ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción

Monitoreo *in vitro* del potencial de cinco nutrientes (B, Mn, Zn, Cu, Si) sobre órganos de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agente causal de la Sigatoka negra

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Presentada por:

Lisbeth del Rocío Espinoza Lozano

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2007

AGRADECIMIENTO

A todas las personas que laboran en el Centro de investigaciones biotecnológicas del Ecuador (CIBE), que de una u otra manera colaboraron en la realización de este trabajo, pero muy en especial a la Ing. Ma. Isabel Jiménez por su gran paciencia y apoyo incondicional.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

A MIS ABUELOS

A MIS HERMANOS

TRIBUNAL DE GRADUACION

_____	_____
Ing. Eduardo Rivadeneira P.	Msc. Ma. Isabel Jiménez
DECANO DE LA FINCP	DIRECTORA DE TESIS
PRESIDENTE	
_____	_____
Ing. Daniel Navia M.	Ing. Felipe Mendoza G.
VOCAL	VOCAL

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente a mi; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

_____

Lisbeth Espinoza Lozano

RESUMEN

El tema propuesto se enmarcó dentro del ámbito de la Fitopatología y la Nutrición vegetal, tomando como modelo una de las principales enfermedades foliares del cultivo del Banano.

En su esfuerzo por lograr mejorar sus rendimientos y ante el notable aumento de la incidencia de la Sigatoka negra y los elevados costos que representa su control, es importante contar con nuevas alternativas para el control de *Mycosphaerella fijiensis.* El objetivo del presente estudio es contribuir en la investigación sobre el efecto directo de algunos nutrientes como el Cobre, Boro, Manganeso, Zinc y Silicio en parámetros de crecimiento los diferentes órganos de *M. fijiensis* tales como colonias, micelio, ascosporas y en su capacidad de regeneración de los cuerpos del patógeno.

Los experimentos se realizaron a nivel de laboratorio en el que se preparó medios de cultivo contaminados con diferentes dosis de los nutrientes y se inoculó con órganos sexuales y asexuales del patógeno para analizar su reacción ante el medio.

Esta investigación se desarrolló 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.

El modelo experimental para el establecimiento de cada uno de los ensayos fue el Diseño Completamente al Azar, con las apropiadas pruebas de significancia para la determinación de diferencias entre tratamientos. Además, se obtuvo porcentajes de inhibición en cada uno de los parámetros a evaluarse utilizando tablas PROBIT.

Como resultado se obtuvo que todos los elementos presentaron efectos inhibitorios sobre el desarrollo del patógeno, tanto en el crecimiento de colonias y micelio, germinación de ascosporas y recuperación del hongo. De todos los elementos aplicados en el experimento se probó que Cobre fue el que mejores resultados presentó en comparación con los demás micronutrientes.

INDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN…… II

INDICE GENERAL……IV

ABREVIATURAS……VII

SIMBOLOGIA……IX

INDICE DE TABLAS……..X

INDICE DE FIGURAS……..XI

INTRODUCCION……1

CAPITULO 1

1. BANANO Y SUS PROBLEMAS FITOSANITARIOS……5

1.1 Sanidad del Cultivo……..……..5

1.1.1 Enfermedades Bacterianas……6

1.1.2 Enfermedades Fungosas……9

1.1.3 Enfermedades Virales……11

1.2 Sigatoka negra……13

1.2.1 Caracterización del patógeno……...14

1.2.2 Agente causal: *Mycosphaerella fijiensis*…… 14

1.2.3 Ciclo de la enfermedad y epidemiología……16

1.2.4 Interacción Planta – patógeno……..18

1.2.5 Control……..20

CAPITULO 2

2. NUTRICION DEL BANANO……...22

2.1 Requerimientos de los Macronutrientes en Banano……22

2.1.1 Función……25

2.1.2 Efectos de deficiencia……29

2.1.3 Relación con las enfermedades……33

2.2 Requerimientos de los Micronutrientes en Banano……..34

2.2.1 Función……38

2.2.2 Efectos de la deficiencia……44

2.2.3 Diferencia entre sulfatos y metalosatos……..50

2.2.4 Uso de los metalosatos en el control de enfermedades……..53

CAPITULO 3

3. MATERIALES Y METODOLOGIA……55

3.1 Materiales……...57

3.1.1 Material Biológico: fungoso……57

3.1.2 Materiales de Laboratorio……61

3.2 Efecto de micronutrientes sobre el crecimiento de colonias de *M. fijiensis*……61

3.3 Efecto de micronutrientes sobre la regeneración de *M. fijiensis*……...63

3.4 Efecto de micronutrientes sobre la biomasa hifal de *M. fijiensis*……...65

3.5 Efecto sobre la germinación de ascosporas de *M. fijiensis*……67

CAPITULO 4

4. ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN……70

4.1 Efecto de micronutrientes sobre el crecimiento de colonias de *M. fijiensis*……70

4.2 Efecto de micro nutrientes sobre la regeneración de *M. fijiensis*…….76

4.3 Efecto de bio productos sobre la biomasa hifal de *M. fijiensis*…….78

4.4 Efecto sobre la germinación de ascosporas de *M. fijiensis*……84

CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES……..88

APENDICES

BIBLIOGRAFIA

ABREVIATURAS

ABA	Acido abcisico
DNA	Acido desoxiribonucleico
AIA	Acido indol acético
RNA	Acido ribonucleico
ADP	Adenosina difosfato
ATO	Adenosina trifosfato
CO2	Anhídrido Carbónico
S	Azufre
B	Boro
Ca	Calcio
cm	Centímetros
CTP	Citosina trifosfato
CDP	Citosina difosfato
Cl	Cloro
Co	Cobalto
Cu	Cobre
DCA	Diseño completamente al azar
P	Fósforo
g	Gramos
GTP	Guanosina trifosfato
GDP	Guanosina difosfato
Ha	Hectárea
Has	Hectáreas
Fe	Hierro
Kg	Kilogramos
mm	Milímetros
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
mg	Miligramos
Mo	Molibdeno
Ni	Níquel
N	Nitrógeno
ppm	Partes por millón
K	Potasio
PDA	Potato dextrose agar
PIB	Producto interno bruto
rpm	Revoluciones por minuto
Si	Silicio
Na	Sodio
Ton	Toneladas
UTP	Uridina trifosfato

UDP	Uridina difosfato
var.	Variedad
Zn	Zinc

SIMBOLOGIA

°C	Centígrados
lb.	Libras
um	Micrómetros
%	Por ciento
pulg.	Pulgadas

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diámetro de las colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Zinc……...71
Figura 2. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Boro……..72
Figura 3. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Cobre……72
Figura 4. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días en presencia de diferentes dosis de Manganeso……..73
Figura 5. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Silicio……76
Figura 6. Porcentaje de regeneración de *M. fijiensis,* ante la aplicación de micro elementos en presentación inorgánica y Silicio……...77
Figura 7. Porcentaje de regeneración de *M. fijiensis,* ante la aplicación de micro elementos en presentación orgánica……78
Figura 8. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Zinc……..79
Figura 9. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Boro……79
Figura 10. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Cobre……..80
Figura 11. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Manganeso……81
Figura 12. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Manganeso en presentación orgánica……...82
Figura 13. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Zinc en presentación orgánica……...82
Figura 14. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Cobre en presentación orgánica……83
Figura 15. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Silicio……84

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Inhibición (%) del crecimiento de colonias de *m. fijiensis* en presencia de diferentes concentraciones de micronutrientes en forma de metalosatos orgánicos……74
Tabla 2. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de metalosatos inorgánicos en diferentes dosis……84
Tabla 3. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de metalosatos orgánicos en diferentes dosis……85
Tabla 4. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de Silicio……86

INTRODUCCION

Desde 1955, el Ecuador ha sido uno de los mayores exportadores de banano del mundo, satisface más del 25 por ciento de la demanda internacional y contribuye con un 3% en la generación del PIB nacional, esto es unos 593 millones de dólares y con el 16% del PIB generado en el sector agropecuario (1, 9, 93).

Los cultivos del banano y plátano ocupan alrededor del 25% del área agrícola nacional y 40% del área agrícola de la costa. La superficie de

banano en Ecuador es de 180.331 has, de las cuales 138.417 corresponden a las provincias de El Oro, Guayas y Los Ríos que representan el 77% de toda la superficie del cultivo a nivel nacional. Las principales provincias, a nivel de superficie, productoras de la fruta mantienen aproximadamente 50.419 has en Los Ríos, 44.646 has en el Guayas y 43.353 has en El Oro (92).

La industria bananera genera en promedio 20 millones de dólares semanales siendo el soporte directo de mas de 200.000 personas, constituyéndose como una fuente de trabajo y de ingresos para miles de familias tanto del campo como de la ciudad, que laboran en las diferentes actividades, que van desde la siembra, como el manejo y control fitosanitario de las plantaciones, llegando al corte y traslado de la fruta a las empacadoras (1,9, 19).

Por otro lado la Sigatoka negra, principal enfermedad que ataca a este cultivo, se caracteriza por su acción devastadora, bajo condiciones favorables, la necrosis de las hojas puede reducir los rendimientos de 35-50% y todos los cultivares que son exportablemente importantes y comúnmente sembrados son susceptibles. En 1995 el costo medio para controlar esta enfermedad fue de $1500ha/año (96).

Anualmente, y en dependencia de una serie de factores, principalmente de índole climáticos, una plantación utiliza un promedio de 10-60 ciclos de fumigaciones, estas aplicaciones de fungicidas pueden aumentar aproximadamente en un 30% los costos de producción (82).

Ecuador gastaba hasta el 2002, más de 60 millones de dólares anuales en fungicidas solo para combatir la Sigatoka negra, en algunas regiones esto representa más del 40% de los costos de producción. El hongo responsable de la enfermedad, *Mycosphaerella fijiensis*, ha desarrollado resistencia a los fungicidas reduciendo su efectividad en mas del 50% (21).

El control de la enfermedad en plantaciones comerciales se basa principalmente en métodos químicos, en combinación con prácticas culturales. Sin embargo, la aplicación indiscriminada de agroquímicos esta generando efectos negativos tanto en el medio ambiente como en la salud humana (54, 56, 57).

La investigación en nutrición mineral y fertilización del banano ha sido amplia y efectiva. Esto ha permitido conocer las condiciones generales de respuesta del cultivo al manejo nutricional. Es por esto que en la

actualidad algunas investigaciones se están enfocando en el estudio de la nutrición de los cultivos para observar los efectos que tienen estos nutrientes ante la presencia de *M. fijiensis* (21)

Tal es el caso de los metalosatos que son estructuras de aminoácidos orgánicos naturales que se encuentran formando quelatos de igual forma en que se observa en las plantas, ya que su absorción se produce a través de las membranas celulares, no dependen de los estomas y le proporciona energía a la planta (61).

Con el presente estudio se obtuvo información que ayudara al análisis del efecto directo de los micronutrientes evaluados: Cobre, Boro, Zinc, Manganeso y un mineral bioactivo como es el Silicio en la formación y crecimiento de colonias, el desarrollo de micelio y capacidad de regeneración del mismo, la germinación de ascosporas de *M. fijiensis* en condiciones de laboratorio, estos resultados permitirán evaluar dicho efecto sobre el patógeno para poder determinar así los beneficios que se sumaran en la lucha contra la Sigatoka negra, cuando estos productos se utilicen en relación con el cultivo.

CAPITULO 1

1. BANANO Y SUS PROBLEMAS FITOSANITARIOS

1.1 Sanidad del cultivo

La sanidad del cultivo de banano es una de las partes mas importantes dentro de la cadena de producción, un mal manejo fitosanitario puede llegar a causar cuantiosas perdidas económicas y un notable descenso en el rendimiento de la planta. La Sigatoka negra es la enfermedad de la planta de banano más limitante en el Trópico Americano, y es causada por el hongo patógeno denominado *Mycosphaerella fijiensis var. Morelet*, cuyo ataque deteriora las hojas de la planta, reduce el rendimiento y la calidad de la producción (3).

Además de la Sigatoka existen enfermedades fungosas y bacterianas que causan severos daños a la planta, a continuación se presentará una descripción de las mismas.

1.1.3Enfermedades bacterianas

Moko o marchites bacteriana

Causada por la bacteria *Pseudomonas solanacearum*, el Moko es una enfermedad vascular que penetra a la planta a través de las raíces e invade rápidamente los vasos transportadores de savia (58).

El moko afecta plantas en todos los estados de desarrollo y los síntomas externos de la enfermedad varían de acuerdo al sitio y estado de infección (77). En una planta adulta cuando la infección ocurre vía raíces o rizoma, se evidencia los síntomas como la coloración amarillo verdosa de las hojas centrales y el amarillamiento del limbo hacia el pecíolo y la nervadura; no obstante, el desarrollo de síntomas va a depender de la edad o tamaño de los colinos y/o plantas afectadas. En colinos pequeños, además del amarillamiento y flacidez de las hojas, iniciando en la hoja bandera y hacia afuera, ocurre la muerte de los mismos (10, 77).

Esta enfermedad afecta la producción deteniendo el crecimiento de los racimos y agrietando algunos frutos, incluso se puede presentar pudrición o maduración prematura de la pulpa, aunque la corteza parezca simplemente blanda (10). Su

propagación se da por el uso en plantas sanas de herramientas que han sido utilizadas en plantas enfermas, la siembra de cepas infectadas es otro medio de dispersión de la enfermedad. Para evitar la propagación del moko en las plantaciones de banano es necesario eliminar las plantas que se encuentren enfermas, y en lo posible evitar las siembras en áreas cercanas, ya que la bacteria puede encontrarse en los residuos de las raíces. Se debe asegurar el uso de semillas de buena calidad que provengan de plantas sanas, para evitar la contaminación mecánica es necesario desinfectar las herramientas, en especial los machetes (64).

Pudrición acuosa del pseudotallo (Erwinia)

Esta enfermedad es causada por *Erwinia chrysantemi var. Paradisíaca.* Esta enfermedad causa el debilitamiento del pseudotallo a nivel del suelo, se presenta como lesiones acuosas de color amarillento al principio tornándose luego en café y negro, esta pudrición avanza hacia el centro y hasta la base del pseudotallo, despidiendo un fuerte olor, similar a pescado podrido, ocasionado por una fermentación butirica. (85).

Esta enfermedad se transmite generalmente de una planta a otra durante la etapa de deshoje a través de las herramientas, aunque las lluvias también sirven como medio de diseminación (85). Para controlar erwinia se debe alternar el uso de fungicidas protectantes con antibióticos, ya que según estudios realizados esta mezcla ha dado buenos resultados, además de una buena fertilización del cultivo, sistemas de drenaje adecuados y una desinfección regular de las herramientas (94).

1.1.3 Enfermedades fungosas

Sigatoka Negra

Debido a que el trabajo de tesis esta basado en esta enfermedad, su descripción será detallada en el siguiente capitulo.

Sigatoka amarilla

Esta enfermedad es producida por el hongo *Mycosphaerella musícola* Leach que ataca a las hojas de banano. Las esporas de este hongo (ascosporas y conidias) germinan en la superficie del limbo y el micelio penetra por una abertura estomática (82). Los primeros síntomas aparecen a los 20 días sobre el limbo de la hoja en forma de puntos descoloridos que luego se convierten en rayas delgadas descoloridas, paralelas a las nervaduras secundarias, que después toman forma ovalada, de colores gris en el centro y amarillo oscuro hacia el exterior (80, 100).

