



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO

DE

INGENIERO AGRÓNOMO

**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE CINCO PRODUCTOS
“BIORRACIONALES” SOBRE *Mycosphaerella fijiensis*, AGENTE CAUSAL DE
LA SIGATOKA NEGRA EN PLÁTANO (*Musa AAB*)”**

AUTOR

JOSÉ JAVIER VÉLEZ GARCIA.

DIRECTORA

Ph.D. CARMEN SUÁREZ CAPELLO

QUEVEDO - LOS RÍOS - ECUADOR

2012

**EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN FUE AUSPICIADO
POR LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES.**

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS, INIAP**

&

**IMPROVING LIVES THROUGH BIODIVERSITY
RESEARCH**





UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Tesis presentada al Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias como requisito previo para la obtención del Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

TEMA:

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE CINCO PRODUCTOS
“BIORRACIONALES” SOBRE *Mycosphaerella fijiensis*, AGENTE CAUSAL DE
LA SIGATOKA NEGRA EN PLÁTANO (*Musa AAB*).**

APROBADA:

PhD. Carmen Suárez - Capello

DIRECTORA DE TESIS

Ing. Agr. M.Sc. Ignacio Sotomayor Herrera

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Econ. Flavio Ramos Martinez

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Ing. Agr. César Varas Mahenza

MIEMBRO DE TRIBUNAL



CERTIFICACIÓN

Ph.D. Carmen Suárez Capello, Docente de la Facultad de Ciencias Agrarias de la **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**, Certifico: Que el egresado: **VÉLEZ GARCIA JOSÉ JAVIER**, realizó las actividades necesarias para la elaboración de la tesis de grado titulada “**DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE CINCO PRODUCTOS BIORRACIONALES SOBRE *Mycosphaerella fijiensis*, AGENTE CAUSAL DE LA SIGATOKA NEGRA EN PLÁTANO (*Musa AAB*)**”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ph.D. Carmen Suárez Capello.

DIRECTORA DE TESIS

Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber

Albert Einstein

DEDICATORIA

Después de haber culminado mi trabajo de tesis quiero dedicárselo a:

DIOS, quien me ha brindado toda la sabiduría e inteligencia para encontrar el camino del éxito, además de darme toda la fuerza necesaria para no desfallecer y levantarme cada día.

Mi padre, **José Bosco Vélez Mendoza**, por darme la vida, por guiarme por el buen camino, por mi formación como persona y como profesional y por apoyarme siempre en mis necesidades y en mis sueños.

Mi madre, **Eulalia Genoveva García Cusme**, quien con su amor, ternura, apoyo y comprensión se convirtió en mi mejor amiga y guía. Madre, por lo que significas en mi vida, le pido a Dios que nos de vida para compartirla juntos y para hacerte la madre mas feliz del mundo. TE AMO.

Mi esposa, **Lucía Guzmán**, quien me brindó mucha confianza y ayuda incondicional para la realización de mi trabajo de investigación.

Mi hijo, **José Andrés**, porque con su llegada me cambió el mundo, llenándome de alegría y de razones para nunca desfallecer. TE AMO HIJO.

Mis hermanos, **Angélica, Sonia, Carolina, Karina, Jackson y Rosita**, por sus muestras de afecto y darme ánimos para alcanzar esta meta tan importante como es la obtención de mi título profesional.

Mis idolatrados sobrinos, **Juan y Génesis**, para que les sirva de inspiración y ejemplo en su futura formación personal y profesional.

Mis inolvidables compañeros de aula: Erick Benalcázar, Adrian Cabezas, Bernardo Castro, Luis Castro, Cristhian Cuadros, Jonathan Espinoza, Fabricio Garcés, Luis Liu-Ba, Jonathan López, Miguel Martínez, Samuel Mendieta, Danny Mise, José Mogro, Freddy Ríos, Iván Suarez, Fabricio Vera y Jefferson Zambrano.

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas y entidades que prestaron de una u otra manera su desinteresada colaboración para que la presente investigación llegue a su feliz término.

Agradezco primeramente a **Dios**, por la vida que me ha dado y por haberme permitido culminar mi carrera universitaria con éxito y salud, y por todas las bendiciones dadas en mi vida.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (**UTEQ**), por ser mí segundo hogar en el transcurso de los cinco años de estudio y por todas las facilidades brindadas en este tiempo de estudio. **GRACIAS**.

A **BIOVERSITY INTERNATIONAL**, entidad no gubernamental que financió el presente trabajo de investigación.

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (**INIAP**) y a la Estación Experimental Tropical Pichilingue, institución en donde me permitieron realizar mi trabajo de investigación.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por las facilidades brindadas durante los cinco años cursados en este importante centro de educación superior.

Agradecimiento especial a la Dra. Carmen Suárez PhD, mi directora de tesis por haberme dado la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis en el Departamento Nacional de Protección Vegetal de la EET-Pichilingue el cual ella dirigió, quien compartió conmigo de sus valiosos conocimientos, me brindó su apoyo incondicional en las circunstancias buenas

y malas por las que viví durante el desarrollo del presente trabajo de investigación y sobre todo por su gran calidad humana como Directora y amiga.

A todo el personal Administrativo y Laboral de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y muy especialmente a la Sra. Alexandra Mendoza, a la Ing. Lorena Escobar y a los Sres. Sandro Montoya y Amado Coello, quienes siempre estuvieron atentos cuando requerí de su ayuda.

Ing. M.Sc. Ignacio Sotomayor Herrera, Líder del Programa Nacional de Banano, Plátano y otras Musáceas de la EET-Pichilingue del INIAP y Presidente de mi Tribunal de Sustentación, por sus acertados consejos y cambios constructivos, al proyecto que desembocaron en el pulimento de mi trabajo de tesis.

Ing. M.Sc. Pedro Rosero, ex Sub-decano de la Facultad de Ciencias Agrarias e Ing. M.Sc. David Campi, ex Director de Escuela de la carrera de Ing. Agronómica, gracias por su apoyo y confianza en todo momento.

Ing. M.Sc. José Villacís, Director de la EET-Pichilingue del INIAP, por su orientación y sugerencias para el desarrollo de mi tesis.

Al Ing. Cesar Varas y al Econ. Flavio Ramos, Miembros de mi Tribunal de Tesis, quienes aportaron con un granito de arena para el desarrollo de mi tesis.

Al Ing. Stalin Revelo, por todo su apoyo y por los consejos brindados en la realización de mi trabajo de tesis.

Al Ing. Juan Agama, por toda su ayuda y por los consejos brindados en la realización de mi trabajo de tesis.

A todo el personal del Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV) de la EET-Pichilingue. Ings. Danilo Vera, Stalin Revelo, Karina Solís, Juan Agama, Bióloga. Adela Quevedo, a las Tecnólogas Sofía Peñaherrera y Lorena Ledesma.

A las personas encargadas del área de la biblioteca de la EET-Pichilingue. Ing. Verónica Zambrano y Sra. Eliana Velásquez.

A mis compañeros becarios y amigos de la EET-Pichilingue, Mayra Vélez, Galo Cedeño, Pablo Páez, Jonathan Espinoza, Jonathan López, Bernardo Castro y Jefferson Zambrano. Gracias por su apoyo incondicional.

Al personal de campo del DNPV de la EET-Pichilingue: Sres. Eliceo Morán, Jorge Morán y Mauricio Fuentes.

Al Licenciado en Biología Enoy Leiva, por la motivación para que se realice mi trabajo de tesis.

A mi amigo Antonio, de nacionalidad Koreana, gracias por su ayuda en todo momento.

A todas y todos quienes de una u otra forma han colocado un granito de arena para el logro de mi Trabajo de Tesis, agradezco de forma sincera su valiosa colaboración.

La responsabilidad por la presente investigación, resultados y conclusiones presentados en esta tesis, corresponden única y exclusivamente al autor.

JOSÉ JAVIER VÉLEZ GARCÍA.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	Páginas
Aprobación por el tribunal de evaluación y seguimiento.....	ii
Certificación del director de tesis.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Autoría.....	ix
Índice general.....	x
Índice de cuadros.....	xiv
Índice de figuras.....	xv
Índice de cuadros del apéndice.....	xvi
Índice de figuras del apéndice.....	xvii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
A. Justificación.....	3
B. Objetivos.....	4
1. General.....	4
2. Específicos.....	4
C. Hipótesis.....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
A. El plátano.....	5
B. Importancia del cultivo.....	5
C. Productos Biorracionales.....	6
D. Principales plagas y enfermedades que afectan a las <i>Musáceas</i>.....	6
E. Sigatoka negra.....	7
1. Toxinas producidas por el hongo <i>M. fijiensis</i>	8
2. Descripción general de <i>M. fijiensis</i>	9
2.1 Agente causal.....	9
2.2 Taxonomía.....	9
2.3 Biología del patógeno.....	10
2.3.1 Reproducción sexual.....	10
2.3.2 Reproducción asexual.....	11

2.3.3	Ciclo biológico de la enfermedad.....	11
2.3.4	Influencia climática en el proceso infeccioso.....	13
3.	Sintomatología.....	13
F.	Métodos de control de Sigatoka negra.....	15
1.	Control cultural.....	15
2.	Control biológico.....	15
3.	Control químico.....	16
4.	Control integrado.....	17
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
A.	Localización del estudio.....	19
B.	Características Climáticas.....	19
C.	Materiales y equipos.....	19
1.	Materiales usados en la fase de laboratorio.....	19
2.	Materiales usados en la fase de invernadero.....	20
D.	Factor en estudio.....	21
E.	Descripción metodológica.....	21
F.	Productos en estudio.....	21
1.	Trichoeb 5WP (Acondicionador del suelo).....	21
2.	Ecoflora (Acondicionador biológico).....	22
3.	Ecofungi (Inoculante de micorrizas).....	23
4.	3B112 S.C. (Inhibidor de la esporulación de hongos).....	23
5.	Bankit (Fungicida sistémico) testigo referencial.....	23
6.	Testigo absoluto.....	24
G.	Primer experimento.....	25
1.	Diseño experimental.....	25
2.	Preparación del medio de descarga.....	25
3.	Selección del material en el campo.....	26
4.	Selección del material en el laboratorio.....	26
5.	Descarga de ascosporas de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	26
6.	VARIABLES REGISTRADAS.....	26
6.1	Total de ascosporas descargadas (TAD).....	26
6.2	Porcentaje de ascosporas germinadas (%).....	27

