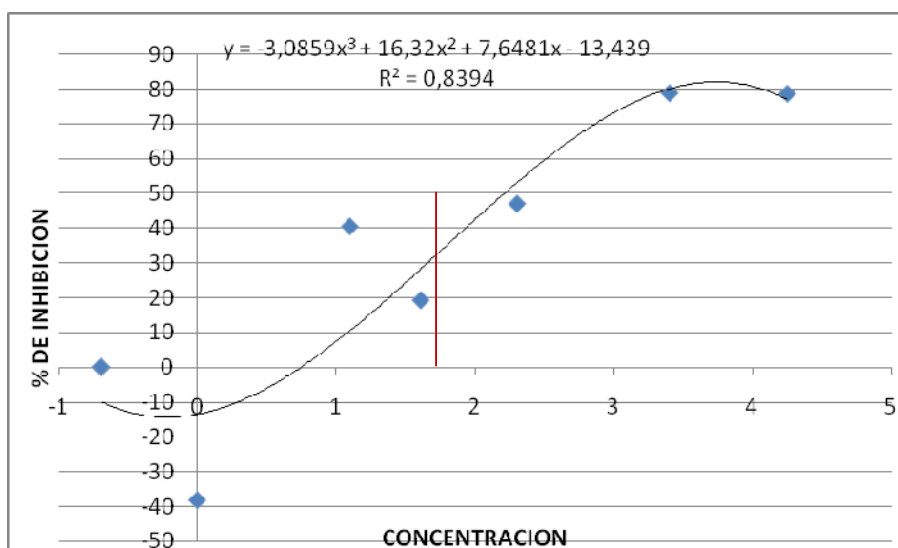


FIGURA 4.36. CONCENTRACIÓN DEL LIXIVIADO DE RAQUIS DE ORITO SIN EM VERSUS EL PORCENTAJE DE INHIBICION EN MICELIO.

Además se realizó una comparación de los resultados de la variable diámetro de colonias evaluadas en los diferentes lixiviados provenientes de raquis de orito, banano o plátano para determinar las diferencias entre la utilización de microorganismos eficientes versus la no utilización de los mismos y se obtuvo lo siguiente:

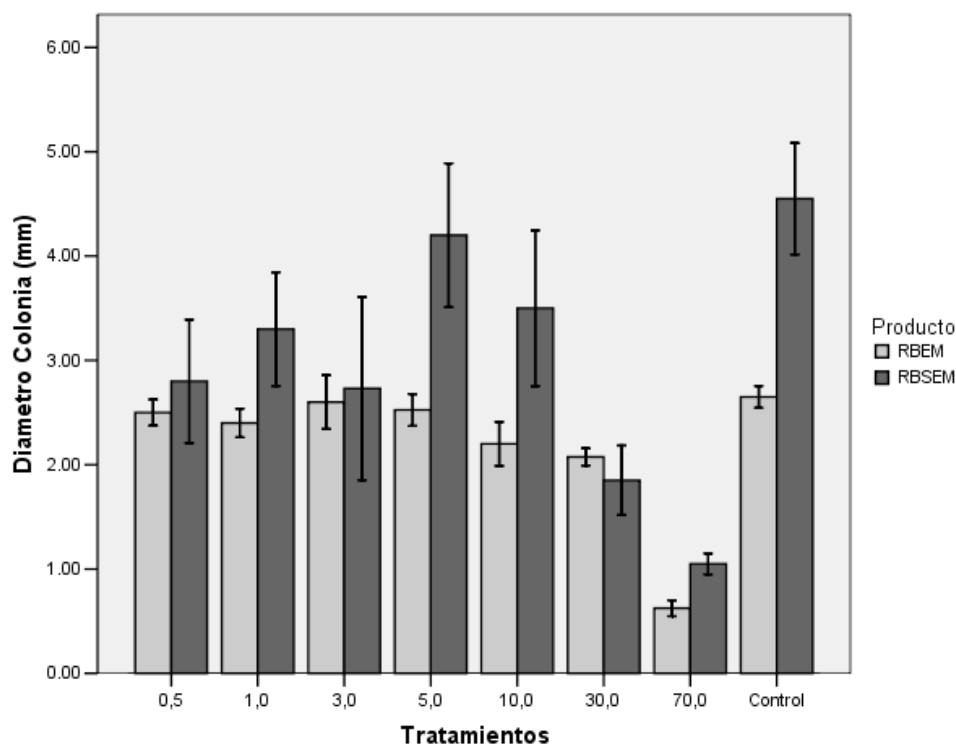


FIGURA 4.37. COMPARACIÓN DEL DIAMETRO DE COLONIAS A LOS 15 DÍAS PARA RAQUIS DE BANANO CON Y SIN EM.