El rendimiento de la planta decae dada la disminución del área foliar que se hace más grave después que ha cesado la emisión foliar. El control de la Sigatoka consiste en interrumpir el ciclo descrito y reducir la producción de las esporas (80). De acuerdo a esta cualidad se programan los ciclos de aplicación

cuando hay presencia de síntomas de Sigatoka Amarilla detectados mediante inspecciones constantes, lo que permite realizar aplicaciones únicamente cuando son necesarias, pero el uso de aceite agrícola para el control de esta enfermedad también a dado buenos resultados a los agricultores (81).

Mal de Panamá

Esta enfermedad se reporto por primera vez en Australia en el año 1874 pero llego a Panamá en el año 1890 devastando los cultivos de banano en Centro América y el Caribe, siendo el agente causal *Fusarium oxysporum* f. *cubense* (FOC) (85). Los primeros síntomas aparecen en las hojas, pero la infección afecta principalmente el sistema radicular, donde el hongo penetra a través del tejido y se esparce por medio del xilema hasta el rizoma y pseudostallo, los síntomas externos se caracterizan por un amarillamiento de las hojas más viejas y un agobiamiento en la unión del pecíolo con el pseudotallo. Todas las hojas eventualmente se agobian y mueren, pero el pseudotallo permanece erecto por uno o dos meses hasta que se pudre y se seca. El pseudotallo adquiere una consistencia dura y seca (4, 85).

Mancha Cordana

Es de importancia secundaria en el cultivo y esta asociada con algún nivel de estrés que presenta la planta, esta se presenta por lo general cuando existen altos niveles de humedad. Esta enfermedad es causada por *Cordana musae.* Cuando se presenta en plantaciones de 7-9 meses de edad no alcanza a causar daños severos, lo que no justifica el control químico (103)

Los síntomas se manifiestan en las hojas como manchas ovaladas, pequeñas, de color castaño o amarillo-anaranjado, con zonas concéntricas y borde color marrón, los cuales con el tiempo, aumentan de tamaño hasta coalescer y ocasionar el secamiento del limbo (58).

1.1.3 Enfermedades Virales

Banana bunchy top virus (BBTV)

Esta es la enfermedad viral mas importante y la de mayor dispersión, apareció por primera vez en Fiji en 1889 (85). Es transmitida generalmente por àfidos y es considerado el virus más destructivo que afecta al cultivo de banano, ya que es extremadamente difícil de controlar o erradicar. Los síntomas iniciales consisten en estrías de color verde oscuro en las nervaduras o en las partes bajas de la nervadura principal, a medida que va avanzando la enfermedad las hojas crecen con mayor dificultad, aparecen ma onduladas que planas y tienen los bordes de la hoja cloróticos, en niveles de infección mas graves la planta no produce fruto, y si lo hace, los racimos aparecen deformes y torcidos (26).

Virus del mosaico del pepino (CMV)

Esta enfermedad se caracteriza por la aparición de Clorosis en el área intervenla de la hoja, lo que puede convertirse en una necrosis y pudrición del corazón de la hoja y del cilindro central (85). Los síntomas que manifiesta principalmente son coloraciones verdes y amarillas sobre la zona verde de las hojas, reducción de los foliolos y del área fotosintética activa, coloración irregular en los frutos. Esta enfermedad se transmite

mecánicamente, por rozamiento, o por un vector. Un vector es un organismo, generalmente un insecto, que transmite la enfermedad al alimentarse de una planta infectada; el virus es capaz de replicarse en la saliva del insecto, de forma que cuando éste se alimenta de una planta sana la infecta (85).

Virus de la estría del banano (BSV)

Este virus fue detectado en Marruecos en 1986 donde la tasa de infección pasaba del 50% en plantaciones de Dwarf Cavendish. Los síntomas que se presentan son, estrías amarillas de manera continua o en partes corriendo a lo largo del limbo de la hoja, estas estrías se van obscureciendo a medida que pasa el tiempo, también produce una distorsión general de la hoja, un arreglo anormal de las hojas en el pseudotallo, surcos en la base de los pecíolos, racimos y frutos pequeños (85).

1.2 Sigatoka negra

1.2.1 Caracterización del patógeno

La Sigatoka Negra es la enfermedad económicamente más importante en Latinoamérica y el Caribe que afecta al banano, actúa a nivel foliar destruyendo las hojas y produciendo una baja significativa en la capacidad fotosintética de la planta, lo que a su vez conlleva a una disminución del rendimiento y maduración prematura del fruto (58). En los campos los rangos de perdidas van desde el 30 al 100% sin la aplicación de fungicidas (58, 72).

1.2.2 Agente causal *M. fijiensis*

El agente causal de la Sigatoka negra es el hongo Ascomycete llamado *Mycosphaerella fijiensis Morelet,* que se produce en forma sexual y asexual durante su ciclo de vida. Durante la fase asexual aparecen los conidiósforos que son estructuras donde se producen las esporas asexuales llamadas conidias, que salen de los estomas, principalmente en la superficie inferior de la hoja. La fase sexual es la más importante en la producción de la enfermedad, ya que se produce un gran número de ascósporas, en estructuras llamadas peritecios. Las ascósporas son las esporas sexuales, ambas, conidias y ascósporas, son las estructuras de diseminación de la enfermedad (67).

Estructuras como las conidias y los conidiosforos son estructuras por las cuales se puede diferenciar *M. fijiensis* de *M. Musicota*, ya que el estado sexual de ambas es muy similar el espermogonio se desarrolla en el estado donde la estría se convierte en mancha y se vuelve mas abundante en la parte abaxial de la hoja (73).

Las conidias son estructuras hialinas, cilíndricas, rectas o ligeramente curvas, que poseen de seis a nueve septos, delgadas en al ápice y más anchas en la base con una cicatriz en el hilium basal del conidio. Los conidiósforos pueden emerger directamente del estoma de manera individual o en pequeños grupos o pueden formar fascículos sobre un estoma irrumpen de color oscuro. Las ascósporas son hialinas, fusiformes clavadas, con dos células y ligeramente constrictivas en el septo. Las ascósporas miden de 14-20 mm de longitud y de cuatro hasta seis mm de ancho (76).

1.2.3 Ciclo de la enfermedad y epidemiología

M. fijiensis es un hongo haploide heterotalico, en su ciclo de vida encontramos un estado sexual (Mycosphaerella fijiensis) en la cual se producen ascosporas, y su estado asexual (Pseudocercospora fijiensis) que produce conidias, estos estados se presentan simultáneamente en la planta tanto en vivo como in Vitro, las conidiosporas se desarrollan en grupos de dos a cinco, cuando se presentan las lesiones necróticas primarias (58). Los espermatogonios que contienen las espermatidias y peritecios se desarrollan en las cavidades subestomaticas, principalmente en la parte baja del envés de la hoja (44).

Después de que las ascosporas caen en la superficie de la hoja ocurre la germinación y los tubos germinativos y las conidias comienzan a penetrar a través de los estomas luego de 48-72 horas a con una temperatura sobre los 20°C (39). Sin importar el clima la infección ocurre ya sea por conidias o ascosporas el tipo de mancha producido y el desarrollo de la enfermedad es el mismo. Una vez que los tubos germinativos penetraron a través de los estomas de la parte baja de la hoja los vesículas se forman en la cavidad subestomal de donde la hifa vegetativa se propaga a través de los espacios

intercelulares entre el parénquima de la hoja. La hifa se desarrolla dentro de los conidiosforos o crecen a través de la hoja. Por lo tanto las conidiosporas se encuentran produciendo los estados iniciales de la enfermedad (44, 71, 95).

La mayor cantidad de conidias se producen en la época seca, mientras que la liberación de ascósporas es mucho mayor ante la presencia de lluvias, esto se debe a que en la superficie de la hoja existe una capa de agua donde aparece una mayor cantidad de manchas en el envés. Las hojas secas adheridas a las plantas representan una excelente fuente del inóculo (53, 40, 44).

El primer síntoma que aparece de la enfermedad son diminutas rayas amarillas que aparecen en el envés de la hoja, en la segunda fase se observan pequeñas rayas de 1-2mm sobre la superficie de la hoja afectada. En la tercera fase las rayas alcanzan de 20 a 30mm de longitud. En la cuarta fase las rayas ya forman pequeñas manchas negras, las mismas que al unirse entre si y rodearse de un halo amarillo son reconocidas como estadio cinco. Durante el estadio 6 el centro de las manchas de

color negro se torna a un color gris a blancuzco, en donde ya se puede observar una gran producción de ascosporas (38).

Los peritecios son formados en los etapas tardías de la enfermedad y las ascosporas pueden ser liberadas continuamente hasta 21 días después de la formación de la lesión, es así que las hojas muertas son una gran fuente de inoculo por lo que estas hojas necesitan ser removidas del cultivo (88).

1.2.4 Interacción Planta-Patógeno

Dentro de los ecosistemas naturales observamos que no se presentan epidemias, enfermedades o pestes que afecten a poblaciones enteras, esto es debido al equilibro que existe el patógeno sus hospederos (62).

Los síntomas de Sigatoka negra han sido identificados en especies como *Musa balbisiana*, muchas subespecies de *M. Acuminata* y cultivos banano comestibles (44). El grado de agresividad de los síntomas que se presente en las hojas por

ataque de los hongos, serán dependientes de la compatibilidad que exista entre las especies de *Musa spp* y el hongo (39).

Las plantas poseen varios mecanismos de defensa y los patógenos tienen maneras de evadir o suprimirlos, pero dependiendo de la constitución genética de ambos la planta hospedero puede llegar a desarrollar otros mecanismos que le permitirán protegerse del ataque de una determinada enfermedad (36, 63).

Los genotipos de banano fueron agrupados en tres categorías para expresar su grado de resistencia a la Sigatoka; materiales altamente resistentes, que son los que presentan un bloqueo en la expresión de los síntomas y no permiten al hongo esporular; materiales parcialmente resistentes, que son los que muestran un lento desarrollo de los síntomas y los susceptibles, que se caracterizan por el rápido desarrollo de las lesiones necróticas en la hoja (39).

1.2.5 Control

En América Central el control de la Sigatoka comenzó con el uso de Caldo Bordeaux, que es una suspensión de sulfato de Cobre con agua, estas practicas se realizaban a mediados de los años 1930, luego en los años 1950, el aceite de petróleo y los ditiocarbamatos, que eran esparcidos en avionetas, hicieron a un lado el uso de el Caldo Bordeaux, después de esto apareció el primer fungicida sistémico que fue Benomyl, de ahí en adelante el uso de productos químicos para el control de Sigatoka se generalizo en la mayoría de las bananeras a nivel mundial, obteniendo como consecuencia la rápida resistencia del patógeno a los benzamidazoles y propiconazoles en muchos países de Centro América (58).

Para tener un control satisfactorio de la enfermedad los fungicidas protectantes son utilizados en mezclas con los sistémicos, tratando así, de esta manera prevenir o evitar la resistencia a los fungicidas sistémicos en áreas donde aun no esta presente. En la actualidad los controles químicos continúan con mezclas de aceite agrícola y Benzimidazoles, Triazoles, Morfolinas y Dithiocarbamatos, en ciclos por lo menos 14 veces al año (67).

Con el fin de disminuir los daños causados al medio ambiente y a la salud humana se están implementando practicas culturales como la reducción de inóculo en la hoja a través del corte de secciones necrosadas de la hoja, mantener una adecuada humedad relativa, por medio de buenos sistemas de drenajes, un movimiento continuo de agua, oxigeno, nutrientes, CO2 y una buena densidad de siembra, (23, 58, 106).

El uso de variedades resistentes es una buena opción para el manejo de la enfermedad, aunque en la ultima década se han implementado el uso de extractos botánicos, sustratos, antagonistas y enmiendas orgánicas, lixiviados de compostaje y de lombricultura (7,42, 79, 84).

CAPITULO 2

2. NUTRICION DEL BANANO

La nutrición en el banano es un factor que no solo influye en el aumento de la producción, como generalmente se cree, sino que además interviene en la calidad post-cosecha del producto, en la tolerancia de la planta a plagas y enfermedades, ya que de manera directa o indirecta los nutrientes están íntimamente relacionados con las funciones fisiológicas o formando parte de las estructuras de crecimiento y reproducción (2, 107).

2.1 Requerimientos de los Macronutrientes en Banano

Nitrógeno (N)

Este elemento es ampliamente requerido por el cultivo del Banano, se estima que una producción de 70 ton extrae del suelo 125 Kg/ Ha/ año. El nitrógeno que se obtiene de materia orgánica puede ayudar a suplir las necesidades de este, pero aún así no en lo necesario, por tanto se debe recurrir a la fertilización mineral para lograr los rendimientos adecuados (52).

Fósforo (P)

Elemento absorbido por las plantas en la forma de ión (H_2PO_4) y su absorción se efectúa en un pH entre 5,5 y 7,0 es un elemento poco móvil y es reutilizado dentro de las plantas. Se estima que una producción de 70 ton extrae 15 Kg/ Ha/ año, lo cual es una cantidad baja en comparación con otros elementos, sus requerimientos en banano son especialmente en los puntos de crecimiento y durante su etapa vegetativa (52, 69).

Potasio (K)

El cultivo de Banano necesita elevadas cantidades de este elemento, una producción de 70 ton puede extraer alrededor de 400 Kg/Ha/año de Potasio. Las cantidades que son suministradas al cultivo varían

desde los 80 a 1000 Kg/Ha/año. Este elemento es esencial para todos los organismos vivos, especialmente en las plantas, ya que no solo esta contenido en los tejidos sino que participa activamente en funciones fisiológicas y bioquímicas (69).

Azufre (S)

Sus requerimientos son similares a los del Fósforo, una producción de banano de 70 ton remueve cerca de 14 Kg. S/ Ha/ año, el Azufre se encuentra en el suelo de forma orgánica e inorgánica. Su absorción por las plantas se da como ión $(SO4)^{-2}$ y además no es muy alterada por el pH (69).

Calcio (Ca)

Las dosis en las que se aplica este nutriente por lo general son moderadas en banano debido a su abundancia en los suelos. Se estima que una producción de 70 ton de banano extrae 10 Kg Ca/ Ha/ año (52).

Magnesio (Mg)

Se estima que las cosechas extraen entre 10 y 60 Kg de Mg Ha/ año. En banano los requerimientos de Mg no son altos, se estima que 70 ton de producción remueven 20Kg de Mg/ Ha/ año. El Manganeso tiene antagonismo con el Potasio, (52).

2.1.1 Función

Nitrógeno

Es un importante elemento constituyente de la Clorofila**,** protoplasma, proteínas y los ácidos nucleicos. El Fósforo cumple una función muy importante en la transferencia de energía, ya que los carbohidratos antes de ser metabolizados son fosforilados, la fosforilación es el proceso por el cual se almacena la energía mediante el cambio de ADP en ATP (99).