H.	Segundo experimento.....	27
1.	Diseño experimental.....	27
2.	Descripción de Metodología.....	28
3.	Preparación de los productos.....	28
4.	Selección del material en el campo.....	28
5.	Selección del material en el laboratorio.....	28
6.	Descarga de ascosporas.....	29
7.	Variables registradas.....	29
7.1	Número de ascosporas descargadas (#AD).....	29
7.2	Porcentaje de germinación (%).....	29
I.	Tercer experimento.....	29
1.	Diseño experimental.....	29
2.	Descripción de metodología.....	30
3.	Obtención de vitroplantas para la inoculación.....	30
4.	Origen y aislamiento del patógeno.....	30
5.	Preparación del inoculo.....	31
6.	Inoculación de vitroplantas.....	31
7.	Aplicación de los productos.....	32
8.	Formas de aplicación.....	32
8.1	Inoculación de <i>M. fijiensis</i> mas los productos.....	32
8.2	Inoculación de los productos mas <i>M. fijiensis</i>	32
9.	Variables registradas.....	32
9.1	Período de incubación (PI).....	32
9.2	Área afectada (%).....	32
IV.	RESULTADOS	33
A.	Efecto inhibitorio de los productos biorracionales sobre la germinación de las ascosporas del hongo <i>M. fijiensis</i> descargadas en medio solido Agar agua mas la dosificación del biorracional correspondiente bajo condiciones de laboratorio.....	33
B.	Eficacia de los productos biorracionales sobre la germinación de las ascosporas del hongo <i>M. fijiensis</i> asperjando los fragmentos con cada uno de	

los productos biorracionales y dejando descargar las ascosporas en medio solido agar agua.....	34
C. Eficacia de los productos Biorracionales para reducir la incidencia de Sigatoka negra en plántulas de plátano barraganete con la pre y post inoculación del patógeno y así mismo con la pre y post inoculación de los productos estudiados.....	35
V. DISCUSIÓN.....	39
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
A. Conclusiones.....	41
B. Recomendaciones.....	42
VII. RESUMEN.....	43
SUMMARY.....	44
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	45
APÉNDICE.....	50

ÍNDICE DE CUADROS

	Paginas
Cuadro 1. Condiciones meteorológicas y ecológicas de la Estación Experimental Pichilingue.....	19
Cuadro 2. Tratamientos, composición, concentración y dosis de los productos biorracionales.	24
Cuadro 3. Análisis de varianza del primer experimento. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	25
Cuadro 4. Análisis de varianza del segundo experimento. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	27
Cuadro 5. Análisis de varianza del tercer experimento. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	29
Cuadro 6. Número de ascosporas descargadas y porcentaje de ascosporas germinadas del primer ensayo EET-Pichilingue, INIAP, 2011	33
Cuadro 7. Número de ascosporas descargadas y porcentaje de ascosporas germinadas del segundo ensayo EET-Pichilingue, INIAP, 2011.....	34
Cuadro 8. Efecto de los productos biorracionales en el período de inoculación y porcentaje del área afectada del tercer ensayo EET-Pichilingue, INIAP, 2011	36
Cuadro 9. Efecto de la aplicación de los productos biorracionales en la etapa de pre y post inoculación de <i>M. fijiensis</i> respecto al período de incubación y porcentaje del área afectada del tercer ensayo EET-Pichilingue, INIAP, 2011	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Paginas
Figura 1. El espermogonio.....	10
Figura 2. Conidióforos y conidias.....	11
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	12
Figura 4. Estadios de desarrollo de las lesiones de Sigatoka negra.	13
Figura 5. Interacción del producto con la inoculación de <i>M. fijiensis</i> en la variable período de incubación EET-Pichilingue, INIAP, 2011.....	37
Figura 6. Interacción del producto con la inoculación de <i>M. fijiensis</i> en la variable área afectada EET-Pichilingue, INIAP, 2011.	38

ÍNDICE DE CUADROS DEL ÁPENDICE

	Paginas
Cuadro 1. Análisis de varianza del primer experimento en la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agente causal de la Sigatoka negra en plátano (<i>Musa AAB</i>) EET-Pichilingue, INIAP, 2011	51
Cuadro 2. Análisis de varianza del segundo experimento en la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agente causal de la Sigatoka negra en plátano (<i>Musa AAB</i>) EET-Pichilingue, INIAP, 2011	51
Cuadro 3. Análisis de varianza del tercer experimento en la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agente causal de la Sigatoka negra en plátano (<i>Musa AAB</i>) EET-Pichilingue, INIAP, 2011	52
Cuadro 4. Efecto de la interacción de los factores inoculación y productos en el período de incubación y porcentaje del área afectada en el tercer ensayo en la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agente causal de la Sigatoka negra en plátano (<i>Musa AAB</i>) EET-Pichilingue, INIAP, 2011	52

ÍNDICE DE FIGURAS DEL ÁPENDICE

	Paginas
Figura 1. Escala de síntomas de Sigatoka negra descrita por Fouré (1985)	51
Figura 2. Escala de Romero (2005) para la evaluación de resistencia a Sigatoka negra en vitroplantas de <i>Musa spp.</i> Inoculadas artificialmente con <i>M. fijiensis</i> , bajo condiciones controladas de invernadero	54
Figura 3. Proceso del aislamiento de <i>M. fijiensis</i> para la obtención de colonias. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	55
Figura 4. Observación de las ascosporas descargadas en medio sólido agar-agua mas la dosificación de cada uno de los productos biorracionales estudiados. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	56
Figura 5. Proceso de la preparación del inóculo de <i>M. fijiensis</i> . EET-Pichilingue, INIAP, 2011.	59
Figura 6. Proceso de descargas de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> asperjando los fragmentos con los productos biorracionales antes de realizar la descarga. EET-Pichilingue, INIAP, 2011	60
Figura 7. Esquema de la inoculación de <i>M. fijiensis</i> en vitroplantas de plátano cv. Barraganete (<i>Musa AAB</i>). EET-Pichilingue, INIAP, 2011	61
Figura 8. Esquema de la aplicación de los productos biorracionales en el follaje de las vitroplantas de plátano cv. Barraganete (<i>Musa AAB</i>). EET-Pichilingue, INIAP, 2011	62
Figura 9. Esquema del desarrollo de los síntomas de Sigatoka negra en vitroplantas de plátano cv. Barraganete (<i>Musa AAB</i>). EET-Pichilingue, INIAP, 2011.....	64

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de plátano es seriamente afectado por la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*), produciendo el secamiento prematuro de las hojas, debilitamiento de la planta y por ende pérdidas notables en la producción (más del 50 % de reducción del rendimiento). En la actualidad, agricultores plataneros de El Carmen, Ecuador están siendo forzados por las compañías exportadoras a implementar medidas drásticas para el control y mantener su cupo de exportación. Lamentablemente, información existente sobre control químico de la enfermedad en plátano es muy escasa. Los agricultores de la zona, en particular los que cultivan para exportación tienden a utilizar las mismas familias de fungicidas y en los mismos ciclos que se emplean en banano (aplicaciones periódicas cada 15 – 20 días), originando aumento notable en costos de control y sobre todo ocasionando daños al Ecosistema sin que realmente puedan causar impacto eficiente en la enfermedad.

La enfermedad reduce la producción en un 50% siendo mas severa en fincas de pequeños productores, quienes no realizan prácticas de manejo adecuados (**Osorio, 2006; Espinoza, 2007**). Su impacto en los países productores ha sido devastador en los últimos 30 años, ocasionando importantes pérdidas. En Costa Rica el costo de control de la enfermedad en banano es de USD 1500 dólares por ha/año. En México se han registrado pérdidas del 50 al 100% en la producción, lo que ha obligado a incrementar los ciclos de aplicación de fungicidas, sobrepasando las 40 aplicaciones por ciclo de cultivo (**Barrios, 2006**). En Ecuador hasta el 2002 se invertían más de 60 millones de dólares anuales en fungicidas para esta enfermedad, aplicándose alrededor de 25 a 29, 20 a 24 y 12 a 16 ciclos/ha/año, en las provincias de Los Ríos, Guayas y El Oro, respectivamente (**Martillo y Solano, 2003**).

El uso excesivo de agroquímicos en la agricultura para controlar enfermedades fungosas, ha provocado el desarrollo de resistencia de los patógenos a los fungicidas, la aparición de organismos secundarios inducidos, al eliminar a los enemigos naturales, acumulación de residuos en el medio ambiente, destrucción de la flora y fauna silvestre benéfica e intoxicaciones y enfermedades en el hombre (**Jiménez; citado por Arzate et al., 2006**).

El control biológico busca, aparte del control, lograr la seguridad alimentaria al contribuir a que se adquieran alimentos libres de compuestos tóxicos y las personas puedan llevar una vida sana. Para esto, es necesario conocer a los organismos benéficos, conocer sus hábitos e identificar el papel que juegan para regular a las poblaciones dañinas y reducir así el uso de plaguicidas (**Arzate et al., 2006**).

En ese sentido, el uso de controladores biológicos y productos derivados de ellos, genéricamente conocidos como “biorracionales”, para el manejo alternativo de la Sigatoka negra en el cultivo de plátano, podría ser una estrategia promisorio de control. El grupo meta al que está dirigido la presente investigación, son los pequeños productores de plátano y aquellos quienes comparten tecnologías amigables con el ambiente, como se refleja en los sistemas orgánicos, biológicos o en transición.

La agricultura actual demanda la reducción del uso de fungicidas sintéticos y la introducción de sistemas sostenibles mediante el uso de agentes de manejo biológico. La alternativa de usar hongos, bacterias, plantas, aminoácidos esenciales, vitaminas, ácido fólico, azúcares naturales o sus derivados “biorracionales”, para el manejo de enfermedades puede ser una opción biológica muy importante en la actualidad. La implementación de estas metodologías en los sistemas de producción agrícola de los pequeños agricultores, aportarían ventajas comparativas respecto a los métodos de control químico ampliamente establecidos, toda vez que estos son sistemas eficientes, de bajo costo, con baja inversión en mano de obra, fáciles de implementar, amigables con el ambiente y seguros por que no ocasionan daños a la salud humana o animal.

A. Justificación

Entre los mayores problemas que deben enfrentar los productores de banano y plátano, están los fitosanitarios y dentro de estos la enfermedad foliar conocida como Sigatoka negra (*M. fijiensis*), la cual constituye el mayor factor limitante de la productividad cuando no es controlada, debido a que el hongo causa una gran destrucción del follaje con la consecuente reducción del área fotosintética, más aún, si las condiciones de clima y humedad son las ideales para la proliferación del patógeno.

El control de la Sigatoka negra en Musáceas a nivel mundial es básicamente mediante el uso de fungicidas químicos de contacto, sistémicos y fungistáticos. Este factor, sumado a la uniformidad genética de extensas áreas cultivadas con variedades comerciales de exportación, ha provocado en el patógeno una mayor presión de selección, conllevando la presentación de razas del hongo más virulentos y resistentes a los fungicidas.

Para evitar las pérdidas ocasionadas por la alta incidencia y severidad de la Sigatoka negra, los productores bananeros utilizan en aplicaciones aéreas diversos fungicidas de síntesis química, los cuales tienen distintos niveles de efectividad. Estos fungicidas no solo tienen efectos adversos en el medio ambiente y en los microorganismos benéficos que habitan en estos ecosistemas, sino que además aumentan los costos de producción.