En la figura 4.37 se observa que para todos los tratamientos del lixiviado obtenido de raquis de banano el porcentaje de inhibición es mayor en los productos donde se utilizó microorganismos eficientes

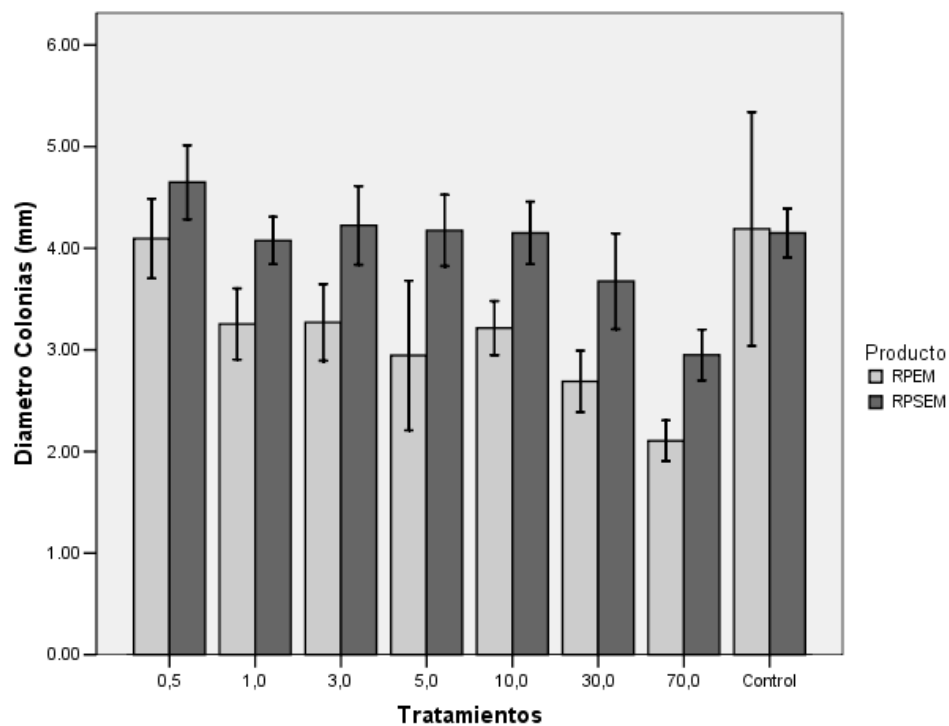


FIGURA 4.38. COMPARACIÓN DEL DIAMETRO DE COLONIAS A LOS 15 DÍAS PARA RAQUIS DE PLÁTANO CON Y SIN EM.

En la figura 4.38 se observa que para todos los tratamientos del lixiviado obtenido de raquis de plátano el porcentaje de inhibición es mayor en los productos donde se utilizó microorganismos eficientes (EM).

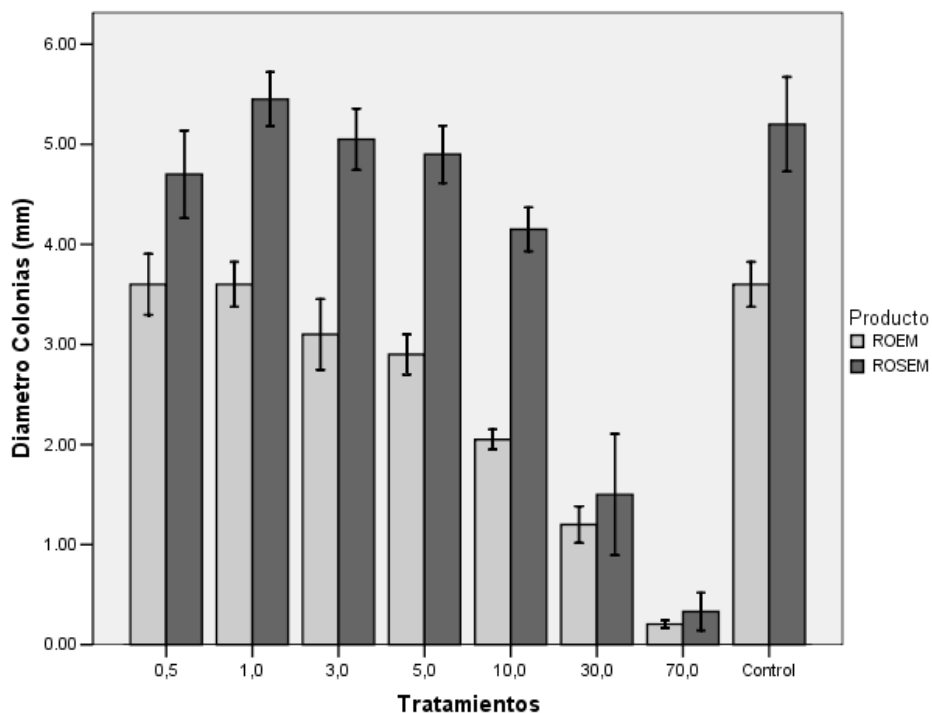


FIGURA 4.39. COMPARACIÓN DEL DIAMETRO DE COLONIAS A LOS 15 DÍAS PARA RAQUIS DE PLÁTANO CON Y SIN EM.