La presencia de Fósforo en la estructura molecular de los azúcares hace que estos sean más reactivos. En la transferencia de energía por fosforilación, juegan un papel importante los nucleótidos altamente reactivos: ATP (adenosina trifosfato), ADP (adenosina difosfato), GTP (guanosina trifosfato), GDP (guanosina difosfato), UTP (uridina trifosfato),

UDP (uridina difosfato), CTP (citosina trifosfato) y CDP (citosina difosfato) (31, 87). En ciertas condiciones la planta puede absorber fosfato orgánico soluble incluyendo ácidos nucleicos, la porción de acido inorgánico absorbida es rápidamente combinado en moléculas orgánicas que entran a las raíces y son transportado hacia los brotes (13)

Potasio

Es absorbido por las plantas como Ion Potasio y actúa como catalizador en procesos de respiración, fotosíntesis, formación de Clorofila y regulación de contenido de agua (52, 69). Activa alrededor de 60 enzimas, su gran actividad se debe a su bajo radio iónico que le brinda gran movilidad al pasar por las membranas. Entres sus roles enzimáticos mas importantes tenemos la acción sobre la enzima sintetasa del almidón (33). Además de la activación de enzimas el Potasio realiza tres funciones interrelacionadas, participación en el transporte de a través de la membrana, neutralización de aniones y de mantener el potencial osmótico regulando la turgencia de los tejidos (22).

Azufre

El Azufre tiene un papel fundamental en la estructura de proteínas ya que su formación esta ligada a los grupos sulfuros y aminoácidos. Participa también en el transporte fotosintético y respiratorio de electrones por medio de agrupamiento de Hierro-Azufre. Las canalizaciones de varias enzimas y coenzimas contienen Azufre. Los compuestos secundarios de Azufre se derivan de nódulos de rizobios (47).

Calcio

Este elemento es componente de los pectatos de Calcio, que son importantes en la estructura de la pared celular, integrando cadenas pepticas como el boro contribuyendo con su estabilidad y afectando sus propiedades mecánicas (68). Se conoce un rol enzimático del Ca a través de la calmodudina, que es una proteína con 148 aminoácidos con 4 átomos de Ca presente en la pared celular (31, 87).

Participa en la selectividad del transporte de iones que atraviesan la membrana celular. De esta manera se previene la

integridad de la membrana y por lo tanto de las substancias que ingresan al citoplasma. Protege a la membrana del ataque de los iones hidrógeno que perjudican las funciones de la membrana (83). La calmodulina activa la Ca-ATPasa que ayuda a mantener el bajo nivel de Ca en el citoplasma, regulación muy importante, ya que si el nivel de Ca se eleva se inhibe la acción de varias enzimas y también ocurre la producción de etileno causando la senescencia de la célula (74, 91).

Magnesio

La importancia del Mg radica en que es el centro de las moléculas de Clorofila a y b que se encuentran en los Cloroplastos. Además mantiene las configuraciones de estas moléculas, por lo tanto es básico para el proceso de fotosíntesis. (41). Aparece también en la estructura de las pectinas y es parte integral de los ribosomas. Es fundamental para la formación de las estructuras del RNA y DNA (31, 87).

En el proceso de fijación de dióxido de carbono, activa a la enzima rubisco, haciendo que la misma incorpore más dióxido

de carbono. Es por esto que tiene un efecto positivo en la asimilación de dióxido de carbono y procesos asociados como la producción de azúcares y almidón (87).

2.1.2 Efectos de deficiencia

Nitrógeno

Los bajos niveles de nitrógeno producen Clorosis generalizada, un crecimiento lento y retardado. Los frutos tienen aspecto muy coloridos, las secciones mas maduras de las plantas son las mas afectadas ya que el Nitrógeno se transloca de las zonas mas viejas de la planta hacia las zonas mas jóvenes (31).

En banano se observa el amarillamiento de las hojas por la falta de Clorofila, al principio se presenta en las hojas más viejas pero luego continúa hacia las jóvenes, también los pecíolos de las hojas más afectadas se tornan rosados. La tasa de producción de las hojas y su fitotaxia se reduce. También la altura de las plantas y la longitud de las hojas disminuyen (52). Los bajos niveles de Nitrógeno estimulan la síntesis de ABA de la raíces y su transporte a la parte aérea, lo que provoca el

cierre de estomas acelera la senescencia por la producción de etileno (87).

Fósforo

Bajo la deficiencia del Fósforo el follaje se torna azul verdoso y el crecimiento se reduce. Frecuentemente se desarrollan pigmentos verde amarillos, púrpuras y marrones en las hojas en especial a lo largo de las nervaduras (31). En banano, la deficiencia de Fósforo se presenta con una coloración verde oscura azulada del follaje. Las hojas más viejas presentan una necrosis a manera de sierra, lo que posteriormente causa la muerte prematura del tejido (52). La reducción del crecimiento de la planta madre como de sus hijos, además la tasa de emisión foliar, la longitud y el espacio entre las hojas disminuye (52).

Potasio

Ante bajos niveles bajos de Potasio las plantas presentan pequeñas manchas de tejido necrótico en las hojas, también hay una necrosis marginal. El crecimiento de las plantas no es

normal y bajo condiciones severas las yemas laterales y terminales pueden morir (11). En banano se observa Clorosis en las hojas, una coloración amarillo naranja en la punta de las hojas más viejas, luego un plegamiento hacia el interior de la hoja logrando su muerte, otro síntoma de deficiencia es la lentitud del igual que un acortamiento de los entrenudos también denominado arrepollamiento, los racimos aparecen cortos, raquíticos y de bajo peso (52).

Azufre

Usualmente esta involucrado con el déficit de Nitrógeno, cuando existe deficiencia de Azufre las plantas se presentan cloróticas, espigadas y de poco crecimiento. La Clorosis que sucede en la planta comienza en las hojas jóvenes a diferencia de la Clorosis causada por falta de N (105). Los síntomas de deficiencia de S se observan en hojas jóvenes, las mismas que toman un color blanco amarillento. Si la falta de S es mayor hay presencia de manchas necróticas en los bordes de las hojas y de un engrosamiento en las nervaduras (8).

Calcio

Un bajo nivel de Ca causa la pérdida de selectividad de la membrana celular, provocando la entrada libre de iones tóxicos o metales pesados como el Aluminio. Este elemento es responsable de la fusión del aparato de Golgi y su ausencia induce a trastornos en el metabolismo celular (87). Las plantas deficientes de Calcio típicamente presentan en la parte superior de los hijos amarillo verdosos, las partes bajas son verde oscuro y el crecimiento de flores, frutos y raíces se ve afectado (75). En el caso de las raíces estas son severamente dañadas y quedan predispuestas a cualquier infección de hongos y bacterias (31).

En el banano su deficiencia es notoria en hojas jóvenes, provocando el engrosamiento de las nervaduras secundarias pero en especial de la central todo esto acompañado de una Clorosis marginal entre nervaduras, luego las hojas se deforman hasta el punto de la desaparición de la lamina foliar y la detención de la emisión foliar y un aspecto raquítico de la planta (52).

Magnesio

En las plantaciones de banano la deficiencia de este nutriente se manifiesta con una decoloración foliar y moteado de los pecíolos, una Clorosis o amarillamiento de los semi-limbos de las hojas viejas, luego, con el tiempo estos puntos toman tonalidades oscuras hasta volverse necróticos, al final adquiere un color dorado intenso (52).

Otro síntoma de carencia de Magnesio es la coloración azul púrpura en los pecíolos de las hojas afectadas. Se pueden presentar parches amarillentos en la lamina foliar de las hojas intermedias, estas manchas son mas intensas en plantas con racimo (78). Cuando la deficiencia de Mg es muy severa las vainas se despegan del pseudotallo y se rompen provocando una senescencia prematura de la hoja (52).

2.1.3 Relación con las enfermedades

Los nutrientes son elementos necesarios para el normal crecimiento y reproducción de los cultivos. Cuando los elementos se encuentran en cantidades insuficientes o no

están disponibles, se producirá un des-balance en los procesos metabólicos, eventualmente estos se manifiestan con síntomas visibles como el desarrollo retrasado, cambio de coloración de la hojas y otras anormalidades más. Tomando en cuenta que también gracias al desbalance metabólico, se deja la puerta abierta al paso de enfermedades secundarias que pueden ser causadas por hongos, bacterias y virus (29)

2.2 Requerimientos de los micronutrientes en banano

Zinc (Zn)

En banano, una cosecha de 50 toneladas extrae 500 g de Zn/ Ha/ año. Usualmente las correcciones por falta de este elemento se las realiza con aplicaciones foliares (52).

Hierro (Fe)

La disponibilidad del Fe esta altamente ligada al pH del suelo. En suelos ácidos es fácilmente absorbido, al contrario en suelos neutros y alcalinos se insolubiliza ocasionando en la planta deficiencias (49). En banano, una producción de 50 ton de la fruta remueve del campo 900 g/Ha/año. (52).

Molibdeno (Mo)

Su absorción esta sujeta al pH, de esta manera un incremento de pH de 5,4 a 6,4 puede aumentar el contenido foliar de Molibdeno en un 500% (48, 52, 69). En banano sus requerimientos son muy bajos, a nivel foliar alcanza cantidades entre 0,1 a 0,23mg/Ha. Cantidades que son muy bajas en comparación con los demás microelementos (52).

Manganeso (Mn)

El Mn es el décimo elemento más abundante sobre la corteza terrestre. La disponibilidad de este elemento puede ser afectada por el pH del suelo (16). Se estima que una producción de 50 ton de banano extraen 500 g de Mn/ha/año (52).

Sodio (Na)

El Sodio es conocido con el término “nutriente funcional”, ya que estos elementos son raros en la tierra pero promueven el crecimiento de la planta en cierta circunstancias (37, 97). Pocas plantas tienen alguna

dificultad completando su ciclo de vida en ausencia de Sodio, tales como las euhalofitas y las plantas C4 (65)

Níquel (Ni)

El níquel forma parte de la metaloenzima ureasa, la cual descompone la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Resultando esencial para las plantas que se abonan con urea o con sus derivados, jugando entonces un papel importante en el metabolismo nitrogenado (102).

Cobre (Cu)

Uno de los primeros usos del Cobre en la agricultura fue en el control químico de malezas. Este micronutriente, en elevadas concentraciones es altamente tóxico. Es por esto que en casi todas las plantas se encuentra presente como un complejo. Su absorción por las plantas esta ligada a los niveles de pH. Su taza de absorción esta entre las menores de todos los elementos esenciales (59)

Cobalto (Co)

La exigencia de Cobalto en las plantas superiores no ha sido establecida aun, pero es esencial en microorganismos incluidas las cianobacterias, ya que forma parte de la cobalamina, componente de varias enzimas en microorganismos fijadores de nitrógeno (90)

Boro (B)

En banano, una producción de 50 ton extrae alrededor de 700 g de B/ ha/ año. Su deficiencia en este cultivo causa decoloraciones y deformaciones foliares (52).

Cloro (Cl)

La mayoría de las plantas absorben Cl de forma rápida y en cantidades considerables, esta absorción esta sujeta a varios factores: concentración del nutriente, solución del suelo y a los inhibidores metabólicos (35)

Silicio

La información que existe referente a este nutriente es muy limitada, ya que hasta hace poco tiempo era catalogado como un elemento “no

esencial", debido a que muchas plantas pueden crecer en carencia este elemento. En la actualidad se han realizado varias investigaciones alrededor de este elemento en diferentes cultivos, donde se ha demostrado los efectos beneficiosos que este tiene en las plantas (30).

2.2.1 Función

Zinc

Este microelemento interviene en la síntesis de auxinas y es activador de varias enzimas como: la deshidrogenasa alcohólica, la dismutasa de súperóxidos y la anhidrasa carbónica. Entre estas enzimas la anhidrasa carbónica controla la disolución del dióxido de carbono en soluciones acuosas necesarias para la acción de la enzima rubisco en la fijación del dióxido de carbono atmosférico (87). Es activador de enzimas responsables de la síntesis de triptófano que es precursor de la auxina AIA, que acelera la división celular (41).

Hierro (Fe)

El Hierro es componente de los grupos hemo unidos a las porfirinas, esta presente en la actividad del citocromo f, b 559, c y b. Esta presente en enzimas respiratorias como: peroxidasa, catalasa, ferredoxina y citocromo-oxidasa. Ayuda a la protección de los Cloroplastos de los radicales libres producidos durante las reacciones fotosínteticas (31, 48, 87).

Este elemento tiene un papel relevante en la cadena de transporte de electrones de la mitocondria, que es donde se genera la mayoría del ATP en la fosforilización oxidativa. Todos los miembros que forman parte de esta cadena de transporte son enzimas que contienen Fe (31).

Molibdeno (Mo)

La transición del Molibdeno es esencial para muchos organismos y aparece en más de 60 enzimas catalizadoras de reacciones de oxidación-reducción (70). Gran parte de este microelemento se encuentra en la enzima nitrato reductasa de las raíces y tallos de las plantas superiores. La nitrato reductasa reduce los nitratos que entran en la planta regulando

la reducción de nitratos a forma orgánica y además esta asociada a la envoltura de los Cloroplastos (69, 87, 31, 48).

Manganeso

El Manganeso tiene un papel importante en el fotosistema 2, específicamente en la fotolisis del agua. En su ausencia los electrones del agua no podrían ser trasferidos a la proteína 680 y como consecuencia la fotosíntesis es alterada. A esta acción se la conoce como la reacción de Hill. Al igual que el Fe, el Mn también activa una superóxido dismutasa. Esta enzima actúa sobre el ácido indol acético, que al acumularse se vuelve toxico para las plantas (31, 87).

Al igual que el Cu el Mn forma parte de la desmutasa de súper oxido, esta enzima es muy difundida en los organismos aeróbicos. La función de esta enzima es dar protección contra los radicales de oxigeno libres que son altamente tóxicos. La desmutasa transforma estos radicales libres en agua (31).

Sodio

Es un estimulante del alargamiento celular, puede reemplazar al K en la activación de la ADP – glucosapirofosforilasa, compuesto que interviene en la síntesis del almidón. En plantas como las halófilas, el Sodio promueve su crecimiento (98)

Níquel

El Níquel forma parte de la metaloenzima ureasa, la cual descompone la urea en amoniaco y dióxido de carbono, jugando un papel importante en el metabolismo nitrogenado. También el níquel es un componente esencial en la hidrogenasis relacionada con la fijación de nitrógeno y otros procesos bacteriales asociativos (12).

Cobre

El Cobre es altamente toxico en concentraciones elevadas. Enlazado a enzimas participa en reacciones de oxido reducción con la excepción de ciertas amino oxidasas y galacto oxidasas. Muchas de las enzimas (tirosina, laccasa, acido ascórbico oxidasa, mono y diamino oxidasa, D-galactosa oxidasa, citocromo oxidasa) de las que el Cu forma parte reaccionan con

oxigeno y lo reducen a agua oxigenada o agua (48). El Cobre por ser un elemento de transición es capaz de transferir electrones, funciona también en el transporte de electrones y en la captura de energía por medio de proteínas y enzimas oxidativas (41)

Cobalto

El Cobalto no es conocido por ser un elemento esencial definitivo en las plantas superiores. El clorhidrato de Cobalto incrementa la elongación de las ramas cuando son aplicadas con Acido Indol Acético y Sacarosa, pero la elongación es inhibida por el acetato de Cobalto. El Cobalto en forma de vitamina B12 es necesario para el crecimiento de ciertos tejidos de plantas cultivadas in Vitro. Incrementa la taza de síntesis de peróxidos y previene la destrucción peroxidativa del AIA (5). El Cobalto también es esencial para las cianobacterias, estas forman parte de la cobalamida que es componente de varias enzimas en los microorganismos fijadores de nitrógeno (90).