Por lo expuesto es de gran importancia que se generen tecnologías limpias que permitan una producción estable y segura de estos cultivos y dentro de estas el control biológico constituye una alternativa promisoría para integrarse a un plan de manejo integrado de la enfermedad. En Ecuador no se han realizado investigaciones acerca del control biológico de este patógeno con microorganismos nativos, lo cual representa un gran aporte para su implementación a futuro dentro de un manejo integrado y como base para la búsqueda de otros microorganismos con mayor eficacia de biocontrol del hongo.

Este estudio se realizó en el Departamento Nacional de Protección Vegetal de la Estación Experimental Tropical Pichilingue, como parte complementaria del Proyecto “Conservación y uso de la diversidad genética cultivada para el control de plagas en apoyo a la agricultura sostenible” que se conduce entre INIAP y la organización Bioversity Internacional.

B. Objetivos:

1. General

- Estudiar la eficacia de cinco productos biorracionales para el manejo de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) en el cultivo de plátano (*Musa AAB*) a nivel de laboratorio e invernadero.

2. Específicos

- Determinar la capacidad antiesporulante de los productos biorracionales en estudio capaces de inhibir el crecimiento de ascosporas del agente causal de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) a nivel de laboratorio.
- Evaluar la eficacia de la aplicación de los productos biorracionales en el control de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) en vitroplantas de plátano.

C. Hipótesis

Existen productos biorracionales capaces de controlar la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en Musáceas y permitir por tanto la reducción del uso de moléculas químicas y su efecto nocivo en el ambiente de las plantaciones, manteniendo sus niveles de productividad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. El plátano

El plátano tuvo su centro de origen en el continente Asiático, principalmente en las zonas de Filipinas, India y Nueva Guinea. Es una planta monocotiledónea perteneciente a la familia de las Musáceas, orden Escitaminales. Las especies más importantes dentro de esta familia son: *M. acuminata* y *M. balbisiana* (sección Eumusa, género *Musa*), de donde por cruzamientos interespecíficos, han originado la mayoría de los cultivares de plátano comestibles más importantes del mundo (**Stover y Simmonds, 1987**). Se identifica con A los caracteres aportados por *M. acuminata* y por B los de *M. balbisiana*. Así por ejemplo, el grupo AAB indica que es un triploide, donde *Musa Acuminata* aporta dos genes y *Musa balbisiana* uno (**Soto; citado por Coello, 2008**).

En el país la producción de Musáceas está sustentada sobre los cultivos: plátano (Barraganete y Dominico) y bananos del sub grupo Cavendish (Williams, Valery, Grand nain, Orito, entre otros). La zona de El Carmen, provincia, de Manabí, se destaca con la mayor producción de plátano con 49.129 hectáreas aproximadamente, de donde sale el 95% de la producción de plátano de exportación (**INEC, 2009**).

B. Importancia del cultivo

El cultivo de musáceas es uno de los de mayor importancia para cientos de familias ecuatorianas, principalmente en las provincias de Los Ríos, Guayas, El Oro, Manabí, Bolívar, Cotopaxi, Chimborazo y Azuay, donde el banano es la actividad económica mas importante por ser el rubro de exportación para el Ecuador, dejando a los diferentes tipos de plátano para el consumo interno y otra parte para la exportación. La gran diferencia entre estas dos especies es que los diferentes cultivares de plátano son manejados predominantemente de forma tradicional y orgánica.

En el país existen alrededor de 132.000 ha de plátano, el 70 % de las cuales son parte del sistema de producción predominante en la costa ecuatoriana (**Armijos, 2008**).

Por su parte, la producción de banano ocurre como un sistema de monocultivo a nivel nacional, habiéndose establecido de forma extensiva en las provincias de Guayas, Los Ríos y El Oro, con unas 229.602 hectáreas sembradas en todo el país (INEC, 2009).

Según el sistema de información y Censo Agropecuario, la actividad bananera genera más de 400.000 empleos directos, lo que significa que alrededor del 12 % de la población económicamente activa se beneficia de esta actividad en una u otra forma (Armijos, 2008).

El plátano no solo puede contribuir a la seguridad alimentaria de los países en desarrollo como fuente de energía, sino que también es una fuente generadora de ingresos y de empleo y por lo tanto contribuye a mejorar el nivel de vida de los agricultores de la región.

En el Ecuador el plátano es un cultivo históricamente manejado por pequeños y medianos agricultores, con limitados recursos económicos y tecnológicos. Sin embargo, cada productor, en ausencia de tecnologías formales para el manejo del cultivo, ha desarrollado diversos y valiosos conocimientos acerca de cómo manejar las plantaciones para mejorar los niveles de producción y obtener mayores beneficios económicos.

C. Productos Biorracionales

En años recientes han aparecido los llamados “productos biorracionales” como una alternativa al uso de pesticidas. Son sustancias que se derivan de microorganismos, plantas o minerales. También pueden ser sustancias sintéticas similares o idénticas a otras que se encuentran en la naturaleza. Se caracterizan por tener una toxicidad muy baja para los humanos y otros vertebrados, se descomponen en pocas horas después de ser aplicados. Por lo que estos productos son considerados ambientalmente benignos, su efecto en la vida silvestre y el medio ambiente es menos perjudicial que aquel derivado de la aplicación de los fungicidas convencionales.

D. Principales plagas y enfermedades que afectan a las *Musáceas*

Entre los problemas fitosanitarios más frecuentes que afrontan estos cultivos en relación a plagas y enfermedades se mencionan: picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), nematodos

(*Radopholus similis*, *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne* spp.), virus del rayado del banano (BSV), virus del mosaico del pepino (CMV) y Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Se destaca esta última enfermedad por ser responsable del 50% de pérdidas económicas de los cultivos de *Musas*.

E. Sigatoka Negra

La Sigatoka negra se detectó por primera vez en Centroamérica, en plantaciones bananeras de Honduras en el año 1972, aunque al parecer se encontraba ya en el área desde algunos años atrás, desde ese momento se le citó como causada por *Mycosphaerella fijiensis* var. *Difformis* Mulder.

En Ecuador se detectó por primera vez en el año 1987, en la Hacienda “Timbre” de Esmeraldas, curiosamente en la misma plantación que en el año 1952 se descubrió la Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach). A pesar de los esfuerzos realizados por contenerla, la enfermedad fue progresivamente distribuyéndose en todo el país y para el año 1988 – 89, todas las plantaciones de banano y plátano estaban infectadas con Sigatoka negra, habiendo desplazado en un 90% a la Sigatoka amarilla (**Fernández, 2006**).

La Sigatoka negra es la enfermedad económicamente más importante de banano y plátano en Latinoamérica y el Caribe. Actúa a nivel foliar causando una fuerte necrosis que afecta en forma significativa al proceso fotosintético de la planta, tanto por la acción del patógeno como de las toxinas producidas por el mismo. En definitiva, si no hay la implementación de medidas de control, la planta llega a la época de floración con un reducido número de hojas funcionales, perjudicando el eficiente llenado del fruto y acelerando su proceso de maduración, lo que genera pérdidas de 35 – 50% en la fase de comercialización (**Mourichon et al. 2000; Barrios, 2006; Tazán, 2002**).

En los últimos años el hongo causante de la enfermedad, ha desarrollado resistencia a determinados fungicidas químicos, reduciendo su efectividad en más del 50%, pero en la actualidad el problema es aún manejable para los grandes productores bananeros dedicados a

la exportación, pero no para los medianos cultivadores de plátano, dado el alto costo que esto representa **(Osorio, 2006; Espinoza, 2007)**.

En términos epidemiológicos se trata de una enfermedad policíclica, con dos fases de reproducción vegetativa: sexual y asexual. La primera es la más compleja y la más agresiva, ya que genera ascosporas que constituyen la fuente primordial de inóculo. Estas esporas son transportadas por el viento, el agua y/o los insectos, provocando una expansiva diseminación de la enfermedad. Una vez que la espora se deposita en el hospedero y las condiciones ambientales son adecuadas, esta germina y penetra en la planta a través de los estomas. Cuando las condiciones no son las adecuadas, la estructura del hongo entra en un período de latencia a la espera de condiciones favorables **(Marin y Romero; citado por Osorio, 2006)**.

La mancha provocada sigue avanzando en su desarrollo y evolución; se hace más grande y ancha de forma elíptica y se rodea de un borde café oscuro visible cuando la hoja está mojada. Luego de este estado, la mancha se seca en el centro, se torna gris y se deprime; la lesión se rodea de un borde angosto negro bien definido. Al unirse todas las lesiones producidas, la hoja se torna negra y muere en 3 ó 4 semanas después de presentar los primeros síntomas **(Freitez, 2007)**.

1. Toxinas producidas por el hongo *M. fijiensis*

Los síntomas y posteriores daños en las hojas no solo son causados por la acción del hongo, sino además, por las toxinas que este produce **(Molina y Krausz, 1998)**.

El hongo *M. fijiensis* sintetiza un conjunto de toxinas que son las responsables de la necrosis en el tejido foliar. Los compuestos mas abundantes y fitotóxicos son el 2,4,8 – *tetrahydroxytetralone* y *juglone* **(Jácome et. al. citado por Intriago, 2009)**.

Juglone (5 – *hydroxy* – 1,4 – *Naphthoquinone*) una de las principales toxinas que produce el hongo causante de la Sigatoka negra, *juglone* es el principal metabolito con acción fitotóxica, el cual fue caracterizado a partir de filtrados de colonias del hongo, sin embargo, se han aislado y caracterizado otros cuatro compuestos: 1) 2,4,8-*trihidroxitetralona*, 2) la *juglona*,

3) el ácido 2-carboxi-3-hidroxicinámico, 4) el ácido dimetil éster 2-carboxi-3-hidroxicinámico, 5) el ácido isocracínico, 6) el 4-hidroxiscistalona y 7) la fijiensina, que causan la necrosis de la hoja en cultivares susceptibles a la enfermedad (**Giménez y Colmenares; citados por Intriago, 2009**).

Estas toxinas han sido utilizadas para evaluar *in vitro* la resistencia de cultivares de *Musa spp.* frente al hongo causal de la Sigatoka negra, dentro de programas de mejoramiento genético (**Leiva et. al. citado por Intriago, 2009**).

2. Descripción general de *M. fijiensis*

2.1 Agente causal

El hongo *M. fijiensis* Morelet, pertenece al grupo de los Ascomicetos. Tiene dos formas de multiplicación y diseminación, a través de esporas denominadas conidias (reproducción asexual) y ascosporas (reproducción sexual). Ambas estructuras forma el hongo durante su proceso de crecimiento o desarrollo vegetativo. Es un patógeno exclusivamente foliar, es decir, que ataca sólo a las hojas sin afectar a otros órganos de la planta (**Tazán, 2003**).

2.2 Taxonomía (Kirk, Cannon, David y Stalpers, 2001)

Reino:	Fungí
Phylum:	Ascomycota
Clase:	Ascomycetes
Orden:	Mycosphaerellales
Familia:	Mycosphaerellaceae
Género:	Mycosphaerella
Especie:	fijiensis

2.3 Biología del Patógeno

2.3.1 Reproducción sexual

M. fijiensis es el nombre que corresponde a la forma sexual (*Teleomorfa*) del patógeno. El hongo fue inicialmente descrito en 1969 por Morelet en muestras de Fiji.