Finalmente en la figura 4.39 se observa que para todos los tratamientos del lixiviado obtenido de raquis de orito el porcentaje de inhibición es mayor en los productos donde se utilizó microorganismos eficientes (EM).

4.2. Discusiones

Con respecto a la calidad de los lixiviados no se pudo determinar si la aplicación o no de microorganismos eficientes benefician al contenido de macro y micro nutrientes ya que el coeficiente de

variación presenta alta variabilidad, pero resulta tentativo suponer que para los elementos N, P, K, existe la posibilidad de que sean estables en la conformación química de los lixiviados ya que el coeficiente de variación oscila entre un 30 y 50%.

En los resultados que se obtuvieron en el análisis de los datos de las variables (diámetro y longitud del tubo germinativo), se observa que el mejor tratamiento fue el de raquis de orito al 70%, ya que se registró altos índices de inhibición.

Por otro lado, para la variable peso de micelio el tratamiento que provocó una mayor inhibición sobre el peso del micelio fue el de raquis de banano al 70%.

Además se puede resaltar que el tratamiento que tuvo un menor porcentaje de inhibición de crecimiento para las tres estructuras en estudio del hongo fue el producto de raquis de plátano sin EM.

Cabe acotar que los productos se obtuvieron de la descomposición del mismo material con la variante de la aplicación de microorganismos eficientes (EM). Se observa, al comparar las medias en las figuras (4.37, 4.38, 4.39), que para todos los tratamientos la aplicación de EM tiene los mejores resultados.

No se comparó los resultados obtenidos a los 7 días debido a que las diferencias estadísticas fueron mínimas.

Se observó que en dosis menores al 10% el porcentaje de inhibición puede presentar valores negativos eso se debe a que el hongo se desarrolla más que el control.

Una posible causa para este fenómeno es que en pequeñas dosis la cantidad de elementos que inhiben el crecimiento del hongo es mínima, pero se está proporcionando los nutrimentos necesarios para que el hongo se desarrolle ya que los lixiviados provienen de la descomposición aeróbica de raquis de musas.

CAPÍTULO 5.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Como conclusiones de este trabajo, y en cumplimiento de los objetivos planteados, se puede señalar lo siguiente:

1. Con respecto al contenido químico de los lixiviados, podemos concluir que los macro y micronutrientes presentes en todos los productos de musáceas presentaron un coeficiente de variación bajo para los elementos: nitrógeno, fósforo, potasio y silicio, oscilando entre un 30 y 50%.
2. El producto que mejores resultados mostró fue el lixiviado de orito, ya que presentó altos índices de inhibición sobre dos de las tres estructuras del hongo evaluadas (colonias y ascosporas). Las estructuras de *M. fijiensis*

que fueron más susceptibles a la aplicación de lixiviados de orito con EM, fueron las colonias, ya que el porcentaje de inhibición que se alcanzó fue 94%.

3. El lixiviado de raquis de banano fue el que tuvo el mayor porcentaje de inhibición sobre el micelio del hongo.
4. El lixiviado que presentó el menor porcentaje de inhibición sobre las tres estructuras del hongo evaluadas fue el de plátano sin EM.
5. La dosis que mejor resultados presentó fue la dosis al 70% para todos los tratamientos, cabe indicar que dosis menores (0.5, 1, 3 y 5%) pueden provocar un efecto inverso, es decir, un mayor crecimiento del hongo de *M. fijiensis*.
6. En general los mejores resultados fueron en los productos con EM.

En base a estas conclusiones, se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

- Continuar con trabajos para estandarizar tiempos y procesos en la obtención de los lixiviados.
- Realizar pruebas con diferentes fuentes de microorganismos.
- Seguir con futuros experimentos, a nivel de invernadero y evaluar características del potencial de fertilización de los lixiviados.
- Realizar experimentos en campo para conocer el nivel de acción de los lixiviados sobre plantas de banano.
- Con respecto a la infraestructura del lixiviador podemos recomendar que este debe ser protegido por un buen techo construido con hojas de palma, láminas de zinc, etc.

APÉNDICES

APENDICE A.

LISTA DE MATERIALES UTILIZADOS PARA ESTA INVESTIGACION

Materiales para Infraestructura en campo

- Cemento
- Hojas de Zinc
- Cañas Guadua
- 12 Baldes de 20 lt con tapas
- Plástico

Equipo de Laboratorio

- Agitador
- Agitador Vortex
- Autoclave
- Balanza electrónica
- Bomba al vacío
- Cámara fotográfica
- Cámara de flujo laminar
- Centrífuga
- Estufa
- Incubadora
- Microscopio invertido y de Luz
- Plato caliente

Materiales de Vidrio

- Cajas Petri
- Frascos
- Matraces de Erlenmeyer
- Membranas *durapore*
- Pipetas
- Vasos de precipitación

Materiales varios

- Algodón
- Espátulas
- Etiquetas autoadhesivas
- Gasa
- Marcadores rotuladores
- Papel de pH
- Papel filtro
- Papel de aluminio
- Pinzas
- Regla
- Cubeta plastica

Sustancias y reactivos

- Agar
- Agua destilada estéril
- Alcohol
- Dextrosa
- Hidróxido de Sodio
- Papa
- Jugo V8

APENDICE B.