Boro

El Boro es requerido para el normal crecimiento de las plantas. Los procesos iniciales del control de la absorción del boro son localizados en las raíces (17). Entre sus funciones se encuentra la de ayudar a la elongación de las raíces, participa en el metabolismo del ácido nucleico, proteínas, amino ácidos y nitratos, también en el de las auxinas, fenoles y azucares, es responsable de la formación de flores y la producción de semillas, juega un papel importante en el transporte de metabolitos a nivel de la pared celular, igual que en las actividades de las enzimas membrana - bordes (25)

Cloro

El Cloro que se lo encuentra en la planta como componentes orgánicos clorinados, tiene un alto grado de movilidad dentro de la misma y es esencial para muchas reacciones bioquímicas como fisiológicas (28). Entre sus funciones está la de optimizar la actividad enzimática de asparagina sintetasa, amilasa y ATPasa, participa como cofactor esencial de la activación de la enzima oxígeno envolvente, que esta asociada con el fotosistema II, las cantidades de Cloro requeridas para las funciones bioquímicas son relativamente bajas en comparación

con las usadas para la osmo regulación. La acumulación de Cloro en las células incrementa la hidratación de los tejidos y la presión de turgencia (46, 86).

Silicio

El Silicio mas que cumplir funciones vitales en la planta, presenta efectos benéficos tales como la mejora de su composición química y estructural, ayuda en la resistencia mecánica ya que su acumulación engrosa la membrana silito-celulosa, se observa un incremento en el rendimiento de las plantas y en su actividad enzimática. Mejora la resistencia a plagas y enfermedades debido a que estimula la actividad de la citinaza y una rápida acción de las peroxidasas y polifenoxidasas después de una infección fungosa. Aumenta la tolerancia a toxicidad por metales pesados, salinidad, heladas y así muchas características más que están siendo investigadas (20, 30).

2.2.2 Efectos de la deficiencia

Zinc

Los signos iniciales de la deficiencia de Zinc, se presentan como una clorosis en las nervaduras principales y en las secundarias aparece un color verde amarilloso, el desarrollo de las hojas es menor que lo normal y los entrenudos se acortan (6). En algunas especies disminuye la floración y fructificación de las plantas, las hojas se muestran torcidas, necrosadas o cloróticas, pero en otras puede aparecer una coloración verde oscura o azul verdosa (31).

En los cultivos de banano se observa además la formación de racimos pequeños y deformes, la distancia entre manos se acorta, notándose así una apariencia compacta. Los dedos son cortos y su sección terminal es alargada (52).

Hierro (Fe)

La deficiencia de Hierro se manifiesta con una clorosis general, pero mas marcada en las hojas jóvenes, algunas de sus nervaduras principales, pueden mantenerse verdes al principio, pero al final terminan presentando Clorosis (14). En banano, la deficiencia de Hierro se presenta con el florecimiento

anticipado, lo que produce racimos pequeños, existen casos en los que los racimos no son producidos (52).

Molibdeno (Mo)

Los síntomas de deficiencia de Molibdeno suelen ser muy similares a los causados por la deficiencia de Nitrógeno, especialmente en las legumbres. Debido a su gran movilidad en el xilema y floema, los indicios de bajos niveles de este elemento son visibles en toda la planta (60). Tanto en el tomate como en otras especies se observa una Clorosis entre las nervaduras, las nervaduras se tornan de un color verde claro dando la apariencia mosqueada y los márgenes de las hojas tienden a torcerse y enrollarse. En brassicas, las hojas se tornan necróticas y se desintegran dejando una delgada franja de hoja alrededor de la nervadura central (31).

Manganeso

Los síntomas de deficiencia de Manganeso en las hojas son claramente reconocibles, siempre que se exista una disminución significante del crecimiento de la planta, estos

síntomas incluyen clorosis entre las nervaduras en las hojas jóvenes, caso contrario a lo que ocurre con el Hierro. En casos severos, pueden aparecer manchas o rayas necroticas y estos se muestran primero en el centro de la hoja (45). En banano, la deficiencia de Manganeso se manifiesta con tienen un desarrollo pobre del fruto, debido a la perdida prematura del follaje (52).

Sodio

La deficiencia de Sodio se presenta generalmente en forma de clorosis, necrosis e incluso llega a impedir la formación de flores en plantas que necesitan de este elemento en su nutrición (48).

Níquel

La deficiencia de níquel en las legumbres y otras dicotiledóneas puede hacer disminuir la actividad de la ureasa, por lo tanto se presentara una toxicidad a la urea, obteniendo así una necrosis en las hojas. Con las plantas fijadoras de nitrógeno en cambio se observa una suspensión general del crecimiento de la planta

(32). En gramíneas se presenta una clorosis similar a la que se observa por la falta de Hierro, que incluye, Clorosis entre las nervaduras y necrosis en las hojas jóvenes (17)

Cobre

Los síntomas de deficiencia de Cobre varían en dependencia de la especie, pero en términos generales se puede encontrar que en la planta empiezan a aparecer los brotes en forma de roseta, manchas necróticas, distorsión de las hojas y finalmente la muerte. Algunas plantas pueden presentar perdida de turgencia y decoloración de ciertos tejidos, en otras se nota clorosis, reducción del crecimiento (15). En el cultivo de banano, los bajo niveles de Cobre pueden ocasionar una clorosis generalizada, un alineamiento de las hojas y se produce la curvatura de la nervadura central (52).

Cobalto

El Cobalto a lo largo del tiempo ha sido conocido como un micronutriente mas para los animales y los seres humanos que para las plantas, ya que es constituyente de la vitamina B12,

necesaria para el normal funcionamiento y desarrollo de los humanos y animales es por eso que su deficiencia en las planta no ha sido hasta ahora investigada (104).

Boro

Los bajos niveles de Boro se manifiestan en los cultivos de maneras variadas, pero en general encontramos que las yemas apicales son dañadas, e incluso pueden morir, los tejidos presentan un aspecto seco, duro y quebradizo. Se afecta la floración y los frutos se tornan igual que las hojas, secas duras, quebradizas y torcidas hacia arriba. Un efecto secundario de la deficiencia de Boro es el ataque de hongos y bacterias a las raíces (31).

Cloro

Los síntomas de deficiencia de Cloro hay sido bien definidos para algunos cultivos, el síntoma descrito más común es el enrollamiento de las hojas, especialmente en los márgenes, a medida que de deficiencia se vuelve mas severa las hojas pueden mostrar enrolladas, y necroticas, se puede presentar

también como clorosis o una lesión necrótica en el tejido de la hoja (27). También provoca un enanismo y engrosamiento de las raíces. La pérdida de la turgencia celular es otro síntoma de la deficiencia de Cloro (87, 48).

Silicio

El Silicio hasta hace pocos años fue considerado como un elemento “no esencial”, porque existen plantas que mantienen un crecimiento normal ante la ausencia de este nutriente, pero hay investigaciones en cultivos como arroz, caña de azúcar, cebada, maíz, sorgo, pastos y otros mas en los que se ha probado sus beneficios. Por lo tanto no se han observado síntomas visibles de la falta de este elemento en las plantas superiores (66).

2.2.3 Diferencia entre sulfatos y metalosatos

Los sulfatos son sales o ésteres que se derivan del ácido sulfúrico, contienen como unidad común el átomo de Azufre en el centro de un tetraedro formado por cuatro átomos de oxígeno, estos compuestos son absorbidos por la planta de

manera lenta. Los sulfatos son activamente transportados dentro de las raíces de planta por protones, este transporte se da gracias al gradiente que hacen que estos atraviesen la membrana plasmática, esta absorción esta condicionada por el estado del azufre en la planta que determina la actividad de absorción de los sulfatos (50); mientras que, los micro nutrientes quelatados son generalmente la fuente más efectiva de brindar micronutrientes a la planta. Este sistema requiere que el agente quelante provea por lo menos dos grupos donadores para que se combinen con el mineral. Uno de estos grupos viene generalmente del grupo amino (NH_2) formando una ligadura covalente compleja. El otro grupo donador es Carboxilo (COOH) y forma una ligadura iónica (55).

La quelación es un proceso natural que previene la precipitación de los nutrientes absorbidos. El ingreso de nutrientes catiónicos a las células de la planta serán quelatizados por medio de ácidos orgánicos y aminoácidos. Este proceso permitirá a los minerales moverse libremente dentro de la planta. Los ácidos orgánicos y los aminoácidos como el acido cítrico y la glicina son agentes quelantes

naturales, estos como los minerales contribuyen a la estabilidad de los quelatos, si el agente quelatante es muy fuerte lo puede volver poco asimilable a la planta, por otro lado un agente quelatante débil no podría proteger a los quelatos minerales de las reacciones químicas y reduciría la disponibilidad de los minerales en la planta (55).

Los metalosatos, son productos obtenidos de un proceso químico-biológico en el que el mineral o ion metálico esta suspendido entre 2 aminoácidos, rodeados de proteína vegetal hidrolizada de la misma manera que se hace en la naturaleza, los cuales pueden ser absorbidos y translocados muy fácilmente pues su tamaño molecular es inferior a los 10 ángstrom y su peso molecular es inferior a los 100 daltons haciéndolos ideales para la nutrición vegetal. Aporta a la planta minerales y aminoácidos naturales que forman parte de las rutas metabólicas de las proteínas, a su vez las proteínas son muy importantes porque sin ellas no hay formación de nuevos compuestos necesarios para el crecimiento y división celular (101).

2.2.4 Uso de los metalosatos en el control de enfermedades

Los metalosatos desempeñan un papel vital en los esquemas de la naturaleza funcionan directa e indirectamente para proveer energía regulando los procesos fisiológicos como:

Se ha comprobado que el Boro unido a fungicidas brinda un mecanismo adicional de tolerancia a la infección de patógenos gracias a la participación de agentes fenolitos en la lignificación de las paredes celulares. En estudios realizados en tomate se ha demostrado que el Zinc y el Cobre EDTA ayudaron a reducir los daños causados por *Fusarium oxysporum* eliminando la acción del acido Fusárico (24, 89).

El Silicio induce al fortalecimiento de las paredes celulares de las hojas en el cultivo de banano, como mecanismo de defensa contra posibles ataques de patógenos. El mantenimiento de la productividad a pesar del padecimiento de enfermedades en el cultivo de arroz es otro de los efectos del elemento (34).

CAPITULO 3

3. MATERIALES Y METODOS.

Esta investigación fue orientada a la validación de la siguiente hipótesis:

1. “Los micronutrientes en forma de metalosatos nutren a la planta, y además podrían detener el desarrollo de la enfermedad, por medio de la inhibición del crecimiento de colonias, micelio, y germinación de ascosporas*”.*

Planteada esta hipótesis, el objetivo general de este trabajo fue:

Monitorear el efecto directo de algunos nutrientes como el Cobre, Boro, Manganeso, Zinc y Silicio en parámetros de crecimiento los diferentes órganos de *M. fijiensis* (Colonias, micelio, ascosporas y capacidad de regeneración).

Para satisfacer dicho objetivo, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar In Vitro el impacto de diferentes dosis de micro nutrientes sobre el crecimiento de colonias de *M. fijiensis*

2. Estudiar el efecto de las concentraciones de micro nutrientes sobre el peso del la masa micelial de *M. fijiensis*

3. Análisis del impacto de diferentes concentraciones de micro nutrientes en la regeneración en laboratorio

4. Monitorear el efecto de los micronutrientes sobre la germinación de ascosporas

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.

3.1Materiales

3.1.1 Material Biológico: Fungoso

Ascosporas

De campo, se seleccionaron hojas infectadas con *M. fijiensis* y se separaron las partes con mayor presencia de síntomas. Luego de limpiar dichas partes de hojas, se realizaron cortes de 2 x 3cm los cuales fueron grapados a papel filtro y colocados en cámara húmeda durante 48 horas en temperatura ambiente.

Luego, los papeles fueron impregnados a las tapas de cajas petri con medio PDA para permitir la descarga durante 2 horas, después de la descarga, las cajas petri fueron incubadas 48 horas a 26ºC en total oscuridad. Las ascosporas germinadas fueron transferidas a otro medio PDA para obtener colonias.

Colonias

Las ascosporas germinadas en el proceso anterior son capturadas una por una, luego son trasladadas a medio PDA y mantenidas en incubación por un mínimo de 7 días a 26°C.

Conidias

De las ascosporas obtenidas mediante el procedimiento explicado anteriormente se subcultivaron sobre medio PDA por 7 días, luego la colonia fue colocada en medio Mycophil durante 20 días en condiciones de oscuridad y 20ºC. Transcurrido de este período, el micelio es dividido, disuelto en agua Tween™ 20 (0.005%) y trasladado a un medio modificado V8 sólido (pH 6) en el cual se mantiene por 7 días bajo condiciones de luz y 26ºC.

Al final de este paso se obtienen nuevamente colonias, que fueron disueltas en agua Tween™ 20 (0.005%) y mediante

un agitador se obtuvieron soluciones conidiales que se usaron en medios sólidos.

Fuentes minerales

Fertilizantes

Todos los elementos minerales, Boro, Cobre, Zinc, Manganeso y Silicio son solubles en agua. El Silicio utilizado se encuentra en la forma de ácido monosilicico Si(OH)4 y tiene una concentración del 22%, Cobre, Zinc y Manganeso fueron usados en presentación orgánica e inorgánica.

Tratamientos

Metalosato de Cobre							
Inorgánico							
Dosis aplicadas (ppm)	0	50	500	1200	2500	5000	10000
Concentración del producto (%)	4	4	4	4	4	4	4
Volumen por concentración (ml/lt)	0	1,13	11,36	27,27	56,81	113,63	227,27
pH	6,5	5	4	3,5	3	2,5	2,5
Orgánico							
Concentración del producto (%)	16	16	16	16	16	16	16
Volumen por concentración (g/lt)	0	0,3	3,05	7,31	15,24	30,48	60,97

Metalosato de Manganeso							
Inorgánico							
Dosis aplicadas (ppm)	0	50	500	1200	2500	5000	10000
Concentración del producto (%)	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
Volumen por concentración (ml/lt)	0	0,8	8,11	19,48	40,58	81,17	162,33
pH	6,5	5	4,5	4	4	4	4
Orgánico							
Concentración del producto (%)	16,4	16,4	16,4	16,4	16,4	16,4	16,4
Volumen por concentración (g/lt)	0	0,3	3,03	7,31	15,22	30,45	60,96

Metalosato de Zinc							
Inorgánico							
Dosis aplicadas (ppm)	0	50	500	1200	2500	5000	10000
Concentración del producto (%)	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8
Volumen por concentración (ml/lt)	0	0,61	6,12	14,7	30,63	61,27	122,54
pH	6,5	6	6	5	4,5	4,5	4,5
Orgánico							
Concentración del producto (%)	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3
Volumen por concentración (g/lt)	0	0,26	2,59	6,21	12,95	25,9	51,8

Metalosato de Boro							
Inorgánico							
Dosis aplicadas (ppm)	0	50	500	1200	2500	5000	10000
Concentración del producto (%)	5	5	5	5	5	5	5
Volumen por concentración (ml/lt)	0	0,9	9,09	21,81	45,45	90,9	181,8
pH	6,5	7	7	8	8	8,5	8,5

Silicio							
Ácido monosilicico							
Dosis aplicadas (ppm)	0	50	500	1200	2500	5000	10000
Concentración del producto (%)	22	22	22	22	22	22	22
Volumen por concentración (ml/lt)	0	0,24	2,4	5,76	12,01	24,03	48,7
pH	6,5	7,5	9	9	10	10,5	10,5

3.1.2 Materiales de Laboratorio

El material de laboratorio se encuentra detallado en el ANEXO 1.