Para producir la forma sexual, el hongo inicialmente desarrolla muchos espermogonios en la superficie inferior de la hoja al colapsar las lesiones. El espermogonio es oscuro, y de forma piriforme. En condiciones húmedas estas estructuras pueden producir grandes cantidades de células de reproducción masculina llamadas espermatias. Las espermatias son diminutas y cilíndricas y son las que van a fertilizar las hifas hembras vecinas llamadas tricóginas.



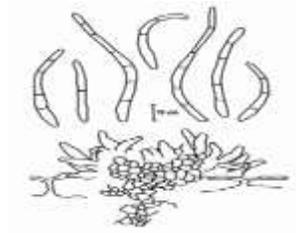
Fuente: Herrera y Naranjo, 2007

Figura 1. El Espermogonio

Al efectuarse la fertilización, los pseudotecios se forman dentro de las lesiones maduras con los ostiolos emergiendo de los tejidos. Las ascas, estructuras oblongas o en forma de mazo que se desarrollan en su interior, tienen dos paredes (bitunicadas) y contienen ocho esporas sexuales (ascosporas) que están alineadas de dos en dos. Las pseudoparafisis o elementos estériles están ausentes del pseudotecio. Las ascosporas son hialinas y poseen una septa. Una célula de la espora puede ser un poco más ancha que la otra, y la espora puede ser un poco estrecha.

2.3.2 Reproducción asexual

La forma asexual (*anamorfa*) se denomina *Pseudocercospora fijiensis*. Las conidias se originan individualmente y apicalmente sobre conidióforos. Las esporas son de color pálido a un ligero olivo-carmelitoso, lisas, largas y tienen tres o más septas.



Fuente: Herrera y Naranjo, 2007

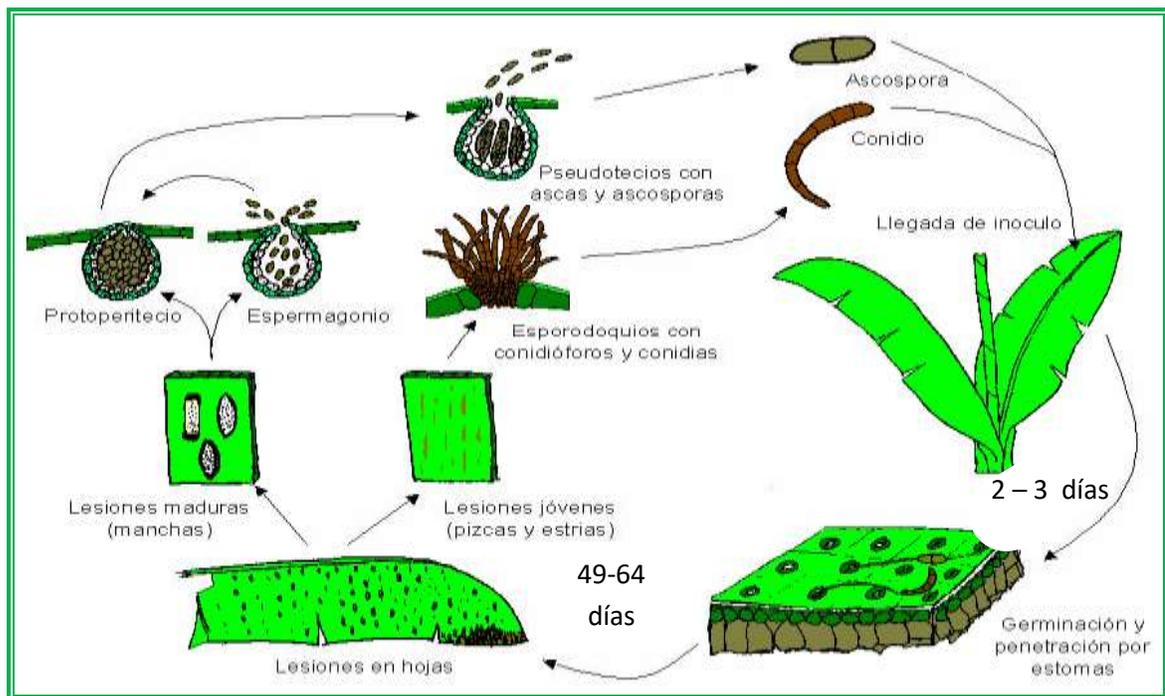
Figura 2. Conidióforos y conidias.

Las conidias germinan durante períodos de alta humedad relativa (92 – 100% humedad relativa) e infectan la hoja a través de los estomas, usualmente en la superficie inferior. Bajo condiciones de alta humedad, hifas del hongo pueden emerger por los estomas y crecer a lo largo de la superficie de la hoja y penetrar otros estomas, agrandando así las lesiones. Los conidióforos emergen por los estomas, y algunas veces sobre masas compactas de micelio (estromas). Los estromas también pueden desarrollarse sobre espermogonios jóvenes (Herrera y Naranjo, 2007).

2.3.3 Ciclo biológico de la enfermedad

El ciclo de vida de *M. fijiensis* se inicia con la deposición de las ascosporas o conidias del hongo, que se encuentran en el aire. Bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y presencia de agua libre en la superficie de la hoja, el proceso de germinación de las esporas ocurre en una hora aproximadamente. La penetración del hospedero está condicionada por el tiempo que dure la película de agua sobre la hoja y la humedad relativa, pero normalmente ocurre en un lapso de dos a tres días.

El periodo de incubación, referido como el tiempo entre la germinación y aparición de la primera pizca (síntoma), dura en banano 17 días y en plátano 29; mientras que el periodo de latencia o sea hasta la aparición de conidióforos y conidios, ocurre 28 días después de la infección en banano y 34 días en plátano. Por último, las ascosporas maduras del hongo se pueden observar 49 días después de la infección en banano y 64 días después en plátano. El ciclo del patógeno culmina con la liberación de las ascosporas o conidias al aire para su posterior diseminación (**Belalcázar *et al.* citados por Cedeño, 2010**).



Fuente: *Bornacelly, 2009 (Modificada por José Vélez).*

Figura 3. Ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis*.

La Sigatoka negra como cualquier enfermedad infecciosa policíclica presenta eventos que ocurren en forma continua. El primer paso del ciclo de la enfermedad es la producción del inóculo (espora), que inicia el proceso infectivo, al ser transportado por el viento, agua o insectos, a lo que se conoce como la diseminación de la enfermedad. Si la espora encuentra el hospedero y las condiciones ambientales (temperatura y humedad) óptimas, puede penetrar en la planta vía apertura estomática. Por lo contrario, si las condiciones no son las adecuadas, la estructura del hongo entra en un periodo de latencia que dura hasta que las

condiciones climáticas sean las favorables. El ciclo de la enfermedad, lo constituyen: la colonización de la planta, su infección y desarrollo de la enfermedad, *M. fijiensis* al finalizar su período de latencia e iniciar su etapa de infección, si no encuentra a un nuevo hospedante el patógeno entra en una etapa de sobrevivencia hasta que se presentan nuevas condiciones ambientales favorables para su desarrollo (Marín et al., 2003).

2.3.4 Influencia climática en el proceso infeccioso

Las fases que se han señalado en el proceso de desarrollo de la enfermedad son fuertemente influenciadas por las condiciones climáticas.

La esporulación y la germinación requieren de una alta humedad (95%). La diseminación conidial y ascospórica se producen al interior de la plantación, en sentido vertical descendente la primera y ascendente la segunda.

En el primer caso, la lluvia o el escurrimiento del rocío foliar constituyen el factor predominante.

En el segundo caso, este factor está dado por las corrientes ascendentes de aire húmedo originado en el calentamiento del suelo por la incidencia de los rayos solares (Tazán, 2003).

3. Sintomatología

El desarrollo micelial y la acción del hongo en los espacios intercelulares ocasiona la muerte de las células afectadas, lo que se manifiesta exteriormente por síntomas característicos que, para facilitar la mejor comprensión del proceso, han sido clasificados de la siguiente forma (Bornacelly, 2009).



Figura 4. Estadios de desarrollo de las lesiones de Sigatoka Negra.

ESTADIO 1. En este estado se puede apreciar el primer síntoma visible de la enfermedad el cual se distingue por la presencia de pequeñas decoloraciones o por puntos con menos de un milímetro de longitud, de color café rojizo más conocida como pizca. Este síntoma no es visible al trasluz y solo se puede observar por el envés de la hoja.

ESTADIO 2. Las pizcas aumentan de tamaño en sentido longitudinal paralelas a la venación, formando estrías de 2 a 3 mm de longitud, de color café rojizo visibles primero en el envés y luego en el haz de las hojas.

ESTADIO 3. Se distingue por la presencia de estrías o rayas con un tamaño mínimo de 5 mm, pudiendo alcanzar de 2 a 3 cm de largo. Las estrías conservan el color rojizo por el envés y toman color negro por el haz.

ESTADIO 4. Se caracteriza por la presencia de manchas elípticas u ovals que toman un color café por el envés y negro por el haz de la hoja.

ESTADIO 5. En este estado la mancha elíptica es totalmente negra en ambas caras de la hoja, aparece rodeada por un halo amarillo y presenta una “depresión” en el centro del tejido.

ESTADIO 6. La mancha está totalmente desarrollada; el área central hundida es de color gris y un borde de color café oscuro o negro forma un anillo bien definido alrededor de la mancha. Además, aparece un halo de color amarillo brillante alrededor de la lesión. Aún

cuando la hoja esté muerta, la mancha persiste y el anillo oscuro que rodea la mancha también se mantiene bastante definido (**Bornacelly, 2009**).

La diseminación de la enfermedad se lleva a cabo en dos fases: la primera en la liberación propiamente de conidios y ascosporas y la otra consiste en el transporte de estos propágulos.

Los conidios cuando están maduros se liberan con ayuda del salpique del agua. En el caso de las ascosporas, las ascas permanecen en el peritecio una vez fertilizado y cuando este se humedece y las ascosporas están maduras, son expulsadas y diseminadas por el viento. Los conidios son transportados principalmente por el agua, tratándose de un traslado vertical, responsable de las infecciones de las plantas vecinas o de hijuelos de las plantas y también de las reinfecciones. Las ascosporas se diseminan con ayuda de las corrientes de aire, tratándose de un movimiento lateral y ascendente y que eventualmente podría ser responsable de la diseminación a largas distancias. En número de conidios transportados por el viento, es 10 veces menor que el de ascosporas (**Osorio, 2006**).

F. Métodos de Control de Sigatoka negra.

La mayor parte de la información disponible de control hace referencia al productor bananero y por extensión y conveniencia se aplican a plátano muchas veces sin considerar las diferencias agrosocioeconomicas entre los dos cultivos. Para fin científicos dicha información es aplicable.