SECUENCIA DE FOTOGRAFIAS DE LA UBICACION DEL MATERIAL



Estructuras de las camas de lixiviación



Raquis de banano en las camas de lixiviación

APENDICE C.

LISTA DE ABREVIATURAS USADAS EN LA TESIS

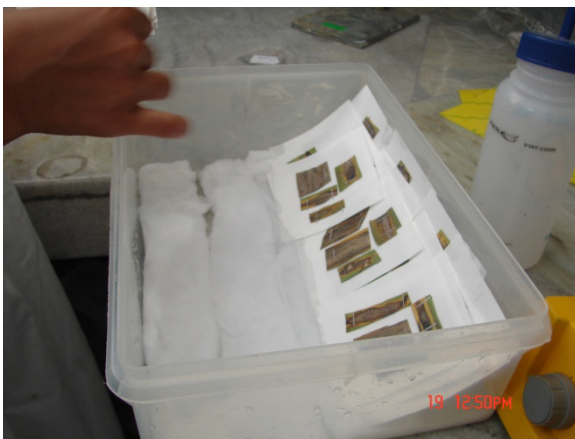
Adeva	Análisis de Varianza
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
mm	Milímetros
D	Diámetro
DCA	Diseño Completamente al Azar
g	Gramos
mm	Milímetros
m	Metros
Sig.	Significancia
T.	Tratamiento
°C	Grados Centígrados
EM	Microorganismos eficientes
Has	Hectáreas
TM.	Toneladas métricas

APENDICE D.

SECUENCIA DE FOTOGRAFIAS DE EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE ASCOSPORAS



Muestras de hojas de banano con
Síntomas de Sigatoka Negra



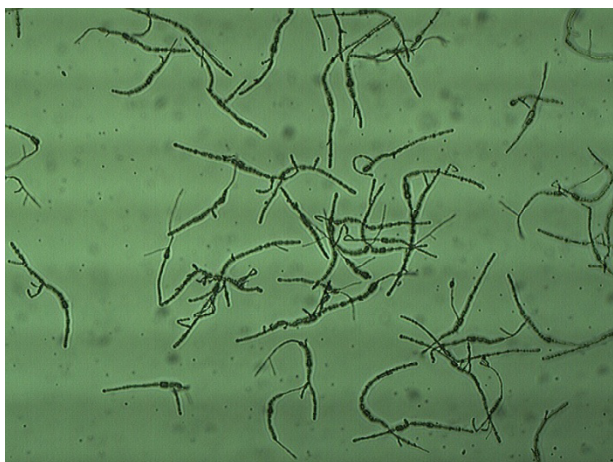
Ensamblaje de la cámara húmeda



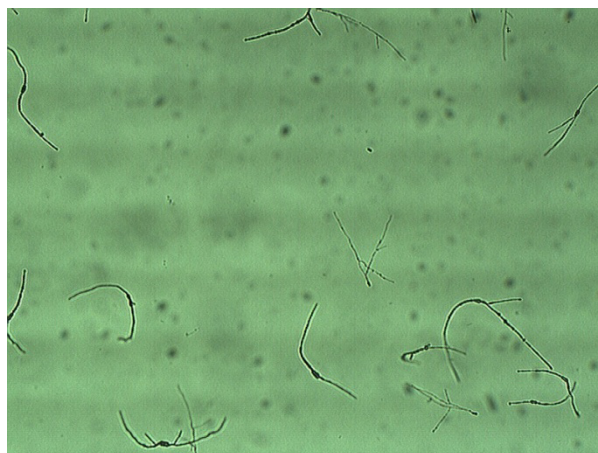
Descarga de Ascosporas en
cajas petri

APENDICE E.