Ensayos

3.2 Efecto de micronutrientes sobre el crecimiento de colonias de *M. fijiensis*

El crecimiento de colonias de *M. fijiensis* se valoro utilizando medio de cultivo sólido en donde se realizo siembras de órganos asexual del patógeno. El protocolo de estudio se describe a continuación:

Se preparo el medio de cultivo PDA Difco®, en cantidades de acuerdo a los números de tratamientos que se planifico, en este caso fueron dosis de 0ppm, 50ppm, 500ppm, 1200ppm, 2500ppm, 5000ppm y 10000ppm, Luego se los dividió en matraces Elenmeyer y se los procedió a esterilizar en una autoclave a 121^0 C y 15 lb. /pul^2 por 25 minutos.

En la cámara de flujo laminar se le aplicaron las respectivas dosis de micro nutrientes, los mismos que fueron sometidos a una esterilización al frió por una membrana Durapore® de 0.22 um., para luego ser mezclados con el medio PDA y finalmente dispensados en las cajas Petri.

Las conidias que se sembraron fueron cuantificadas utilizando una cámara de Neubauer para conocer la concentración conidial por ml., obteniendo una concentración por ml de 7 x 10^3 conidias. Utilizando una micro pipeta de 10:100 se coloco 100 microlitros de solución conidial en cada una de las cajas y después de la inoculación con *M. fijiensis* las cajas fueron mantenidas en una incubadora a 26^0 C y en total oscuridad, por 15 días.

Parámetros a evaluar

Diámetro de colonias.- Transcurridos los primeros siete y quince días de siembra de las conidias, La medición se realizó con microscopio invertido en la primera fecha y con una regla milimétrica la segunda fecha, aunque en algunos ensayos en ambas fechas de medición se utilizó la regla milimétrica.

Porcentaje de inhibición.- Este parámetro se evaluó tomando como referencia las medidas del diámetro de las colonias, los datos fueron introducidos en tablas probit, las que arrojan el porcentaje de inhibición tomando como referencia las medidas del control

Análisis de datos

En este ensayo se realizaron 7 tratamientos, cada uno con 25 observaciones, para el análisis de estos datos se utilizó un ANOVA de una cola, pruebas de significancia como Duncan y Tukey y para la evaluación de los porcentajes de inhibición tablas Probit.

3.3 Efecto de micronutrientes sobre la regeneración de *M. fijiensis*

En este proceso se utilizó colonias sembradas en el medio liquido, se preparó medio de cultivo PDA Difco ®, en cantidades de acuerdo a los números de tratamientos planificados, se los dividió en matraces Elenmeyers dependiendo el número de

tratamientos y luego fueron esterilizados en una autoclave a 121^0 C y 15 lb. /pul^2 por 25 minutos.

Las colonias sembradas en medios con los productos evaluados fueron trasladadas desde cada frasco a las cajas con medio limpio PDA Difco ® sin fertilizante. Las cajas se mantuvieron en una incubadora a 26^0 C, en total oscuridad y por 15 días.

Parámetros a evaluar

Prendimiento de micelio.- Una vez evaluado el crecimiento miceliar, se procedió monitorear el prendimiento de las mismas en medios libres de productos. Usando un bisturí se retiró una parte del micelio de cada repetición de las diferentes dosis y se las ubicó en las cajas con medio PDA limpio, donde no se ha aplicado producto. Se evaluó a los siete y a los quince días el crecimiento, y la medición se realizó con una regla milimétrica.

Análisis de datos

En este ensayo se realizó 6 tratamientos y 5 observaciones, utilizando el Diseño completamente al azar DCA, para el análisis de los datos se obtuvo la desviación estándar, error estándar y por medio de tablas de porcentaje se expresó el grado de regeneración del hongo.

3.4 Efecto de micronutrientes sobre la biomasa hifal de *M. fijiensis*

El crecimiento de micelio de *M. fijiensis* se valoró utilizando medio de cultivo líquido en donde se realizó siembras de órganos asexual del patógeno. El protocolo de evaluación se describe a continuación:

El medio de cultivo utilizado fue PD-V8 modificado, después que se preparó el medio líquido se lo dividió en Elenmeyer según el número de tratamientos que se realizó, siendo luego esterilizados en un autoclave a 121^0 C y 15 lb/pul^2 por 25 minutos.

Se esterilizó al frió los micro nutrientes con una membrana Durapore® de 0.22 um., luego fueron mezclados con el medio

liquido y finalmente se dispensó 50ml en frascos de vidrio previamente lavados y esterilizados.

Se seleccionó colonias limpias de *M. fijiensis* y con el bisturí fueron cortadas y trasladadas al medio liquido, una vez que se realizó la inoculación por tratamiento se los mantuvo en inoculación por 15 días utilizando una zaranda New Brunswick a 140 r.p.m.

Parámetro a evaluar

Peso de micelio.- Transcurridos 15 días a partir de la siembra, se filtró el micelio de cada Erlenmeyer en papel filtro estéril previamente pesado, luego se registró su peso a las 24 horas (peso húmedo) y a los 5 días (peso seco).

Análisis de datos

En este ensayo se realizaron 6 tratamientos con 5 observaciones en cada uno, utilizando el Diseño completamente al azar, DCA, para realizar el análisis de los datos se trabajó con los promedios del peso seco de cada

tratamiento y se obtuvo la desviación estándar y el error estándar presentados en figuras de barras.

3.5 Efecto sobre la germinación de ascosporas de *M. fijiensis*

En este ensayo se evaluó el crecimiento de ascosporas y para su evaluación a continuación se detalla el protocolo:

De campo se seleccionó hojas enfermas con *M. fijiensis* y se las trasladó al laboratorio, con ayuda del stereo-microscopio se escogió los pedazos de hoja donde se observó mayor presencia del hongo, Se procedió a limpiar el envés de la hoja con un algodón empapado de agua destilada y se recortó los pedazos de hojas en partes más pequeñas, de 2 x 3 cm. aproximadamente y se los grapó en papel filtro.

En una caja de plástico se preparó una cámara húmeda colocando algodón en la base empapado con agua destilada, donde se colocó los papeles con las hojas en la caja con algodón y se la tapó. La cámara húmeda por 48 horas. Aparte se preparó medio agar - agua y se esterilizo en autoclave a

121^0 C y 15 lb/pul^2 por 25 minutos. En la cámara de flujo laminar se le añadió al medio las concentraciones de cada micro nutriente en las respectivas dosis siendo esterilizado al frió con una membrana Durapore® de 0.22 um. y se lo dispensó en cajas Petri.

Pasadas 48 horas se colocó los papeles en la tapa de la caja Petri, teniendo en cuenta que las hojas se encuentren hacia abajo y no toquen el medio, el papel permaneció así por 2 horas, luego de transcurrido el tiempo mencionado se retiró el papel y las cajas fueron mantenidas en una incubadora a 26^0 C y en total oscuridad, por 48 horas más, luego de ese tiempo se las retiró de la incubadora y se evaluó la germinación de las ascosporas

Parámetro a evaluar

Germinación del tubo de crecimiento.- A los tres días de inoculados las tratamientos, y utilizando el microscopio invertido, se evaluó un numero total de 50 ascosporas por cada tratamiento. En Las ascosporas seleccionadas se midió el crecimiento de uno de los tubos y para poder ser medidas, se

tomó en cuenta el tubo germinativo más largo . Además se reporto la no germinación (NG)

Análisis de datos

En este ensayo se realizaron 7 tratamientos con 50 observaciones utilizando el Diseño completamente al azar DCA, para el análisis de los datos se utilizó tablas probit y trabajando con los promedios se realizó ANOVA de una cola y pruebas de significancia como Duncan y Tukey.

CAPITULO 4

4. ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de micronutrientes sobre el crecimiento de colonias de *M. fijiensis*.

i. Metalosatos Inorgánicos

Las aplicaciones de Zinc en dosis de 50ppm muestran un mínimo crecimiento a los 7 días, pero su efecto disminuyó completamente a los 15 días. Las dosis 500, 1200, 2500, 5000 y 10000ppm no se observó crecimiento (figura 1).

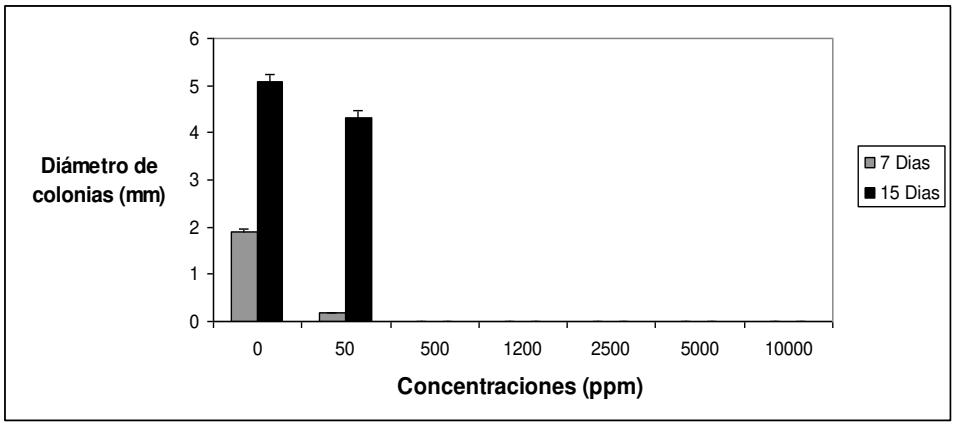

Figura 1. Diámetro de las colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Zinc.

En la figura 2 se aprecia que el rango de crecimiento del diámetro de las colonias a los 7 días mantiene una relación decreciente con referencia a las dosis. En la segunda evaluación los diámetros se encontraron entre los 3.5 y 4.5mm continuando con la tendencia decreciente presentada a los 7 días. En las dosis 2500, 5000 y 10000ppm no se observó ningún crecimiento.

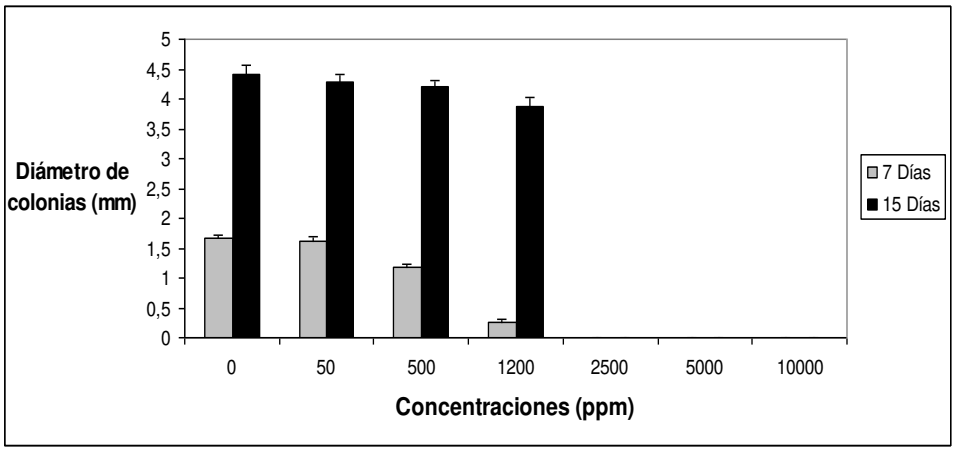

Figura 2. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Boro.

En Cobre se observa que el producto ha inhibido completamente en todas las dosis, tal como lo muestra la figura 3, ya que solo en el control se presentó crecimiento de las colonias.

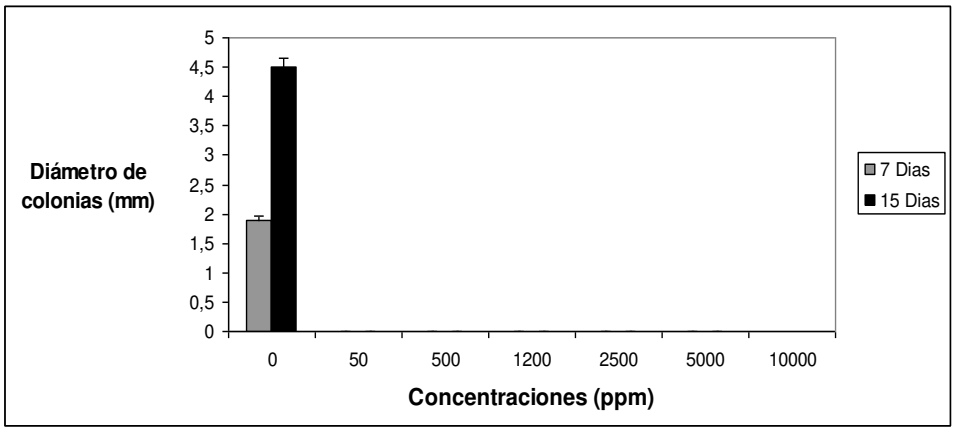

Figura 3. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Cobre.

En la figura 4 se nota que la relación decreciente entre el desarrollo del diámetro de colonias y las dosis se mantiene tanto a los 7 como a los 15 días. En las dosis 1200 y 2500ppm no se observó desarrollo de colonias solo hasta la segunda evaluación. En las dosis altas (5000 y 10000ppm) no se presentó crecimiento en ninguna de las evaluaciones.

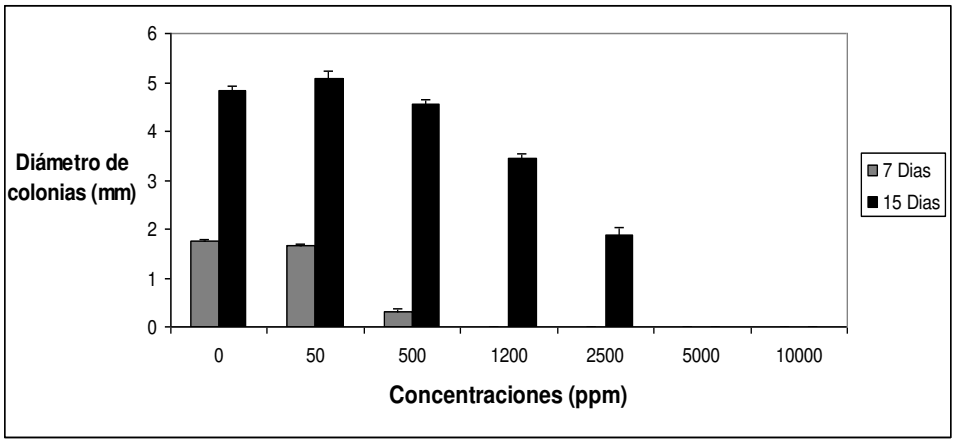

Figura 4. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días en presencia de diferentes dosis de Manganeso.

ii. Metalosatos Orgánicos

Tabla 1. Inhibición (%) del crecimiento de colonias de *m. fijiensis* en presencia de diferentes concentraciones de micronutrientes en forma de metalosatos orgánicos.