1. Control Cultural

Las técnicas de manejo cultural de la enfermedad restan encaminadamente a reducir las condiciones favorables para su desarrollo, el uso de bajas densidades para promover una buena aireación, buen drenaje, control de malezas y la remoción de las hojas que están severamente enfermas (mas del 50%), o partes de ellas (cirugía). Simplemente la remoción de las hojas infectadas y la ubicación en el suelo pueden reducir la eficacia de emisión de las ascosporas en forma significativa. La aplicación de urea y otros productos a los residuos

foliares infectados en el suelo, puede acelerar la descomposición de éstas y así reducir más la fuente de inóculo **(Belalcazàr, 2000)**.

2. Control Biológico

Investigaciones dirigidas al desarrollo de métodos de control biológico para la Sigatoka negra han sido limitadas, porque los controles químicos, que son altamente efectivos y económicos, están ampliamente disponibles a los productores comerciales de banano. Aunque los métodos de control biológico son deseables principalmente para la protección del ambiente, su aplicación con éxito probablemente será difícil porque la Sigatoka negra es una enfermedad policíclica y el tejido susceptible del banano está presente todo el año. Se han probado varias bacterias epifíticas (incluyendo *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Serratia spp.*) para el control de *M. fijiensis*, pero aún la investigación del control biológico está en sus etapas preliminares **(Stover; citado por Coello, 2008)**.

3. Control Químico

El control químico, es el método más utilizado para el manejo de la Sigatoka negra. Sin embargo, debido al desarrollo de altos niveles de resistencia del patógeno a la mayoría de los fungicidas utilizados convencionalmente, los altos costos que esto implica, e innumerables problemas de contaminación y efectos nocivos para la salud humana y animal, han provocado la necesidad de encontrar un mecanismo de control que reduzca pérdidas económicas y daños ambientales.

Debido a esta problemática, se han considerado varios enfoques de control integrado, que involucran la utilización de prácticas culturales, predicción y uso racional de aplicaciones de compuestos químicos y siembra de los cultivares resistentes disponibles. Así también se sugieren para el control biológico herramientas como el empleo de substratos, organismos antagonistas, enmiendas orgánicas y el uso de moléculas inductoras de resistencia. **(Guzmán; citado por Díaz, 2003)**.

Desde la presencia de la enfermedad se vienen usando fungicidas sistémicos de los grupos de las Morfolinas, Estrobilurinas, Triazoles, Aminas, entre otros y fungicidas protectores (Mancozeb) en mezcla o en emulsión aceite agua. Se recomienda la mezcla de fungicidas sistémicos y protectores, rotando los fungicidas de diferente grupo químico para evitar el desarrollo de resistencia por parte del patógeno. Se deben seguir las recomendaciones del comerciante técnico (**Armas; citado por Coello, 2008**).

Las plantaciones grandes ponen mucha confianza en los controles químicos. Los programas de control están en su mayor parte basados en los fungicidas protectores como Mancozeb (usualmente aplicado en agua o en combinación con aceite) y clorotalonil. El Mancozeb se aplica en combinación o en rotación con Morfolinas, con inhibidores de demetilación (IDMs), o con fungicidas del grupo de las estrobilurinas (Qols). El clorotalonil se rota pero no se combina con otros fungicidas. Sin embargo, la resistencia a los fungicidas benzimidazoles, IDM y estrobilurinas, es muy común en muchas áreas de producción. Los fungicidas recomendados frecuentemente son aplicados por avión (**Ramírez; citado por Coello, 2008**).

El problema en este momento, radica principalmente en que el sistema *per se*, ha perdido vigencia, dada la enorme resistencia del patógeno a estos fungicidas. No obstante, se están probando fungicidas, que presentan algún grado de control a la enfermedad. El *Pyraclostrobin*, presenta un nivel de control similar al *Azoxistrobina* y *Trifloxistrobin* y el *Pyrimetanil*, ha mostrado buen control de la enfermedad, aunque apenas comparable con el fungicida protector. Sin embargo, podría ser una alternativa dentro de un programa normal de rotación o en mezcla con otros fungicidas, sobretodo sistémicos, ya que no presenta resistencia cruzada con los grupos conocidos (**Guzmán, 2002**).

4. Control Integrado

En el caso de pequeños y medianos productores de *Musas*, especialmente de plátano, el manejo integrado del cultivo se presenta como una alternativa rentable y ecológica para el control de los problemas sanitarios del cultivo y la creciente demanda de productos más

sanos. La manipulación del ambiente, modificando las condiciones físicas y nutricionales del filoplano, perjudica el establecimiento de patógenos, favoreciendo los antagonistas; el mecanismo requiere mayor investigación para determinar las variables nutricionales que intervienen en este proceso (**Morris y Rouse; citado por Coello, 2008**).

En el Ecuador las áreas dedicadas a la producción de plátano, aún ocupando una superficie importante (más en monocultivo) no está sometida al manejo intensivo del banano y se ha demostrado según reportes del **IPM-CRSP (2003)**, que la aplicación de prácticas integradas de manejo permite recuperar en buena medida la natural resistencia que posee el cultivo.

Según Vera et al. (2004), el paquete de manejo de la Sigatoka negra recomendado para el cultivo de banano en Ecuador, no se adapta al cultivo de plátano, el cual precisa de recomendaciones propias. Un adecuado control de la enfermedad puede ser logrado mediante el uso de técnicas de manejo integrado, siendo visible estas diferencias en el primer año de aplicación, acentuándose en los siguientes años.

En investigaciones realizadas en Ecuador acerca de Manejo Integrado de la Sigatoka negra en plátano, se determinó que es posible reducir la enfermedad significativamente, a través de un conjunto de prácticas agronómicas integradas de cultivo, incluso sin depender de la aplicación de fungicidas. Estos consisten en la realización de deshojes fitosanitarios quincenales en época lluviosa y mensuales en la época seca, así como también la realización de la poda de partes afectadas de la hoja (cirugía) con frecuencia semanal combinadas con prácticas como fertilización, descorme y repique de cormos, deshije y deschante, control de malezas, labores que contribuyeron a un adecuado control de la Sigatoka negra en plataneras tradicionales, ayudando a recuperar gradualmente la resistencia natural que posee el cultivo. Con este conjunto de prácticas, se triplicó la producción y se redujo la tasa de retorno del cultivo para beneplácito de los productores (**Suárez et al., 2003**).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Localización del estudio

La presente investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en el Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV); ubicado en la provincia de Los Ríos en el Km. 5 vía Quevedo – El Empalme. La Estación Experimental está situada entre las coordenadas geográficas 1° 06' Latitud Sur y 79°25' Longitud Occidental, con una altura promedio de 75 metros sobre el nivel del mar.

B. Características Climáticas

En el **cuadro 1**, se indican las condiciones meteorológicas y ecológicas de la Estación Experimental Tropical Pichilingue.

Cuadro 1. Condiciones meteorológicas y ecológicas de la EET. Pichilingue.

Parámetros	Valores promedios
Temperatura (°C)	24,80 *
Humedad relativa media (%)	84,00
Precipitación (mm anual)	2252,20
Heliofanía (hora luz/anual)	894,00
Zona ecológica	Bh-t

Fuente: Estación del INAMHI.

(*) Valores promedios registrados desde 1971 a 2009 en la Estación Meteorológica Pichilingue del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI).

C. Materiales y equipos

En este estudio se utilizarán diversos materiales, herramientas y equipos, los que se describen a continuación:

1. Materiales usados en la fase de Laboratorio

- Agar – agua
- Cajas Petrí (120)
- Cámara de flujo laminar
- PDA
- Pipetas
- Autoclaves

- Capsulas plásticas
- Bankit
- Alcohol al 75%
- Estreptomina
- Agua destilada estéril
- Hojas de plátano enfermas
- Fragmentos de hojas de plátano de 2 x 2 cm
- Tween 20
- 3B112
- Papel toalla
- Tijeras
- Grapadoras
- Papel filtro
- Mortero y pistilo
- Fundas plásticas
- Micropipeta de 100 μ L
- Vasos de precipitación
- Ecoflora
- Ecofungi
- Trichoeb 5w
- Erlenmeyer
- Probeta
- Mecheros
- Papel aluminio
- Algodón
- Bolígrafos, lápices y marcadores
- Libro de campo
- Fundas de papel
- Jabón
- Espátulas
- Balanza gramera
- Estufa
- Microondas
- Refrigeradora
- Incubadoras
- Microscopio
- Estereoscopio
- Cámara digital
- Contadores manuales
- Agitador
- Vortex
- Asas
- Cinta transparente
- Bisturíes

2. Materiales usados en la fase de Invernadero

- Plántulas de plátano Barraganete (60)
- Sustratos
- Inóculo de *M. fijiensis*
- Bankit
- 3B112
- Ecoflora
- Ecofungi
- Trichoeb 5w
- Cuarto de incubación
- Ligas
- Fundas plásticas (8 x 12 pulgadas)
- Libro de campo
- Lápices
- Marcadores
- Agua destilada estéril.
- Etiquetas
- Atomizador
- Vasos de precipitación (10 de 500ml.)
- Aspersora manual (2 lts.)
- Cápsulas plásticas

D. Factor en estudio

Tanto en las pruebas experimentales en condiciones *in vitro* e invernadero, se estudió un solo factor constituido por los productos Biorracionales; que se constituyen en los tratamientos en estudio, aplicados en tres ensayos que forman parte de la investigación.

E. Descripción metodológica

La investigación comprendió tres experimentos: Los dos primeros se realizaron bajo condiciones *in vitro*, en el laboratorio y el tercero se lo realizó en condiciones de invernadero. En el primer caso se colocaron los fragmentos de hojas infectadas a descargar en medio Agar-agua mezclado con cada uno de los productos biorracionales. En el segundo caso se asperjaron los fragmentos de hojas con cada uno de los productos biorracionales y luego se los dejó descargar sobre el medio Agar-agua. En el tercer caso se realizó aplicaciones de los productos biorracionales, antes y después de la inoculación de las plantas con *M. fijiensis*.

F. Productos en Estudio

En años recientes se han introducido al mercado una serie de productos “Biorracionales” y afines promovidos como eficaces contra diversos patógenos entre ellos *M. fijiensis*, pero de los que no existen estudios específicos locales los cuales se describen a continuación:

1. TRICHOEB 5WP (Acondicionador del suelo)

Este producto es fabricado por ECUABIOLÓGICA, casa comercial que indica que se debe utilizar en dosis de 150 g. del producto por hectárea. Es un fungicida biológico que contiene conidias del hongo *Trichoderma spp.* (*T. harcianium*, *T. viridae*). Se indica que tiene propiedades biorreguladoras, bioestimulantes y antagonistas de fitopatógenos. Ayuda a la absorción de micronutrientes, estimulando el crecimiento de la planta y además contribuye a activar sus mecanismos de defensa.

Su modo de acción está determinado por la competencia de nutrientes y espacio, parasitismo y antibiosis.