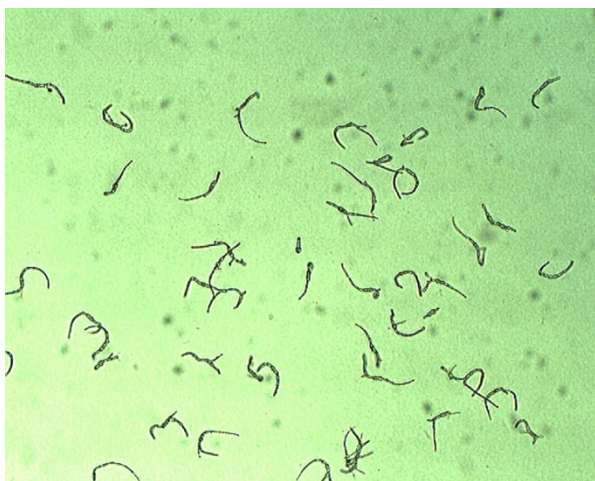
FOTOGRAFIAS EN MICROSCOPIO INVERTIDO DE ASCOSPORAS



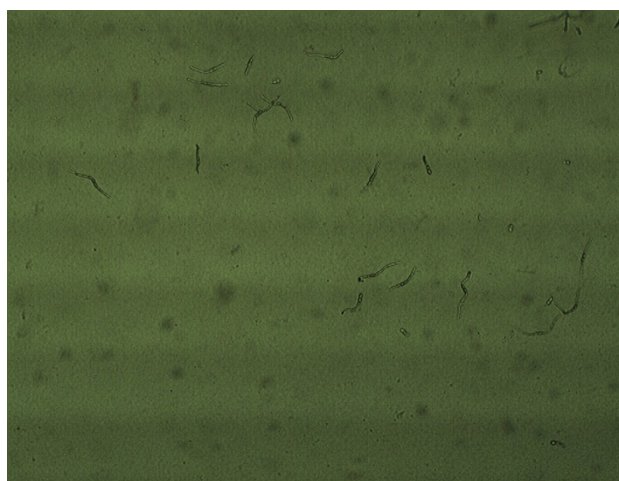
Ascosporas de *M. fijiensis* en el control.



Ascosporas en la dosis del 70% del producto raquis platano sin EM



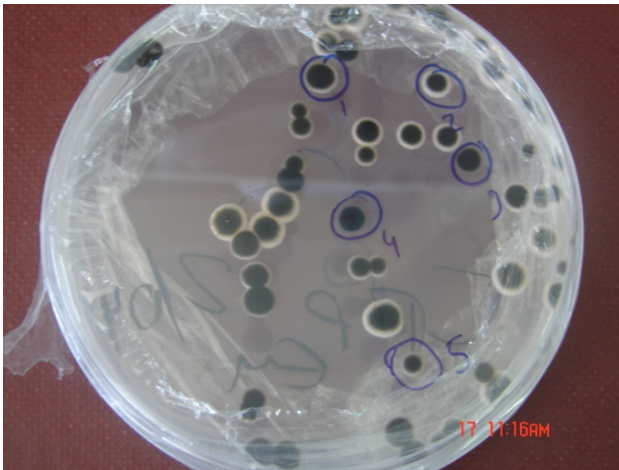
Ascosporas en la dosis del 70% del producto raquis banano con EM



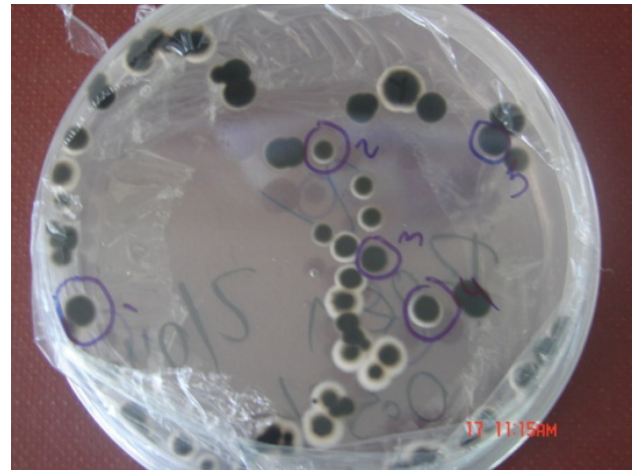
Ascosporas en la dosis del 70% del producto raquis orito con EM

APENDICE F.

SECUENCIA DE FOTOGRAFIAS DE LA EVALUACIÓN DE DIÁMETRO DE COLONIAS



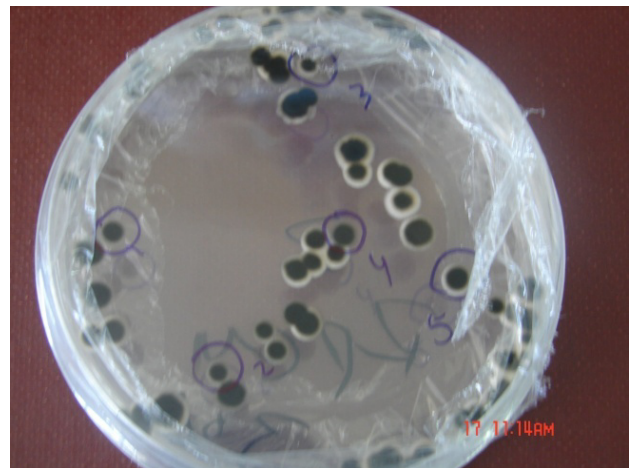
Caja Petri de Evaluación del Control



Caja Petri de Evaluación dosis 0,5%



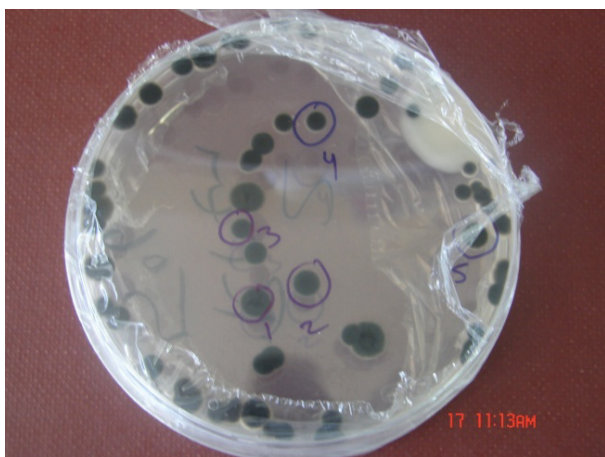
Caja Petri de Evaluación dosis 1%



Caja Petri de Evaluación dosis 3%

APENDICE F (parte 2)