	% de Inhibición		
Concentraciones (ppm)	**Zinc**	**Cobre**	**Manganeso**
50	8,3 c	100 a	5,8 c
500	71,7 b	100 a	16,5 c
1200	100 a	100 a	17,9 c
2500	100 a	100 a	68,2 b
5000	100 a	100 a	92,2 a
10000	100 a	100 a	97,4 a

Los promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, prueba de Duncan (p=0,05) (n=349) y un C. V. de 10.8%

En la tabla se observa que en Zinc existió diferencia significativa entre algunas de sus dosis, pero en las dosis de 1200, 2500, 5000 y 10000ppm la inhibición del patógeno fue total, mientras que entre las de 50 y 500ppm el margen de diferencia es mayor al 60%.

En Cobre no se apreció diferencia entre ninguna de las dosis, todas presentaron un 100% de inhibición.

Con el uso de Manganeso no existió inhibición total en ninguna concentración siendo las dosis con mejores resultados las dosis altas de 5000 y 10000ppm sobrepasando el 90% de inhibición.

iii. Silicio

En el caso de Silicio, debido a que no se lo aplico en forma de metalosato sino en forma de ácido monosilicico al 22% se analizaran los resultados de manera independiente.

En la evaluación realizada a los 7 días luego de la aplicación de Silicio, se observó que la disminución del diámetro de las colonias no fue proporcional en las dosis de 500 y 1200ppm; mientras que, a los 15 días se muestra un menor crecimiento de la colonia versus la concentración, manteniendo su relación decreciente. En la dosis de 2500ppm se presentó crecimiento solo en la segunda evaluación. Notándose un crecimiento nulo en las dosis de 5000 y 10000ppm (figura 5).

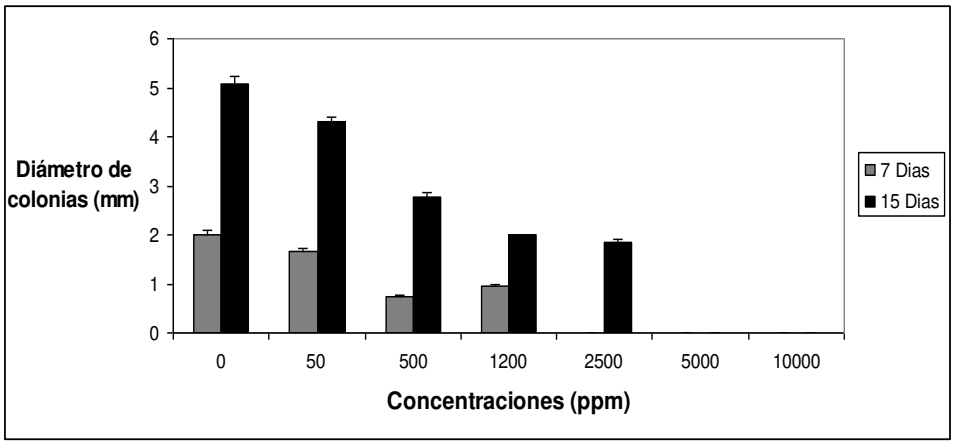

Figura 5. Diámetro de colonias (mm) en evaluaciones realizadas a los 7 y 15 días ante diferentes dosis de Silicio.

4.2 Efecto de micronutrientes sobre la regeneración de *M. fijiensis*

i. Metalosatos inorgánicos y Silicio

En la figura 6, se observan los porcentajes de regeneración que presentó cada elemento luego de haber sido cambiado el micelio de medio contaminado con producto a un medio libre de producto.

Cobre presentó un 33.3% de regeneración, siendo este el elemento con menor porcentaje de regeneración. Boro y Silicio mostraron ambos un 66.6% y Manganeso un 83.3%. En el caso de Zinc se apreció que su regeneración fue de un 100%, advirtiendo así su efecto fungistático.

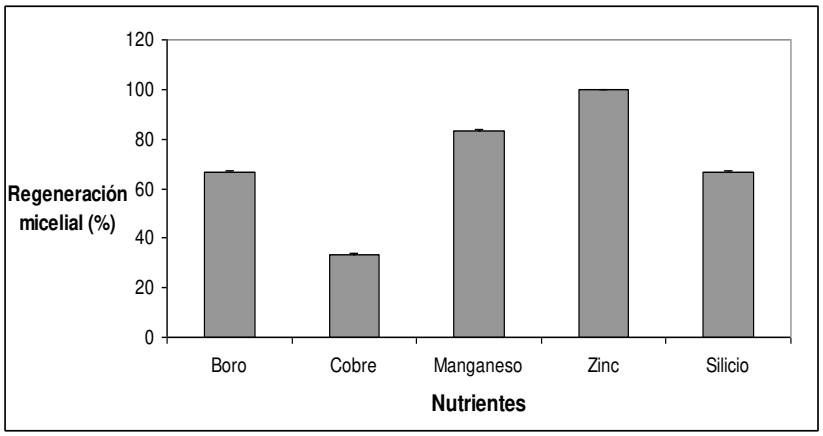

Figura 6. Porcentaje de regeneración de *M. fijiensis,* ante la aplicación de micro elementos en presentación inorgánica y Silicio.

ii. Metalosatos inorgánicos

En la figura 7 se observa que igual que en la figura 6 los porcentajes de regeneración de Cobre Zinc se mantuvieron constantes tanto en la presentación orgánica como la inorgánica. En el caso de Manganeso se nota que su porcentaje de regeneración pasó de un 83.3% en su presentación inorgánica a un 100% en su presentación orgánica.

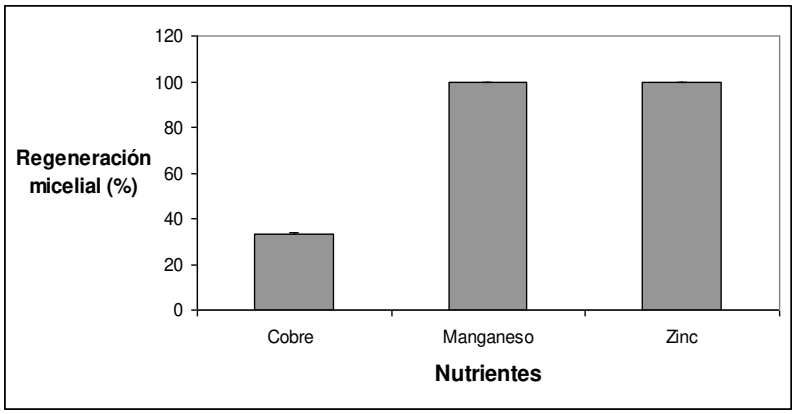

Figura 7. Porcentaje de regeneración de *M. fijiensis,* ante la aplicación de micro elementos en presentación orgánica.

4.3 Efecto de micronutrientes sobre la biomasa hifal de *M. fijiensis.*

i. Metalosatos inorgánicos

En Zinc se puede apreciar la relación decreciente entre el peso del micelio y las dosis, manteniendo un peso entre los 3.5 a 1.5g. En las dosis 2500 y 5000ppm no se presentó desarrollo micelial (figura 8).

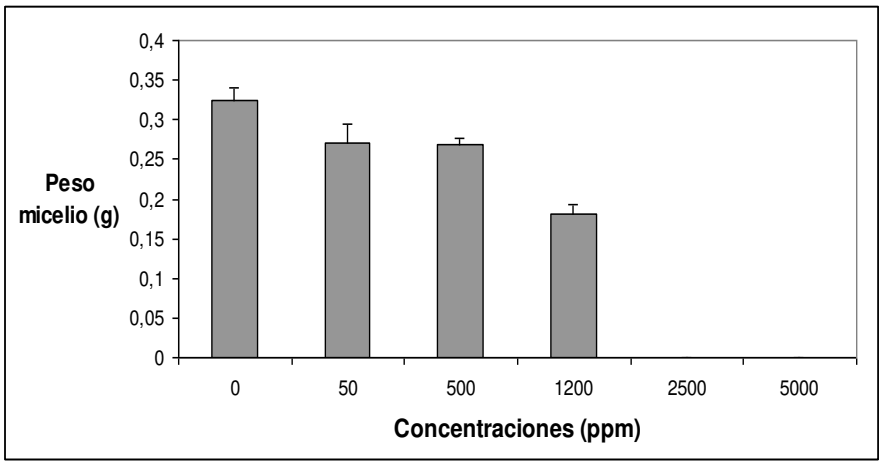

Figura 8. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Zinc.

En el caso de Boro se distingue que en las dosis donde se presentó crecimiento micelial, se mantiene la misma tendencia decreciente que en Zinc. En 1200, 2500 y 5000ppm no hubo crecimiento de micelio tal como se muestra en la figura 9.

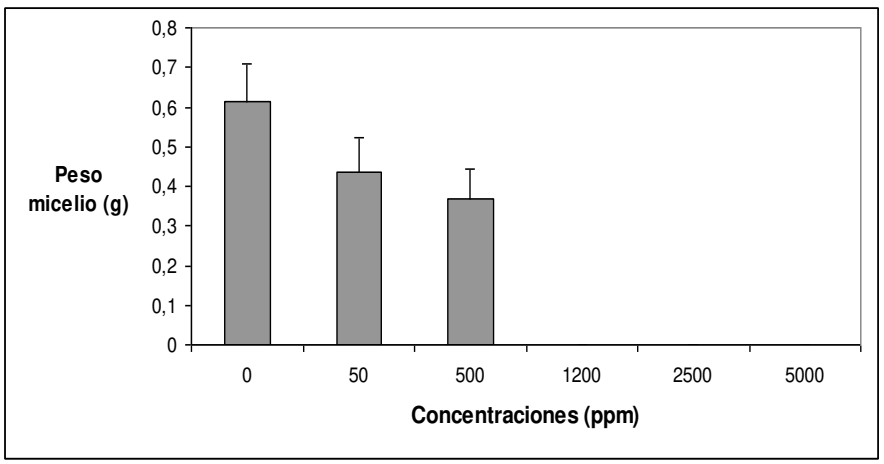

Figura 9. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Boro.

En la figura 10 se observa que ante las aplicaciones de Cobre la única dosis donde se presento crecimiento fue en la dosis de 50ppm. En 500, 1200, 2500 y 5000ppm el desarrollo fue nulo.

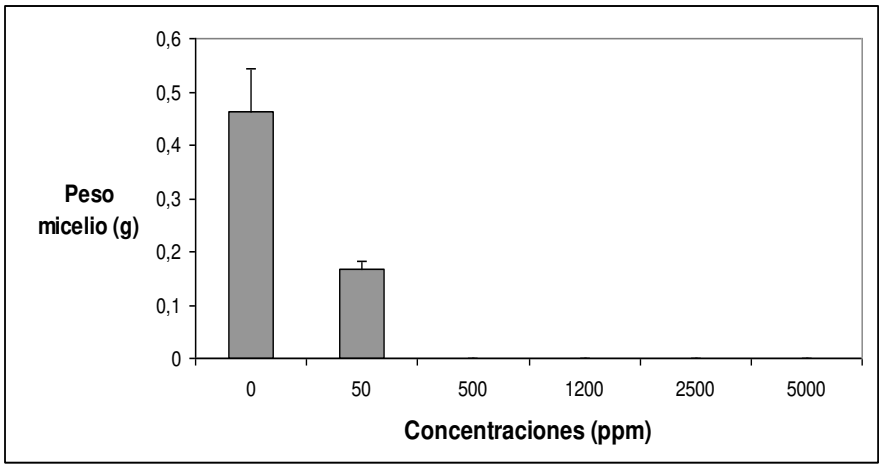

Figura 10. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Cobre.

Como se muestra en el caso de Manganeso, el crecimiento micelial en las dosis de 50, 500 y 1200ppm se mantuvo entre 1 a 0.5g manteniéndose su característica decreciente con respecto a las concentraciones. En 2500 y 5000ppm no existió desarrollo del micelio (figura 11).

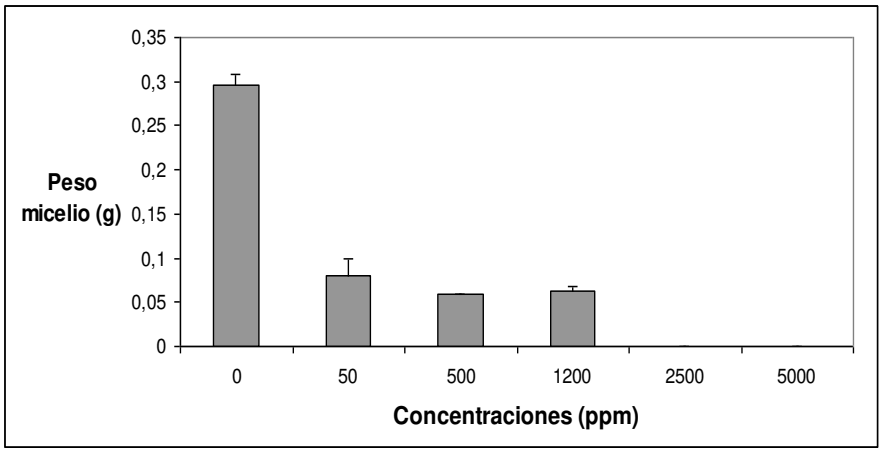

Figura 11. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Manganeso

ii. Metalosatos orgánicos

En las figuras 12, 13 y 14 se muestra los resultados del desarrollo de micelio para las presentaciones orgánicas de Manganeso, Zinc y Cobre respectivamente.

En Manganeso y Zinc, presentaron crecimiento hasta las 500ppm; mientras que, en presencia de Cobre hasta las 50ppm. En todos los elementos se mantiene el modelo decreciente del experimento.