2. ECOFLORA (Acondicionador biológico)

Este producto es fabricado por MUNDO VERDE, casa comercial que recomienda utilizar de 500 a 1 Kg. / Ha. Es un producto 100% orgánico, promueve la supervivencia y el crecimiento de las plantas recién sembradas y las ya establecidas. Es un concentrado seco de microorganismos (*Bacillus subtilis*, *B. polymyxa*, *B. pumilus*, *Penibacillus exotofixans*, *Pseudomonas aureofaciociens*, *Streptomyces lybicious*, *Trichoderma harcianum*), aminoácidos esenciales, vitaminas, biotinas, ácido fólico y azúcares naturales.

Modo de acción: Se logra la exclusión competitiva, debido a que los microorganismos de ecoflora son más eficientes en la adquisición de nutrientes que los organismos patógenos. Por otra parte, excreta quitinasas, enzimas que degradan la quitina presente como componente estructural de la pared celular de hongos patógenos y finalmente presenta exudación de antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas en hongos patógenos, acciones éstas que le confieren actividad biocontroladora.

3. ECOFUNGI (Inoculante de micorrizas)

Este producto es fabricado por MUNDO VERDE, casa comercial que recomienda utilizar 250 g. / Ha. Es un concentrado de esporas de micorrizas en polvo. El tamaño de la partícula es inferior a 0.2 milímetros, que lo hace ideal para aplicaciones por rocío, por inmersión de raíces o por irrigación en suelos porosos. Tiene una concentración mínima garantizada de 280.000 esporas de micorrizas por kilogramo. Contiene esporas de tres especies de micorrizas, *Glomus aggregatum*, *Glomus intradices*, *Glomus mosseae*, seleccionadas por su compatibilidad con gran variedad de plantas, alto grado de colonización, adaptación a diversos suelos y a diferentes condiciones ambientales.

Modo de acción: Producen sustancias que estimulan el crecimiento de las raíces, mejoran la adquisición de nutrientes disponibles y limitantes (P, Zn, Cu,) y reducen los efectos estresantes causados por sequía, sales, pesticidas, temperaturas extremas, metales pesados (Al), y organismos patógenos.

4. (3b112) S.C. (Inhibidor de la esporulación de hongos)

Este producto es fabricado por IREC, casa comercial que recomienda utilizar 200 cc / Ha. Es un fungicida natural botánico de contacto, de alto poder, que actúa en varios sitios del hongo (multisitio). Ideal para ser utilizado en programas permanentes de manejo integrado de plagas y enfermedades (M I P E). Su fórmula a base de aceites esenciales (50%) y sales minerales (50%), hace que su fijación sea más rápida, aun no se especifica de que aceites y sales minerales esta compuesto el producto.

Modo de acción: Actúa como inhibidor de la esporulación de hongos fitopatógenos del orden de los *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*, favorece a mecanismos de defensa propios de la planta, no crea resistencia.

5. BANKIT (Fungicida sistémico) (Testigo referencial)

Este producto es fabricado por SYNGENTA AGRO, S.A. DE C.V. Se recomienda utilizar 400 cc / Há. Es un fungicida sistémico a base de Azoxistrobina con efectos preventivos y/o curativos. Fungicida que al ser aplicado en las hojas, es absorbido, presentando movimiento translaminar y un ligero movimiento a través de las nervaduras de la hoja vía xilema.

Modo de acción. Inhibe la esporulación y crecimiento de algunos patógenos causante de enfermedades en algunos cultivos. La *azoxystrobina* se comenzó a vender por primera vez en 1998, y es un fungicida sistémico de contacto, de amplio espectro, cuya actividad está dirigida contra los cuatro principales grupos de hongos patógenos: *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes* y *Oomycetes*. Inhibe la germinación de las esporas y el crecimiento miceliar. Según la agroquímica Zeneca Agro (de Syngenta), este fungicida pertenece a la nueva familia química de las estrobilurinas, compuestos naturales producidos por los hongos *Oudemansiella mucida* y *Strobilurus tenacellus*, que crecen en la madera en descomposición. Actúa contra numerosos hongos patógenos.

6. Testigo absoluto

Para el primer experimento el testigo absoluto fue el agar – agua, para el segundo experimento fue el fragmento de hoja sin asperjar los productos, y en el tercer experimento se usaron vitroplantas inoculadas con *Mycosphaerella fijiensis* con una solución micelial de 8×10^5 de concentración.

En el **cuadro 2**. Se presentan los tratamientos estudiados, la composición, concentración de cada uno de los productos biorracionales, la dosis recomendada por la casa comercial y las dosis utilizadas en la investigación.

Tratamientos	Composición y concentración	Dosis/ha recomendada por la casa comercial	Dosis utilizada en las fases de Laboratorio	Dosis utilizada en la fase de Invernadero
Trichoeb 5WP.	Polvo conteniendo esporas de <i>T. harzianum</i> y <i>T. viridae</i> .	150gr	0.2gr/150ml	0.4gr/250ml
Ecoflora	Es un concentrado seco de microorganismos benéficos <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. Polimyxa</i> , <i>B. Pumilus</i> , <i>Penibacillus extotofixans</i> , <i>Pseudomonas aureofaciociens</i> , <i>Streptomyces lybicious</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , aminoácidos esenciales, vitaminas, biotinas, ácido fólico y azúcares naturales.	1kg	2.5gr/150ml	5gr/250ml
Ecofungi	Es un concentrado de esporas de micorrizas en polvo. Contiene esporas de tres especies de micorrizas las cuales son de <i>Glomus aggregatum</i> , <i>Glomus intradices</i> , <i>Glomus mosseae</i> .	250gr	0.3gr/150ml	0.6gr/250ml
(Bankit) testigo referencial	Es un fungicida sistémico a base de Azoxistrobina con efectos preventivos y/o curativos.	400cc	1.2cc/150ml	1cc/250ml
3b112 S.C.	Concentrado líquido, botánico formulado a base de aceites esenciales (50%) y sales minerales (50%), hace que su fijación sea más rápida.	200cc	0.6cc/150ml	1cc/250ml

G. Primer experimento: Efecto de los productos biorracionales sobre la germinación de ascosporas del hongo *Mycosphaerella fijiensis* descargadas en medio agar – agua mas la dosificación del biorracional correspondiente.

1. Diseño Experimental.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), constituido por 6 tratamientos con 10 observaciones (cajas Petrí) por cada producto.

Cuadro 3. Análisis de varianza del primer experimento EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	t – 1	5
Error	t(r – 1)	54
Total	rt - 1	59

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Infostat, versión estudiantil 2012. Para la comparación de los promedios entre tratamientos se efectuó la prueba estadística de Tukey con un nivel de significancia del 95 % de probabilidad. Previo al análisis estadístico y de variancia las variables porcentaje de germinación y porcentaje del área foliar afectada fueron transformadas a $\sqrt{(x+1)}$, con el fin de homogenizar los datos.

2. Preparación del medio de descarga

Para el primer experimento se procedió a pesar 2,5g. de Ecoflora, 0,3g. de Ecofungi, 0,2g. de Trichoeb, y a medir 1,2cc de Bankit y 0,6cc de 3b112, para luego mezclar cada uno de los productos en 5ml de agua para que se disuelvan en su totalidad. Luego se procedió a preparar 145ml de medio Agar – agua al 2%, en donde se agregó los 5ml de cada producto disuelto en el agua, completando los 150ml del medio que se utilizó en cada tratamiento. En cada caja Petrí se colocó una alícuota de 15ml y se dejó solidificar para recibir las ascosporas del hongo.

3. Selección del material en el campo

Para la obtención de las descargas de ascosporas se colectó tejido foliar de plátano afectado por Sigatoka negra en el estadio seis, según la escala de Fouré (1985), que es el estadio que presenta gran cantidad de peritecios, ascas y ascosporas, esta metodología se utilizó para los dos experimentos de laboratorio.

4. Selección del material en el laboratorio

En el laboratorio se seleccionaron segmentos de hoja con la mayor cantidad de peritecios, se lavaron con agua destilada estéril y se colocaron dentro de fundas plásticas conteniendo papel toalla humedecido por espacio de 48 horas para homogenizar la maduración de los peritecios. Después de este tiempo, con la ayuda de una tijera se recortaron fragmentos de 2 x 2 cm de tejido infectado.

5. Descarga de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis*

Las secciones de tejido foliar necrosado se graparon a discos de papel filtro de 10 cm de diámetro, con el haz del fragmento pegado al disco. Por cada disco de papel filtro se utilizó un fragmento de tejido necrosado, el mismo que se sumergió en agua destilada estéril durante 5 minutos. Inmediatamente después se los colocó dentro de las tapas de las cajas Petrí, de forma, que el envés de los fragmentos quedó expuesto al agar-agua al 2%, en combinación con cada uno de los productos estudiados, contenido en la caja Petrí, y se dejó descargar por media hora. Luego de este tiempo se procedió a retirar el papel filtro para proceder al conteo de las ascosporas descargadas en el medio, en cada tratamiento.

6. Variables registradas

6.1 Total de ascosporas descargadas (TAD)

Se contabilizó el total de ascosporas descargadas en el tiempo de media hora en cada uno de los tratamientos. Esta variable se contabilizó con la ayuda de un microscopio provisto de

cuatro lentes ópticos, usando el lente ocular de 16x para identificar las ascosporas en donde se tomó como área de evaluación el campo ocular.

6.2 Porcentaje de ascosporas germinadas (%)

Se contabilizó el número de ascosporas germinadas a las dos horas después de realizar las descargas, para luego obtener con la ayuda del microscopio usando el lente ocular de 16x. El porcentaje correspondiente de ascosporas germinadas en cada uno de los tratamientos, se calculo mediante la formula:

$$\frac{\text{A.G.}}{\text{T.A.D.}} \times 100$$

En que A.G es = Ascosporas Germinadas y
T.A.D es = Total Ascosporas Descargadas.

H. Segundo experimento: Eficacia de los productos Biorracionales sobre la esporulación de *M. fijiensis*, asperjando los fragmentos de descargas con los productos biorracionales antes de realizar las descargas de las ascosporas del hongo.

1. Diseño Experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), constituido por 6 tratamientos con 10 observaciones (cajas Petrí) por cada producto. El esquema del análisis de varianza se presenta en el cuadro 4.

Cuadro 4. Análisis de varianza del segundo experimento EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	t – 1	5
Error	t(r – 1)	54
Total	rt – 1	59

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Infostat, versión estudiantil 2012. Para la comparación de los promedios entre tratamientos se efectuó la prueba estadística de Tukey con un nivel de significancia del 95 % de probabilidad. Previo al

análisis estadístico y de variancia las variables porcentaje de germinación y porcentaje del área foliar afectada fueron transformadas a $\sqrt{(x+1)}$, con el fin de homogenizar los datos.

2. Descripción de Metodología

Se procedió a asperjar los fragmentos de hojas afectados por el hongo, con cada uno de los productos estudiados, para luego proceder a realizar las descargas de las ascosporas de *M. fijiensis* al medio Agar – Agua al 2 por ciento.

3. Preparación de los productos

Se procedió a pesar y a medir la dosis de cada uno de los productos estudiados, luego se los mezcló en 20ml de agua estéril, y se los disolvió en su totalidad para colocarlos en el atomizador manual con el cual se asperjaron los fragmentos de tejidos afectados con Sigatoka negra.