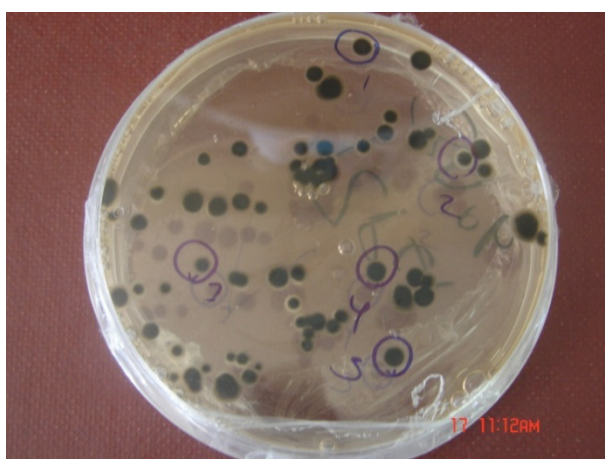
SECUENCIA DE FOTOGRAFIAS DE LA EVALUACIÓN DE DIÁMETRO DE COLONIAS



Caja Petri de Evaluación dosis 5%



Caja Petri de Evaluación dosis 10%



Caja Petri de Evaluación dosis 30%



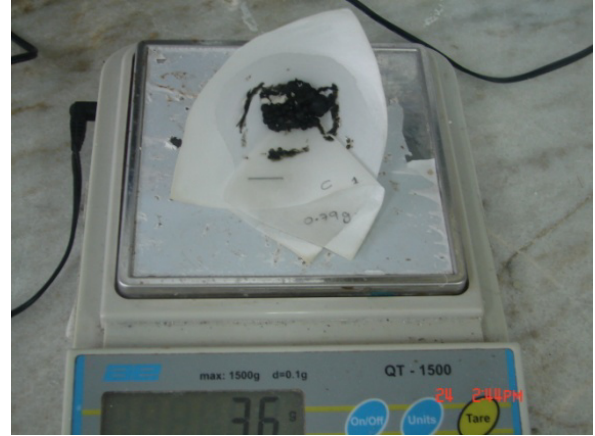
Caja Petri de Evaluación dosis 70%

APENDICE G.

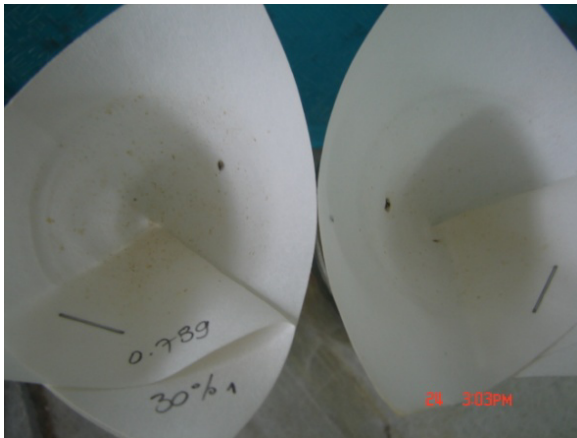
SECUENCIA DE FOTOGRAFIAS DE LA EVALUACIÓN DE MICELIO



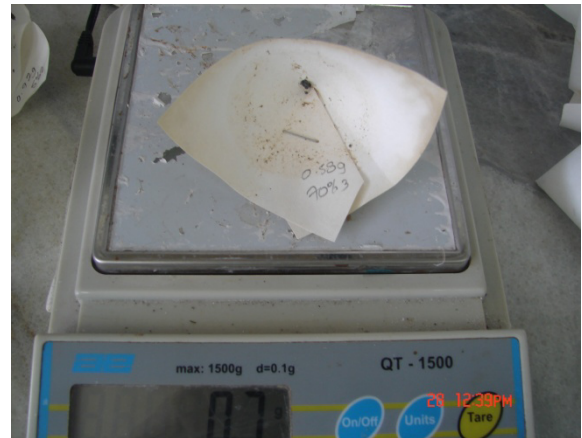
Frascos con medio líquido
antes de esterilización



Micelio del control húmedo
papel filtro pesado en



Micelio de la dosis al 30% pesado
en seco



Micelio de la dosis al 70% pesado
en seco.

APENDICE H.