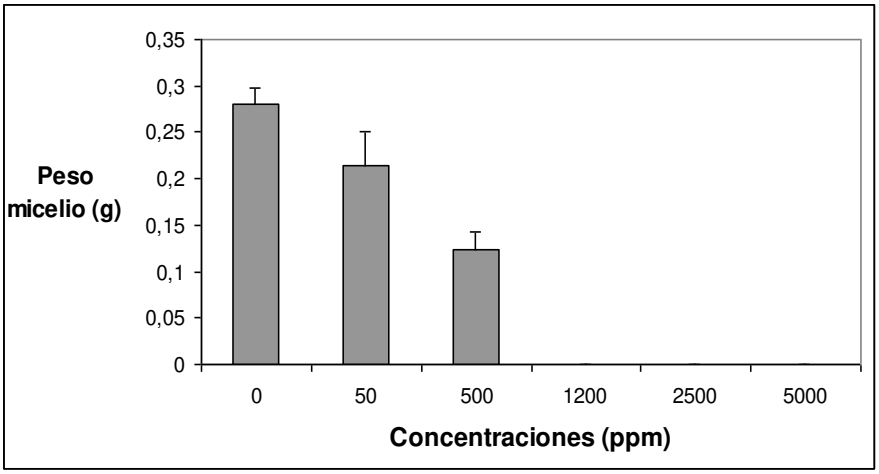

Figura 12. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Manganeso en presentación orgánica

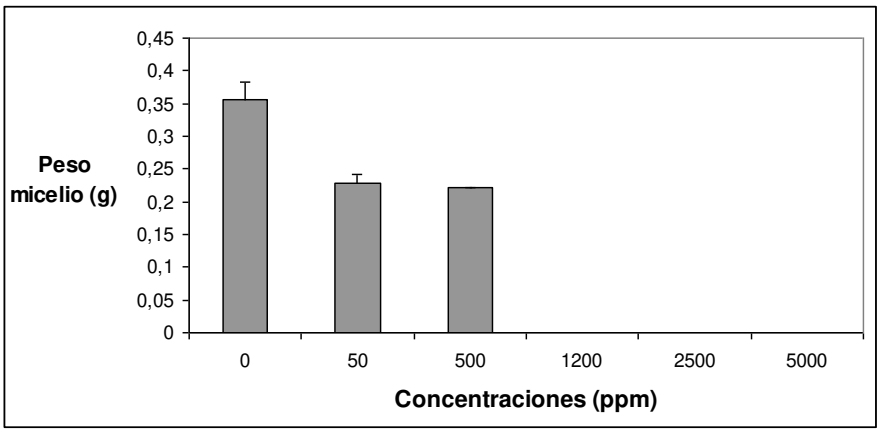

Figura 13. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Zinc en presentación orgánica

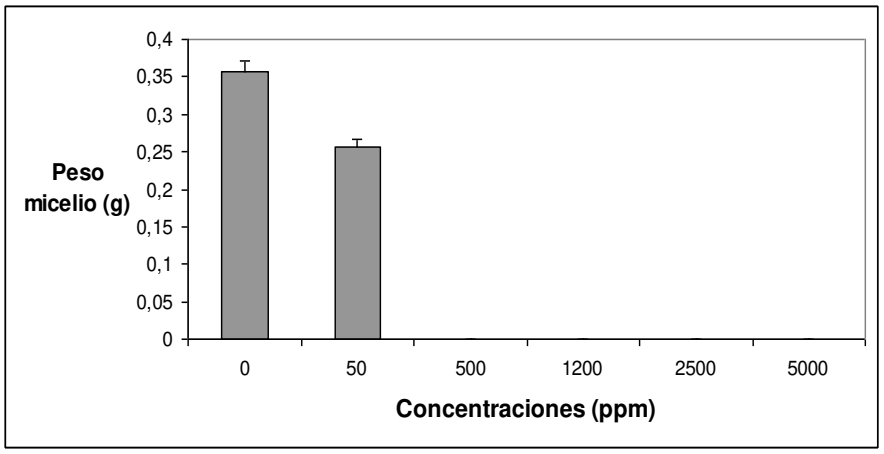

Figura 14. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Cobre en presentación orgánica

iii. Silicio

En el caso de Silicio se aprecia que el peso del micelio disminuye a medida que las concentraciones aumentan. En 1200, 2500 y 5000ppm no se presentó crecimiento micelial tal como se muestra en la figura 15.

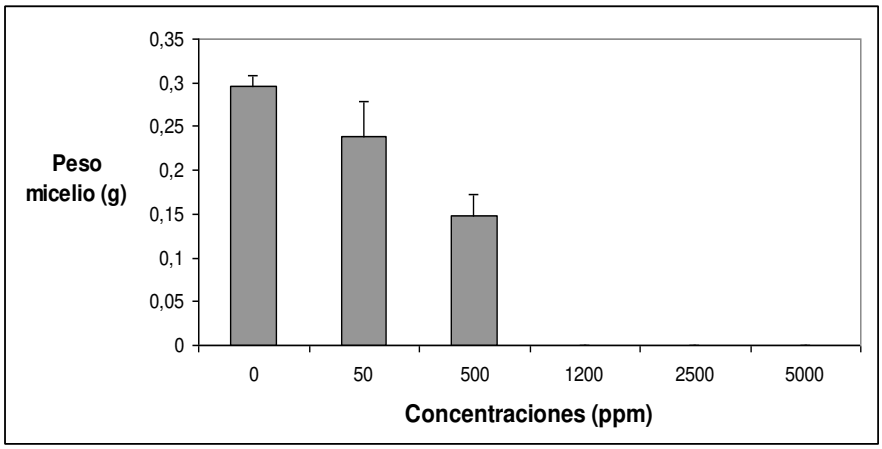

Figura 15. Peso del micelio (g) evaluado a los 15 días ante la presencia de diferentes dosis de Silicio.

4.4 Efecto sobre la germinación de ascosporas de *M. fijiensis*.

i. Metalosatos inorgánicos

Tabla 2. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de metalosatos inorgánicos en diferentes dosis

	Longitud de tubo germinativo			
Concentración (ppm)	Cobre	Boro	Manganeso	Zinc
50	0 a	27.1 b	17.0 b	10.4 e
500	0 a	0 a	0 a	6.6 d
1200	0 a	0 a	0 a	3.1 c
2500	0 a	0 a	0 a	1.4 b
5000	0 a	0 a	0 a	0 a
10000	0 a	0 a	0 a	0 a

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, prueba de Duncan (p=0.05) (n=1399). C.V. 8.26%

En Cobre se observó que todas sus concentraciones son estadísticamente iguales. En el caso de Boro y Manganeso la dosis de 50ppm, es la única que muestra una diferencia significativa con el resto. Zinc mostró que entre las dosis 5000 y 10000ppm no existieron diferencias estadísticas significativas; mientras que, las demás dosis son todas diferentes entre sí.

ii. Metalosatos orgánicos

Tabla 3. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de metalosatos orgánicos en diferentes dosis

	Longitud de tubo germinativo		
Concentraciones (ppm)	**Cobre**	**Zinc**	**Manganeso**
50	0 a	6.6 d	12.9 c
500	0 a	3.3 c	10.7 b
1200	0 a	2.5 bc	0 a
2500	0 a	1.9 b	0 a
5000	0 a	1.6 b	0 a
10000	0 a	0 a	0 a

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, prueba de Duncan (p=0.05) (n=1049). C.V. 7.02%

Al igual que la tabla 2 Cobre no presentó diferencia estadística entre ninguna de sus dosis. En el caso de Zinc se muestra que el tratamiento más efectivo fue el de la dosis 10000ppm y entre el

resto de dosis existe un promedio de longitud del tubo germinativo menor a 10. En Manganeso se presentaron diferencias estadísticas entre todas las dosis donde existió crecimiento del tubo germinativo.

iii. Silicio

Tabla 4. Crecimiento del tubo germinativo de ascosporas ante la presencia de Silicio

Longitud de tubo germinativo		
Concentración (ppm)	**Silicio**	
50	6.0	d
500	3.9	c
1200	2.9	bc
2500	1.7	b
5000	1.7	b
10000	0	a

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente, prueba de Duncan (p=0.05) (n=349) C.V. 8.36%

En Silicio los datos reflejan que el mejor tratamiento fue el de la concentración de 10000ppm, mientras que en las dosis de 2500 y 5000ppm se obtuvieron resultados iguales, en las dosis menores existen diferencias significativas.

Discusión

En estudios realizados por Duffy y Defago, (1997) en el cultivo de tomate se demostró que el Zinc y el Cobre EDTA disminuyeron los daños causados por *Fusarium oxysporum*, estos estudios ayudan a confirmar que la acción de estos micro elementos es valida también en banano ante la presencia del patógeno causante de la Sigatoka negra.

Según estudios hechos por Ruiz, García, Rivero y Romero en 1999, se observó que el Boro unido a fungicidas brinda un mecanismo adicional de tolerancia a la infección de patógenos, gracias a sus estudios se puede corroborar los resultados obtenidos en los ensayos realizados en banano.

Fawe, Abou-Zaid, Menzies y Belanger (1998) demostraron que la aplicación de Silicio en pepino provoca un incremento en la resistencia al mildeu polvoriento, en el cultivo de arroz también mostró resistencia al ataque de enfermedades. De esta manera se ratifica los beneficios que brinda Silicio al cultivo de banano en especial en la lucha contra los ataques de *M. fijiensis*.

CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. Conclusiones

Los resultados de la presente investigación nos permiten concluir lo siguiente:

1. El efecto de los productos tanto de características orgánicas como inorgánica fue variable.

2. El Cobre en presentación orgánica e inorgánica obtuvo los mejores resultados en todos los ensayos y su efecto fungicida

permitió que el hongo no se regenerase luego de sacarlo del medio contaminado.

3. Los órganos estudiados mostraron una respuesta diferenciada en cada uno de los productos y sus dosis.

4. Silicio mostró una acción favorable en la inhibición del crecimiento y desarrollo del hongo en todos los órganos de *M. fijiensis*.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda continuar con la realización de estos ensayos, a nivel de invernadero para evaluar la relación planta-patógeno ante la aplicación de estos productos y conocer sus efectos a través del uso de microscopia.

- Deben realizarse ensayos en Cobre con dosis menores a 50 ppm para obtener una dosis más exacta que permita un control efectivo del hongo.

BIBLIOGRAFÍA

1. AEBE, 2007. Asociación de Exportadores de banano del Ecuador. Disponible en: http://www.aebe.com.ec . Visitada el 4 de Agosto del 2007

2. Agrios, G. 1997. Fitopatologia. 4ta ed. Mexico. Editorial Limusa S.A. 838pp.

3. Agronotas, 2001. Situación actual del banano en el trópico. Disponible en: www.dupont-agricola.com . Visitada el 25 de Agosto del 2007.

4. Aguilar, E.;Turner, D.; Sivasithamparam, K. 2000. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* inoculation and hypoxia alter peroxidase and phenylalanine ammonia lyase enzyme activities in nodal roots of banana cultivars (*Musa* sp.) differing in their susceptibility to Fusarium wilt. Australian Journal of Botany 48:589–596.

5. Ahmed, S.; Evans, H. 1960. Cobalt: A micronutrient for the growth of soybean plants under symbiotic conditions. Soil Sci. 90: 205-210.

6. Alten, F.; Orth, H. 1941. Untersuchugen uber den aminosaurengealt und die anfallegkeit der kartoffelgegen die Kraut und knollenfaule (*Phytophthora infestans*) Phytopathol. Z. 13:243-271.

7. Arce, J. 1991. Effectiveness of three different Zn fertilizers and two methods of application for the control of “little leaf” in peach trees in South Texas. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 23: 1945-1962.

8. Arciniegas A.; Riveros, A.; Loaiza, J. 2002. Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo *In vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. Colombia. 242pp

9. Barker, A.; Pilbeam, D. 2007. Handbook of plant nutrition. Taylor and Francis Group. Boca Raton. 613pp

10. BCE, 2000; Banco Central del Ecuador (BCE), 2002. Informe anual. Ecuador

11. Belalcázar C.; Merchán V.; Mayorga, M. 1991. El cultivo del plátano (Musa AAB Simmonds) en el trópico. ICA, Manual de Asistencia Técnica No. 50. Cali, Colombia. 376pp.

12. Bennett, W. 1993. Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. APS Press. St. Paul, MN.

13. Bertrand, D.; De Wolf, A. 1967. Nickel: a dynamic trace element for higher plants. C R Academic Sci. 265: 1053-1055

14. Bielesky, R. 1973. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Ann. Rev. Plant Physiology. 24: 225, 252

15. Bould, C.; Hewitt, E.; Needhan, P. 1983. Diagnosis of mineral disorders in higher plants. Volume I. Principles London: Her Majesty´s Stationery Office.

16. Brennan, R.; Bolland, M. 2003. Comparing cooper requirements for fava bean, chickpea and lentil with spring wheat. J. Plant Nutrition. 26: 883 – 899.

17. Bromfield, S.; Cumming, R.; David, D.; Williams, C. 1983. Change in soil pH, manganese and aluminum under subterranean clover pasture. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb 23: 181-191.

18. Brown, J.; Jones, W. 1971. Differential transport of Boron in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Physiol Plant 25:279–282.

19. Brown, P.; Welch, M.; Cary, E. 1987. Nickel, a micronutrient essential for higher plants. Plant Physiol. 85:801–803

20. Chang, J. 2000. Efectos de la dolarización en el costo de producción de banano en el Ecuador. ACORBAT – Ecuador. 6pp

21. Cherf, M.; Menzies, J.; Ehret, D.; Bopgdanoff, C.; Belanger, R. 1994. Yield of cucumber infected with *Pythium aphanidermatum* when grown with soluble silicon. Hortscience 29: 896 - 897

22. CIBE, 2000. Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. Preliminary studies of *Mycosphaerella fijiensis* from Ecuador. IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, Cuba. Poster.

23. Clarkson, D.; Hanson, J. 1980. The mineral nutrition for higher plants. Annual review of Plant Physiology 31: 239-298.

24. Coleno, A. 1987. Role fungicide du soufre. Proc. Int. Symp.Elemental Sulphur Agric. 1:31-37.

25. Cooz, R.; Chávez, L. 1992. Informe Técnico sobre la situación actual de la sigatoka negra en el sur del Lago de Maracaibo. UNISUR - FONAIAP Chama, Venezuela: p1-10.

26. Duffy, B.; Défago, G. 1997. Zinc improves biocontrol of Fusarium crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorenses* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. Disponible en: www.path.ethz.ch/docs/publications/90er/1997/1997/_duffy_1. Visitado el 15 de Agosto del 2007.

27. Duger, W. 1983. Boron in plant metabolism. *In*: Encyclopedia of Plant physiology, new series, New York: Spriger p 626 – 650.

28. EMBL- EBI, 2007. The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), which is part of the European Molecular Biology Laboratory. Disponible

en: http://www.ebi.ac.uk/Information/About_EBI/about_ebi.html#intro. Visitada el 20 de Agosto del 2007.

29. Engel, R.; Bruckner, P.; Mathre, E.; Brumfield, S. 1997. A chloride deficient leaf spot of durum wheat. Soil. Sci. Soc. Am. J. 61: 176 – 184.

30. Engvild, K. 1986. Chlorine-containing natural compounds in higher plants. Phytochemistry 25: 781-791.

31. Epsein, E. 2000. The discovery of the essential elements. *In:* Plant Biology, v. 3. Kugs, S; Yang, S (Eds). World Scientific, Singapore. p1-16.

32. Epsein, E. 2001. Silicon in plants: Facts and concepts. *In:* Silicon in agriculture. Datnoff. L; Snyder, G; Korndorfer, G. (Editors). Elsevier Science. B.V. Amsterdam, The Netherlands. Ch 1. p1 – 10.

33. Epsein, E.; Bloom, A. 2004. Mineral nutrition of plants. Sunderland: Sinauer Associates Ed. p58 – 65

34. Eskew, D.; Welch, R.; Norvell, W. 1983. Nickel: An essential micronutrient for legumes and possible higher plants. Science 222: 621 – 623.

35. Evans, H.; Wildes, R. 1971. Potassium and its role in enzyme activation. *In*: Potassium in Biochemistry and physiology. 8° Colloquium of the International Potash Institute. International Potash Institute, Bern p13-39.