Se preparó 900ml de Agar – Agua al 2%, medio que luego se lo colocó en el autoclave por espacio de 20 minutos, se lo dejó enfriar y se procedió a colocar una alícuota de 15ml en cada caja Petrí, para finalmente dejarlas en la cámara de flujo laminar hasta que el medio de descarga se solidifique para recibir las ascosporas del hongo.

4. Selección del material en el campo

Se utilizó la misma técnica descrita en el primer experimento.

5. Selección del material en el laboratorio

El tejido de hoja necrosado recolectado se lavó con agua destilada estéril, luego se incubó a temperatura ambiente dentro de fundas plásticas de 5kg, conteniendo papel toalla humedecido por espacio de 48 horas para homogenizar la maduración de los peritecios.

Después de las 48 horas de incubación, se recortaron fragmentos de 2x2cm del material afectado.

6. Descarga de ascosporas

Los fragmentos de tejido necrosado se graparon a un disco de papel filtro de 10cm de diámetro, con el haz del fragmento pegado al disco. Por cada disco se utilizó un fragmento de tejido necrosado. Los fragmentos de hoja se asperjaron con cada uno de los productos biorracionales con la ayuda de un atomizador manual, antes de colocarlos en las tapas de las cajas Petrí, donde se dejaron por el tiempo de media hora para que las ascosporas sean descargadas sobre el medio de cultivo Agar – Agua al 2%. Posteriormente, se retiraron los discos de papel filtro con las secciones de hoja necrosadas.

7. Variables registradas

7.1 Número de ascosporas descargadas (#AD)

Se contabilizó el número total de ascosporas descargadas en el tiempo de media hora en cada uno de los tratamientos. Este conteo se realizó con la ayuda de un microscopio, tomándose como área de evaluación el campo ocular, utilizando un lente óptico con aumento de 16x para identificar las ascosporas.

7.2 Porcentaje de germinación (%)

Se contabilizó el número de ascosporas germinadas y no germinadas en el tiempo de dos horas en cada uno de los tratamientos. Este proceso se lo realizó tomando como área de evaluación el campo ocular utilizando un lente óptico con aumento de 16x para identificar las ascosporas.

I. Tercer experimento: Eficacia de los productos biorracionales para reducir la incidencia de Sigatoka negra en plántulas de plátano barraganete.

1. Diseño experimental

Los tratamientos utilizados en el presente ensayo consideraron dos factores. El primer factor correspondió a las etapas de pre y post inoculación del patógeno (*M. fijiensis*) y el segundo factor por la aspersión de los productos Biorracionales en estudio. Para el efecto, se utilizó

un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial de 2 x 6 con 5 observaciones (repeticiones). El esquema del análisis de varianza se presenta en el cuadro 5. Para la diferencia de las medias de los tratamientos, se empleó la prueba de rangos múltiples Tukey al 95% de la probabilidad.

Cuadro 5. Análisis de varianza

Fuente de variación		Grados de libertad
Factor 1 (tratamiento)	$t - 1$	5
Factor 2 (inoculación)	$i - 1$	1
Factor 1 x Factor 2	$(t - 1) (i - 1)$	5
Error	$ti (r - 1)$	48
Total	$tir - 1$	59

2. Descripción de Metodología

Se procedió a realizar pre y post inoculaciones, tanto de *M. fijiensis* como de los productos estudiados, en plántulas de plátano Var. *Barraganete* (AAB).

3. Obtención de vitroplantas para la inoculación

Para la prueba de invernadero se utilizaron vitroplantas de plátano Var. *Barraganete* (AAB) de 10 semanas de edad, reproducidas y multiplicadas en el laboratorio de Biotecnología de la EET-Pichilingue del INIAP, las mismas que fueron sembradas en fundas de 8 x 12 pulgadas, que contenían un sustrato compuesto por tierra de montaña y aserrín de balsa en relación 4:1, respectivamente. Se uso un total de 60 plantas, 30 para aplicar los biorracionales antes de inocular *M. fijiensis* y 30 para aplicar los biorracionales después de la inoculación del hongo.

4. Origen y aislamiento del patógeno

Para el aislamiento del patógeno, se utilizó la técnica descrita por Stover (1976). Se recolectó tejido foliar de plátano afectado por la enfermedad en el estadio seis, según la escala de Fouré (1985). En el laboratorio se seleccionaron segmentos de hoja con la mayor cantidad de peritecios, se lavaron con agua destilada estéril y se colocaron dentro de fundas plásticas con papel toalla humedecido por 48 horas para homogenizar la maduración de los

peritecios. Después de este tiempo, se recortaron fragmentos de 2 x 2 cm, se graparon a discos de papel filtro de 10 cm de diámetro con el haz pegado al disco, que luego se sumergieron en agua destilada estéril por 5 minutos. Inmediatamente después se los colocó dentro de las tapas de las cajas Petrí, de forma, que el envés de los fragmentos quedó expuesto al agar-agua (2%) contenido en la caja petrí, y se dejó descargar por 2 horas. Seguidamente se colocaron en incubación (26 °C) también por 48 horas en total oscuridad para estimular la germinación de las ascosporas.

Las ascosporas germinadas se capturaron individualmente con la ayuda de una aguja de disección estéril, y se transfirieron a PDA (2%), manteniéndolas en incubación a 26 °C por 20 días, en condiciones de total oscuridad (**Barcos, 2009**). Estas colonias se trasfirieron a cajas Petrí conteniendo medio sólido PDA-V8 (PDA + 25 ml de jugo V8) y se mantuvieron en incubación por 20 días en condiciones de luz constante a 26 °C para estimular la esporulación (**Alvarado *et al.* 2002; Intriago 2009**).

5. Preparación del inóculo

Las colonias de micelio formadas en el medio V8 líquido, se separaron del líquido a través de cuatro capas de gazas estériles, se maceraron en un mortero con agua destilada estéril mas Tween 20, se agitaron en vortex y se las volvió a filtrar a través de dos capas de gaza. Así mismo la concentración se determinó con un hemacitómetro ajustándose para esta prueba a 8×10^5 fragmentos de micelio/mL. Finalmente a ambas suspensiones se les agregó gelatina (1%) para que se adhiriera mejor a la superficie de las hojas y de los fragmentos en el momento de la inoculación.

6. Inoculación de vitroplantas

La inoculación se realizó mediante un atomizador manual conteniendo la suspensión calibrada de esporas del organismo, cubriendo toda la superficie inferior (envés) de la hoja número uno (última hoja en abrirse completamente) de cada planta.

Terminado el proceso de inoculación, las plantas fueron colocadas en un cuarto húmedo donde permanecieron por espacio de tres días con una humedad al 100 por ciento.

Las plantas se mantenían bajo condiciones de invernadero, donde recibieron riego por aspersión sobre el follaje por un periodo de dos horas al caer la tarde. En el siguiente día se realizó riegos cada 3 horas por 30 minutos hasta que completaron 48 horas post inoculación. Después de este tiempo, el riego se suministró por dos horas diarias siempre al final del día, durante 60 días. Esto permitió mantener la humedad ambiental alrededor del 100% durante la noche, cayendo durante el día, garantizando así una alternancia de humedad, necesaria para el desarrollo de los síntomas de la enfermedad.

7. Aplicación de los productos

Se aplicaron los productos con la ayuda de una aspersora manual de 2 l, disolviendo cada uno de los productos en 250ml. de agua y se colocaron posteriormente a la aspersora manual para aplicarlos en el follaje de las plantas.

8. Formas de aplicación

8.1 Se inoculó *M. fijiensis* y después de dos días se aplicaron los productos estudiados.

8.2 Se aplicaron primero los productos estudiados y luego de dos días se inoculó *M. fijiensis*.

La evaluación se realizó al tercer día después de realizar la inoculación tanto del hongo como de los productos biorracionales siguiendo la escala de Romero (2005).

9. Variables registradas

9.1 Período de incubación (PI)

Se contabilizó el número de días desde el momento de la inoculación hasta la aparición del primer síntoma en cada uno de los tratamientos en estudio.

9.2 Área afectada (%)

Se calculó el porcentaje del área afectada utilizando la escala de Romero (2005), a los 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días, después de la inoculación.

IV. RESULTADOS

A. Efecto de los productos biorracionales sobre la germinación de las ascosporas del hongo *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua más la dosificación del biorracional correspondiente bajo condiciones de laboratorio.

Este primer ensayo consta de dos variables que son número de ascosporas descargadas en el medio agar agua y el porcentaje de germinación de ascosporas, esta última basado en una operación de matemática básica que determina el porcentaje de ascosporas germinadas.

El ADEVA para el número de ascosporas descargadas no presentó diferencia estadística entre los tratamientos. Mientras que, en la variable porcentaje de ascosporas germinadas si se observa diferencia estadística significativa, tal como se muestra en el cuadro del apéndice 1. El tratamiento con 3B112 S.C. obtiene 0% de ascosporas germinadas, lo que indica que este tratamiento es el de mejor resultado ya que no germinó ninguna ascospora, seguido de los testigos, BANKIT que apenas obtiene el 8% de ascosporas germinadas; el TESTIGO (absoluto) y el tratamiento con el producto TRICHOEB 5WP, no presentan diferencia estadística y obteniendo porcentajes de 90 y 94%, respectivamente. En los últimos puestos se ubican los productos de Mundo Verde ECOFLORA y ECOFUNGI con 100% de germinación cada uno, y no existiendo diferencias estadísticas entre ellos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Número de ascosporas descargadas y porcentaje de ascosporas germinadas en ensayo de determinación del efecto de cinco productos “Biorracionales” sobre *Mycosphaerella fijiensis*, en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

TRATAMIENTOS	VARIABLES	
	Ascosporas descargadas	Ascosporas germinadas (%)
3B112 S.C.	25	0 a
BANKIT	25	8 b
TESTIGO	29	90 c
TRICHOEB 5WP	27	94 c
ECOFLORA	29	100 d
ECOFUNGI	29	100 d

Porcentajes de diez cajas Petri evaluadas y analizadas en el programa INFOSSTAT.

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

B. Eficacia de los productos Biorracionales sobre la esporulación de *M. fijiensis*, asperjando los fragmentos de tejido infectados con cada uno de los productos biorracionales y dejando descargar las ascosporas en medio sólido agar agua.

En el segundo experimento para las variables número de ascosporas y porcentaje de germinación de ascosporas, se determinó que existe diferencia estadística significativa, tal como se muestra en el cuadro del apéndice 2 y según la prueba de Tukey (Cuadro 7).

En la variable número de ascosporas descargadas, los mejores niveles se presentan entre los tratamientos BANKIT (testigo referencial) y 3B112 S.C. (16 y 17, respectivamente), seguido de los tratamientos TRICHOEB 5WP con 25, ECOFLORA con 27, ECOFUNGI con 28 y el TESTIGO (absoluto) con 29 (Cuadro 7).