ANÁLISIS QUIMICO DE LAS MUESTRAS DE LIXIVIADO DE RAQUIS

	Elementos	ORITO			BANANO			PLATANO		
		ROEM	ROSEM	CV%	RBEM	RBSEM	CV%	RPEM	RPSEM	CV%
MACRONUTRI ENTES % (g/100g)	N	61	66	5,57	75,45	48,55	30,68	48	23,94	47,30
	P (%)	0,33	0,32	2,18	0,24	0,24	0,00	0,33	0,61	42,13
	K	8597	8169	3,61	273,1	231,6	11,63	442,5	218,21	48,01
	Ca	34	35	2,05	652,5	26,21	130,50	120	13,25	113,30
	Mg	623	630	0,79	217,9	11,37	127,39	275	89,08	72,22
MICRONUTRI ENTES (ppm)	Zn	0,25	0,22	9,03	1,47	0,23	103,15	0,24	4,48	127,04
	Cu	0,05	0,04	15,71	0,19	0,02	114,48	0,04	0,41	116,28
	Mn	0,85	0,57	27,89	1,6	0,18	112,82	0,33	8,5	130,85
	Fe	3,2	1,35	57,50	11,24	0,75	123,73	2,88	32,52	118,41
	Si mg/l	70	75	4,88	110	30,75	79,63	65	42,35	29,84

BIBLIOGRAFÍA

1. AEBE. 2005. Asociación de exportadores de Banano del Ecuador. Base de datos estadísticos del 2005. Documentos en internet en: <http://www.aebe.com.ec>
2. Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. London, Elseiver, Academic Press.
3. Arango M.E. 2002. Alternativas de manejo para el control biológico de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano (Musa AAA). XV meeting of ACORBAT. Medellín, Colombia.
4. Arciniegas A., Riveros, A. y Loaiza, J. 2002. Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo *In vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. En: Memorias de XV Reunión Internacional

ACORBAT-AUGURA Colombia. (27 oct-2 nov: 2002) Cartagena, Colombia. p.242.

5. Arciniegas, A. 2002. Evaluación del potencial antifúngico de 20 extractos de plantas asociadas a Musáceas sobre *Mycosphaerella fijiensis*. Trabajo de grado (titulo Biólogo). Ibagué-Colombia. Biblioteca Rafael Parra Cortés. Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias. p.155.
6. Arias de López, M. y Bonilla, G. 1998. Enemigos naturales de insectos, plagas del banano. En Proceedings de la XIII Reunión de ACORBAT, Ecuador 98. 23 al 29 de Noviembre, Guayaquil - Ecuador. 472 – 482.
7. Bayro B. 1998. Control biológico de Sigatoka negra del banano en invernadero mediante el uso de EM (microorganismos eficaces). Costa Rica, Universidad EARTH, MSc thesis.
8. CORPEI. 2001. Organic banana. CBI Project. Expansion of Ecuador's Export Commodities. 36p.

9. Devouard, A., 2001. "Taxonomía de los bananos". INIBAP – Francia. 105 Págs.
10. Espinoza, L. 2007. Monitoreo in vitro del potencial de cinco nutrientes (B,Zn,Mn,Cu,Si) sobre el desarrollo de diferentes estructuras de *M. fijiensis*. ESPOL – Tesis de Grado. Ecuador.
11. Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en Plátano Hartón (Musa ABB) en Córdoba - Colombia. XVII Reunión Internacional de Asociaciones para la Cooperación de la investigación sobre Banano en Caribe y América Tropical. ACORBAT. Joinville, Santa Catalina - Brasil. 560-571.
12. FAO. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. 2005. Agricultural data base. Retrieved on April 2, 2007. <http://faostat.fao.org>.
13. Fernández. H. A. Banano en Ecuador. Cultivo, plagas y enfermedades. 1980.

14. Fouré, F. 1985. Black leaf streak disease of banana and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. IRFA. París.
15. Fullerton R. 1994. Sigatoka leaf disease, p. 12-14. In: compendium of tropical fruit Diseases, American Phytopathology society.
16. Fullerton, R. y Stover, R. (eds). 1990. Sigatoka leaf spot diseases of banana: Proceedings of an international workshop held at San José, Costa Rica, 28 March – 1 April, 1989. INIBAP. Montpellier - France. p. 374.
17. García. R. E. et al. 2001. Estudio del lixiviado de compost y su efecto sobre el control del sigatoka negra (*M. fijiensis* Morelet.) Y el crecimiento del cultivo de banano (*Musa* AAA). Tesis de Ingeniería. Universidad EARTH. Guácimo Costa Rica.
18. Gauhl, F. 1994. Epidemiology and Ecology of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on plantain and banana (*Musa* spp.) in Costa Rica, INIBAP, Montpellier, France, 120p.

19. Hoitink, H; Zhang, W; Han, D and Dick, W. 1997b. Making compost to suppress plant disease. *BioCycle*. Abril, 1997: 40-42.
20. <http://www.uees.edu.ec/investigacion/csectorial3/Bananorito.PDF>
21. INIBAP. *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm. Diversity in the genus Musa*. 2001. CIRAD. Montpellier – France. 49 p.
22. Jiménez, M. 2008. Effect of the nutritional status of banana (*Musa spp.*) on leaf disease infestation by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in Ecuador. PhD Thesis. Catholic University Leuven - Belgium. 146p.
23. Jones, D. 2000. Introduction to Banana, Abacá and Enset. en: *Disease of Banana, Abaca and Enset*. 1- 30. D. Jones (ed). CAB International, Wallingford - UK.
24. Jones, D. y Lockhart, B. 1993. Banana streak disease. *Musa Disease Fact Sheet No. 1*. INIBAP, Montpellier - France.