36. Fawe, A.; Abou-Zaid, M.; Menzies, J.; Belanger, R. 1998 – Silicon mediated accumulation of flavonoid phyloalexins in Cucumber. Phytopathology 88: 396–401.

37. Fixen, P. 1993. Crop responses to chloride. Adv. Argon 50: 107-150.

38. Flor, H. 1971. Currents status of the gene-for-gene concept. Annu. Rev. of Phytopathology 9: 275-296.

39. Flowers, T.; Lauchli, A. 1983. Sodium versus Potassium substitution and compartmentation. *In*: Inorganic Plant nutrition. Heidelberg, Berlin: Springer, p651- 681.

40. Fouré, E. 1987. Varietal reactions of banana and platains to back leaf steak disease. Canberra, Australia, p110-113.

41. Fouré, E.; Moulioum, P. ; Mourichon, X. 1990. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et des plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Cameroun. Caractérisation de la résistance au champ des bananiers appartenant à divers groupes génétiques. Fruits 45:339-345.

42. Fouré, E.; Morceau, A. 1992. Contribution a l´étude épidémiologique de la cercosporiose noire dans la zone de Moungo au Cameroon de 1987 á 1989. Fruits 47 p3-16.

43. Fraústo, J.; Williams, R. 1993. The biological chemistry of the elements. The inorganic chemistry of life. Clarendon Press. Oxford.

44. García, E.; Apezteguia, H. 2001. Estudio del lixiviado de compost y su efecto sobre el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y el crecimiento del cultivo de banano (Musa AAA). 41pp

45. Gauhl, F. 1989. Epidemiology and ecology of Black Sigatoka on plantain and banana (Musa spp.) in Costa Rica, Centroamérica. Ph D. Thesis of Systematisch – Geobotanische- Institutder Georg - August-Universität

Göttingen and Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenchutz der Georg - August-Universität Göttingen.

46. Gauhl, F. 1994. Epidemiology and Ecology of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morlet) on Plantain and Banana (*Musa* spp.) in Costa Rica, Central America. 120pp.

47. Graham, R.; Weeb, M. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. *In:* Micronutrients in agriculture. Ed. by Welch, R. 2nd Edition. Soil Sci. Soc. America, Madison, WI. p329 – 370.

48. Grundon, N; Robson, A; Lambert, M; Snowball, K. 1997. Nutrient deficiency and toxicity symptoms. Vic.:CSIRO Publishing. p37 – 51.

49. Heckman, J. 1989. Corn and soybean tissue water content, Nutrient accumulation. Yield and growth pattern responses to potassium and chloride fertility differences. Ph.D. Dissertation. North Carolina State University, Raleigh. NC.

50. Hell, R. 1997. Molecular physiology of plant sulfur metabolism. Planta 2002: 138-148.

51. Hernández, R. 1989. Nutrición Mineral. Facultad de Ciencias Forestales. ULA. Mérida 81pp.

52. Hewitt, E.; Smith, T. 1975. Plant mineral nutrition. London: The English University Press. p16

53. Higuera, M. 2005. Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal. Orius Biotecnología documentos técnicos. Disponible en: http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index. Visitado el 1 de Octubre del 2007.

54. Huber, D. 1989. The rol of nutrition in the take-all disease of wheat and other small grains. Ed. American Phytopathological Society. St. Paul. Minn. p46 – 74.

55. INIBAP, ICA, CIID, Comité Departamental de Cafeteros del Quindío: 1991. 376 pp.

56. IPNI, 2007. Internacional Plant Nutrition Institute. Nutrición y fertilización del Banano. Disponible en: http://www.ppi-ppic.org. Visitada el 15 de Agosto del 2007.

57. Jácome, L.; Schuh, W.; Stevenson, R. 1991. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Micosphaerella fijiensis*. Phytopathology 81, p1480-1485.

58. James, J. 1993. Efforts by industry to improve the environmental safely of pesticides. Annual Review of Phytophatology, 31: 423–439.

59. JH Biotech, 2007. Chelation and mineral nutrition. Disponible en: http://www.jhbiotech.com/plant_products/chelation.htm Visitado el 16 de Agosto del 2007.

60. Johnson, R. 1984. A critical analysis of durable resistance. Annual Review of Phytophatology, 22:309 – 330.

61. Jones, D. 1994. Banana Disease Surveys oh Thailand, 26 August- 10 September 1994. Report to INIBAP, Montpellier, France p9.

62. Jones, D. 2000. Disease of Banana, Abaca and Ensete. D. Jones ed. CAB International, Wallingford Uk, 544pp.

63. Kabata, A.; Pendias, H. 1992. Trace elements in soil plants, 2nd ed, Boca Raton, Fl. CRC, press.

64. Kannan, S.; Ramani, S. 1978. Studies on molybdenum absorption and transport in bean and rice. Plant Physiol. 62:179-181.

65. Klein, H. 1961. Effects of fungicides, oil, and fungicide-oil-water emulsions on development of *Cercospora* leaf spot of bananas in the field. Phytopathology 51: 294-297.

66. Klikocka, H.; Haneklaus, S.; Boelm, E.; Schnug, E. 2005. Influence of Sulfur fertilization on infection of potato tubers with *Rhizoctonia solani* and Streptomyces scabies. J. Plant Nutr. 28:819-833.

67. Lahav, E.; Turner, D. 1992. Fertilización del banano para rendimientos altos. Segunda ed. Boletin N.°7. Instituto de la Potasa y el Fósforo. Quito, Ecuador. 71pp.

68. Lawrence, E.; Wade, H.; Huber, D. 2007. Mineral nutrition and plant disease. Ed. American Phytopathological Society. St. Paul. Minn. p46 – 54.

69. Leonard, K. 1984. Population genetics of gene for gene interaction between plant host resistance and pathogen virulence. Oxford and IBH Publ. Co. p 131-148.

70. Lepoivre, P.; Busogoro, J.; Etame, J.; El Hadrami, A.; Carlier, J.; Harelimana, G.; Mourichon, X.; Panis, B.; Riveros, A.; Sallé, G.; Strosse, H.; Swennen, R. 2003. Banana *Micosphaerella fijiensis* interaction. *In*: Micosphaerella leaf spot disease of banana. San Jose, Costa Rica. p151-159.

71. Liberato J.; Gasparotto L. 2006. Moko disease of banana *(Ralstonia solanacearum).* Pest and Diseases Image Library. Disponible en: http://www.padil.gov.au. Visitado el 2 de Agosto del 2007.

72. Lindhauer, M.; Haeder, H.; Beringer, H. 1990. Osmotic potential and solute concentrations in sugar beet plants cultivated whit varying potassio/sodium ratios. Zh. Pflans. Boden 153: 25-32.

73. Ma, J.; Miyaki, Y.; Takahashi, E. 2001. Silicon as a beneficial element for crop plants. *In*: Silicon in agriculture. Datnoff. L; Snyder, G; Korndorfer, G. (Editors). Elsevier Science. B.V. Amsterdam p4 – 17.

74. Marin, D.; Romero, R. 1992. El combate de la Sigatka negra. Boletín N°4, departamento de investigación. CORBANA. Costa Rica. 22pp.

75. Martillo, E.; Solano, P. 2003. Situación de la Sigatoka en el Ecuador. *In*: Taller del manejo alternativo de Sigatoka negra, nemátodos y otras plagas asociadas al cultivo de musáceas en el trópico. Guayaquil, Ecuador. p13

76. Matoh, T.; Kobayashi, M. 1998. Boron and Calcium, essential inorganic constituent of peptic polysaccharides in higher plant cell walls. Journal of Plant research 111: 179-190.

77. Mengel, K.; Kirkby, E. 1982. Principles of Plant Nutrition. Third Edition. International Potash Institute. Bern, Switzerland.

78. Mendel, R.; Schwarz, G. 1999. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. Crit. Rev. Plant Sci 18: 33 – 69.

79. Meredith, D. 1970. Banana leaf sport disease (sigatoka) caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. Conmonwealt Mycological Institute Kew, Surrey, England. 147pp.

80. Mobambo, K.; Gauhl, F.; Vuylsteke, D.; Ortiz R.; Pasberg-Gauhl, C.; Swennen, R. 1993. Campo Yield loss in plantain from black Sigatoka leaf spot and field performance of resistand hybrids. Field Crops. Res 35, p35-42.

81. Muler, J.; Stover, R. 1976. Micosphaerella species causing banana leaf spot. Transactions of the British mycological society 67 p77- 82.

82. Nami Kartal, S., Won-Joung, H., Katsumi, S. and Yuji I. 2006. Laboratory evaluation of boron-containing quaternary ammonia compound, didecyl dimethyl ammonium tetrafluoroborate (DBF) for control of decay and termite attack and fungal staining of wood. Holz als Roh-und Wirkstoff 64: 62-67.

83. Ng, C.; McAinsh, M.; Gray, E.; Hunt, L.; Leckie, C.; Mills, L.; Hetherington, A. 2001. Calcium – Based signalling system in guard cells. New Phytologist: 151: 109-120.

84. Nightingale, G.; Addoms, R.; Robbins, W.; Shermerhorn. 1981. Effects of calcium deficiency on nitrate absorption and on metabolism of tomato. Plant Physiology. 6: 605.

85. Orozco, M. 1998. Manejo integrado de la sigatoka negra del plátano. SAGAR, INIFAP, CIPAC. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. Folleto técnico No. 1, p95.

86. Páez R. 1996. El Moko del plátano. Manizales : Universidad de Caldas. Tesis (M.Sc.). 44 p.

87. Palomaki, V. 1995. Effects of magnesium deficiency on needle ultra structure ad growth of Scots pine seedlings. Can. J. Forest Res. 25: 1806-1814.

88. Patiño, L. 2001. Efecto de una fuente de energía, tres inductores de resistencia y un sustrato foliar sobre Sigatoka negra en banano. Tesis Mag. Sc. Biblioteca ORTON-CATIE, Turrialba, Costa Rica, 91pp.

89. 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.

90. Pérez L., 1998. Black Sigatoka disease control in banana and plantains plantations in Cuba. Management of the disease based on an integrated approach. INFO*MUSA*. Vol. 7(1):27-30. *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook 84

91. Ploetz, R.; Zentmyer, G.; Nishijima, W.; Rohrbach, K.; Ohr, H. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN.

92. Rains, D.; Schmid, W.; Epstein, E. 1964. Absortion cations by roots. Effect of hydrogen ions and essential role of calcium. Plant physiology 39:274-278.

93. Reigart, J.R. and Roberts, J.R. 1999. Recognition and management of pesticide poisonings, 5th ed. United States Environmental Protection Agency Publication EPA-735-R 98-003.

94. Riveros, A.; Giraldo, C.; Gamboa, A. 2003. Microbiological control of black leaf streak disease Resúmenes de ponencias. (Eds. L. Jacome, P. Lepoivre, D. Marin, R. Ortiz, R. Romero & J.V. Escalant). Proceedings of the 2nd International workshop on

Mycosphaerella leaf spot diseases held in San Jose, Costa Rica, 20-23 May 2002. p287-296.

95. Robinson, J. 1996. Bananas and Platains. Crops production science in horticulture. CAB International p179-188.

96. Rognes, S. 1980. Anion regulation of lupin of asparagine synthetase: Chloride activation of the glutamine utilizing reaction. Phytochemistry 19: 2287-2293.

97. Román, S. 2001. Fertilización de Cultivos de la Zona Centro Norte de Chile. Agenda del Salitre SOQUIMICH 2001. Undécima Edición. 332-334. SOQUIMICH COMERCIAL S.A (ed.). Santiago, Chile.

98. Romero, R. 2000. Black leaf streak. Control. In: Diseases of banana, acabá and enset. Jones, D.S. (ed.). CABI publishing, Wallingford, UK.

99. Ruiz J.; Garcia P.; Rivero R.; Romero L. 1999. Response of phenolic metabolism to the application of carbendazim plus boron in tobacco.

100. Russell, P.E. 2003. Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. FRAC Monograph No. 3. Global Crop Protection Federation. Cambridge, United Kingdom 6-8.

101. Salisbury, F.; Ross, C. 1992. Plant Physiology. 4th Edition. Belmont, CA: Wadsworth Publishers. p124-125.

102. Schoroeder, J.; Allen, G.; Hugouvieux, V.; Kwak, M.; Waner, D. 2001. Guard cell signal transduction. Annual Review of plant physiology and plant molecular Biology 52: 627-658.

103. SICA, 2001. Servicio de Información y Censo Agropecuario del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador Programa Nacional del Banano. El cultivo del Banano. Disponible en: http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/Ing%20Rizzo/perfiles_productos/banano.pdf. Visitado el 20 de Septiembre del 2007.

104. SICA, 2003. Servicio de información y censo agropecuario del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Disponible en; http://www.sica.gov.ec/cadenas/banano/docs/descripcion.htm. Visitado el 26 de Agosto del 2007

105. Sierra, L. 1993. El Cultivo del banano. Medellín. 679pp.

106. Stover, R. 1972. Banana plantain and abaca diseases. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, UK, 316pp.

107. Stover, R. 1986. Disease management strategies and the survival of the banana industry. Ann. Rev. Phytopathol. 24:83-91.

108. Subbarao, G.; Ito, O.; Berry, W.; Wheeler, R. 2003. Sodium, a functional plant nutrient. Crit. Rev, Plant Sci 22:391-416.

109. Tanji, K. 1990. Agricultural Salinity Assessment and management. New York: American Society of civil construction p1-19.

110. Ting, I. 1982. Plant Physiology. Addison-Wesley, California. 642pp.

111. Tzeng, K.; Kelman, A.; Simmon, K.; Kelling, K. 1986. Relationship of Calcium nutrition to internal brown spot of potato tubers and sub apical necrosis of sprouts. Am. Potato J. 63:87-97.

112. Vakili, N. 1968. Response of *Musa acuminata* species and edible cultivars to infection by *Mycosphaerella musicola*. Tropical Agriculture Trinidad 45:13-22.

113. Voisin, A. 1958. Principios de Nutrición. *In*: Manual técnico de Metalosatos Albion., p3- 8.

114. Walker, C.; Gram., R.; Madison, J.; Cary, E.; Welch, R. 1985. Effects of nikel deficiency on some nitrogen metabolites in cow peas. *Vigna unguiculata*. Plant Physol 79: 474–479.

115. Wanda, A.; Díaz, M.; Alvarado, A. 2001. Enfermedades de plátano y guineo. Servicio de Extensión Agrícola. Universidad de Puerto Rico-Recinto de Mayagüez., Colegio de Ciencias Agrícolas. 13pp.

116. Watanabe, F.; Nakano, Y. 1999. Vitamin B12. Nipón Rinsho. 57:2205-2210.

117. Welch, R, 1995. Micronutrients nutrition plants. Critical Reviews in plant sciences 14: 49-82.

118. Wielemaker, F. 1990. Practical notes on black Sigatoka control. *In*: Fullerton, R. and Stover, R. (eds) Sigatoka leaf spot diseases of banana, proceeding of an International workshop held at San Jose, Costa Rica, March 28-April 1, 1989. INIBAP, Montpellier, France, p107-114.

119. Yamada, T. 1996. La nutrición mineral y la resistencia de las plantas a las enfermedades. Informaciones agronómicas N° 23, INPOFOS. p7–10.