25. Larco, E., Riveros, A., Rosales, S., Pocasangre, F., Rivas, L. y Polanco, D. 2004. Lixiviados de Compost y Lombricompost: Una Alternativa para el Control Biológico de la Sigatoka Negra en Plátano. 9-18 in: Congreso Latinoamericano de Bio-Plaguicidas y Abonos Orgánicos. San José - Costa Rica.
26. Magnaye, L. y Espino, R. 1990. Note: Banana bract mosaic, a new disease of banana. I. Symptomatology. *Phil Agric.* 73 (1): 55-59.
27. Marín, B., Villadiego, M. y Barrera, J. 2006. Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en Plátano Hartón (Musa ABB) en Córdoba - Colombia. XVII Reunión Internacional de Asociaciones para la Cooperación de la investigación sobre Banano en Caribe y América Tropical. ACORBAT. Joinville, Santa Catalina - Brasil. 560-571.
28. Marín, D. y Romero, R. 1998. El combate de la Sigatoka negra In: Divulgación científica al servicio del productor bananero nacional. Revista CORBANA. San José - Costa Rica. 104-129.

29. Meredith, D. 1970. Banana leaf sport disease (sigatoka) caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey - England. p.147.
30. Meredith, D. y Lawrence, J. 1969. Black leaf streak disease of banana (*Mycosphaerella fijiensis*): Symptoms of disease in Hawaii and notes on the conidial state of the causal fungus. Transactions of the British Mycological Society 52: 459-476.
31. Merrill, R., y McKeon, J. Organic Farming Research Foundation. Project report # 97 p. 40: Organic teas from composts and manures. Project period: 1997-1998.
32. Mourichon X., Carlier J., and Fouré E. 1997. Sigatoka leaf spot diseases. *Musa* disease. Fact sheet no. 8. Montpellier, France, INIBAP.
33. Nuñez R. 1989. El Cultivo del Banano. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa Nacional del Banano.

34. Osorio, G. 2006. Evaluación de hongos endofíticos y extractos botánicos para el control de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en banano.
35. Pardo, N. A, et al. Manual de cultivos orgánicos y alelopatía. Grupo Latino. 2004. Colombia. 126 p.
36. Pérez, L., Alvarez, J. y Pérez, M. 1999. Informe sobre el taller regional del manejo integrado de plagas en banano y plátano. El Vigía -Venezuela, 9-13 de agosto de 1999.
37. Pérez, L. 1983. Epifitiología de la mancha de la hoja del plátano (Sigatoka) causada por *Mycosphaerella musicola*. Factores que influyen en el período de incubación y el desarrollo de la enfermedad en Cuba. Agrotecnia de Cuba 15(1):55–64.
38. Pérez, L., Mauri, F., Barranco, B. y García, G. 1993. Efficacy of EBI's fungicides in the control of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet on banana and plantains with treatments based on stage of evolution of the disease

(biological warnings) in Cuba. p.55 *in* Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology, Montreal - Canada.

39.Ploetz, R. y Mourichon, X. 1999. First report of black Sigatoka in Florida. (Disease Note) Plant Disease 83:300.

40.Primavesi. 2000. Bokashi, Abono orgánico fermentado. EARTH Costa Rica.

41.Quito, D.F. 2007. Estudio comparativo de dos Biofertilizantes Líquidos en Condiciones In vitro e Invernadero en Plantas de Banano y su Efecto en el Desarrollo de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet). ESPOL – Tesis de Grado, Ecuador.

42.Restrepo J. 2000. Agricultura orgánica: una teoría y una práctica. Abonos orgánicos fermentados experiencias de agricultores en Centroamérica y Brasil. Cali, Colombia.

43. Rimache. A. M. 2008. Cultivo de Plátano y Banano. Primera Edición. Macro. Perú. 42-49 p.
44. SICA 2007. Proyecto de servicio de información y censo agropecuario.
45. Simmonds, N. y Shepherd, K. 1955. Taxonomy and origins of cultivated bananas. Journal of the Linnean Society of Botany 55:302-312. London—UK.
46. Soto. M. 1990. Bananos cultivo y comercialización. Segunda edición. Ed. Lil s.a. San José. Costa Rica. 619 p.
47. Stover, R. 1980. Sigatoka leaf spot diseases of bananas and plantains. Plant Disease 64:750-756.
48. Suquilanda, M. 2001. Manejo alternativo de Sigatoka negra en Ecuador. Cultivos Controlados 3 (5). p.4.
49. Suquilanda. M. 1996. Agricultura Orgánica. Alternativa tecnológica del futuro. Fundagro. Quito- Ecuador. 103p.