En la variable porcentaje de ascosporas germinadas, los niveles más óptimos se presentan en el tratamiento 3B112 S.C. con 49,13% de ascosporas germinadas seguido del testigo referencial BANKIT con 68,54%, luego de este le sigue el TESTIGO (absoluto) con 87,74%, TRICHOEB 5WP con 93,12% y por último no existiendo diferencia entre ellos los productos de mundo verde ECOFLORA y ECOFUNGI con 100% de ascosporas germinadas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Número de ascosporas descargadas y porcentaje de ascosporas germinadas en ensayo de determinación del efecto de cinco productos “Biorracionales” sobre *Mycosphaerella fijiensis*, en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

TRATAMIENTOS	VARIABLES			
	Ascosporas descargadas		Ascosporas germinadas (%)	
3B112 S.C.	17	a	49,13	a
BANKIT	16	a	68,54	b
TESTIGO	29	b	87,74	c
TRICHOEB 5WP	25	b	93,12	c d
ECOFLORA	27	b	100,00	d
ECOFUNGI	28	b	100,00	d

Porcentajes de diez cajas Petrí evaluadas y analizadas en el programa INFOSTAT.

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

C. Eficacia de los productos Biorracionales para reducir la incidencia de Sigatoka negra en plántulas de plátano barraganete con la pre y post inoculación del patógeno.

En el tercer experimento, se observaron las siguientes variables Período de incubación, Porcentaje del área afectada. En el (cuadro 8) se muestra que si existen diferencias estadísticas significativas para las variables periodo de incubación y área afectada.

En la variable período de incubación, el testigo referencial BANKIT mostró el periodo de incubación más extenso con 26 días, por lo que se diferencia del resto, seguido del tratamiento 3B112 S.C. con 20 días, los productos de Mundo Verde, ECOFLORA y ECOFUNGI con 15 y 15 días, respectivamente, quedando en el último puesto y presentando los períodos más cortos, los productos TRICHOEB 5WP con 13 días y el TESTIGO (absoluto) con 12 días (Cuadro 8).

Analizando la variable área afectada, se observa que el testigo referencial BANKIT presenta el menor área con 15,25%, seguida del 3B112 S.C. con 16,81%, los productos ECOFLORA y ECOFUNGI con 18,37% para ambos, en penúltimo lugar el producto TRICHOEB 5WP con 24,97%, el producto que más área afectada presentó fue el TESTIGO (absoluto) con un 25,40% (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de los productos biorracionales en el período de incubación de Sigatoka negra y porcentaje del área afectada en ensayo en la determinación del efecto de cinco productos “Biorracionales” sobre *Mycosphaerella fijiensis*, en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

TRATAMIENTOS	VARIABLES			
	PI		AA (%)	
BANKIT	26	a	15,25	a
3B112 S.C.	20	b	16,81	b
ECOFLORA	15	c	18,37	c
ECOFUNGI	15	c	18,37	c
TRICHOEB 5WP	13	d	24,97	d
TESTIGO	12	d	25,40	e

Porcentajes de diez vitroplantas evaluadas y analizadas en el programa INFOSTAT.

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

(PI) Periodo de incubación

(AA) Área afectada

Por otro lado, al analizar el efecto de los productos biorracionales en la etapa de pre y post inoculación de *Mycosphaerella fijiensis* (Mf) se observa en el (cuadro 9) que si existió diferencia estadística, dando como resultado para las dos variables estudiadas periodo de incubación y área afectada una marcada diferencia de la aplicación de Mf pre + Prod sobre la aplicación de Prod + Mf post. El tratamiento “Mf pre + Prod” consistió en inocular las esporas de *M. fijiensis* y luego aplicar los productos, y el tratamiento “Prod + Mf post” primero se aplicaron los productos y luego las esporas de *M. fijiensis*.

Cuadro 9. Efecto de la aplicación de los productos biorracionales en la etapa de pre y post inoculación de *M. fijiensis*, respecto al período de incubación y porcentaje del área afectada, en ensayo de determinación del efecto de cinco productos “Biorracionales” sobre *M. fijiensis*, en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

TRATAMIENTOS	VARIABLES			
	Periodo de incubación		Área afectada (%)	
Mf. pre + Prod.	17	a	18,38	a
Prod + Mf. Post	16	b	21,34	b

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

En la figura 5 relacionada a la variable período de incubación, se aprecia que tanto la aplicación previa como post inoculación de la esporas de *M. fijiensis*, tienen un comportamiento similar en ciertos productos, no así en 3B112 S.C. y BANKIT, en que la aplicación del producto posterior a la inoculación de las esporas del patógeno dio mejores resultados con valores de 21 y 27 días, respectivamente. Cabe recalcar también que el testigo referencial BANKIT, fue superior a todos los otros tratamientos, tanto en la aplicación previa como en la post aplicación de las conidias de *Mycosphaerella fijiensis* (Apéndice, cuadro 4).

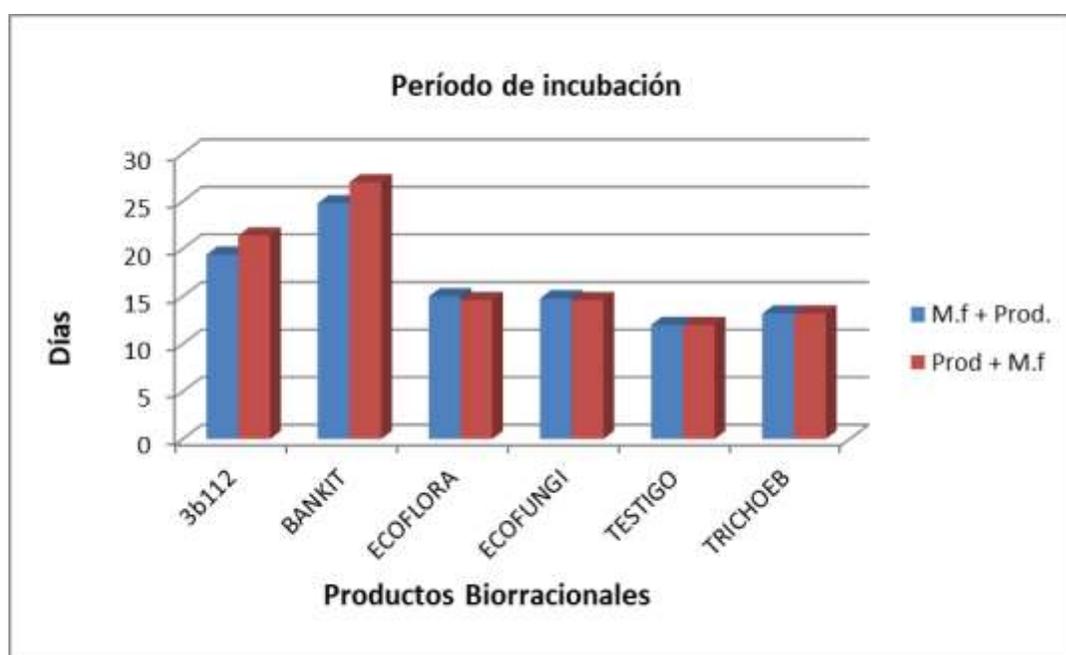


Figura 5. Interacción del producto con la inoculación de *M. fijiensis* en la Variable Período de incubación EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

En la figura 6, se puede observar que la aplicación de los productos biorracionales luego de la inoculación de las esporas de *M. fijiensis* presentaron en su mayoría un menor porcentaje del área afectada. No así en el TESTIGO (absoluto) que no hubo diferencias, y en el TRICHOEB 5WP en que la menor área afectada se presenta cuando primero se realizó la aplicación del producto y luego las ascosporas del hongo. (Apéndice, cuadro 4).

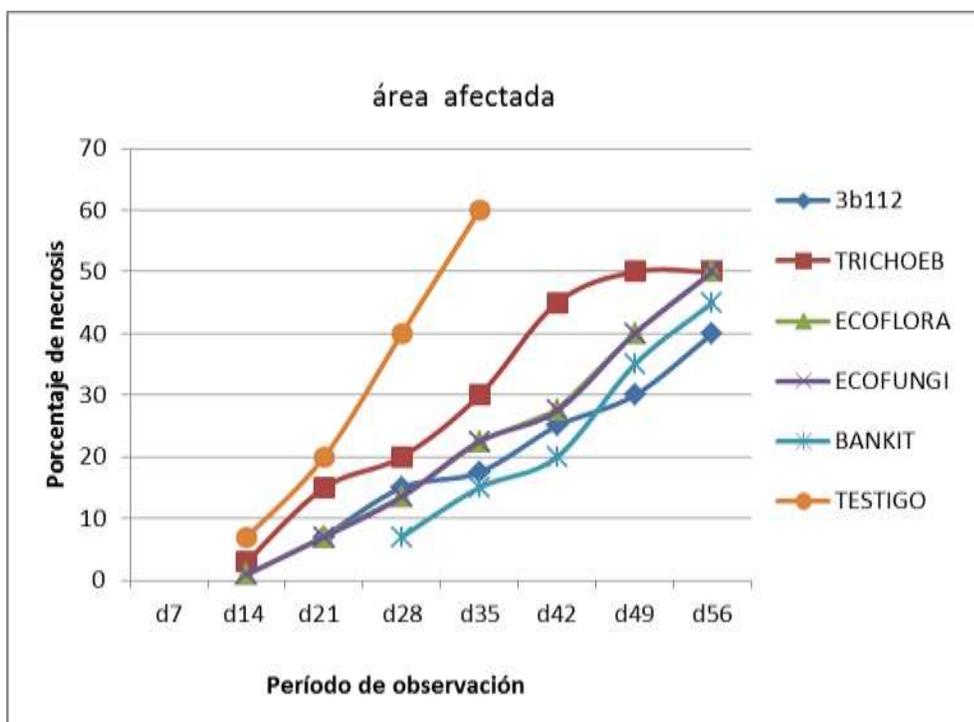


Figura 6. Interacción del producto con la inoculación de *M. fijiensis* en la variable área afectada EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

V. DISCUSIÓN

En el primer y segundo experimento realizado a nivel de laboratorio los resultados tienen gran similitud, utilizando pequeños fragmentos de hojas de *Musa spp* que presentaban estrías de Sigatoka negra en el estadio 6. Para el primer experimento se realizó la descarga de las esporas sobre medio agar agua, que contenía cada uno de los productos biorracionales estudiados donde se determinó su eficacia sobre el desarrollo del hongo, para el segundo experimento los fragmentos de hojas infectados fueron asperjados con los productos biorracionales estudiados, donde se determinó el efecto sobre la germinación de las esporas del patógeno. Sin embargo pese a estos dos diferentes métodos de aplicación de los productos los resultados fueron estadísticamente iguales. El producto 3B112 S.C. presentó el menor número de ascosporas germinadas siendo el dominador absoluto, seguido del testigo referencial BANKIT, TRICHOEB y por último los productos ECOFLORA y ECOFUNGI. Dados estos antecedentes, siendo el producto 3B112 un fungicida botánico de contacto y el testigo referencial BANKIT un fungicida sistémico, ambos son inhibidores de esporas se justificaría que hayan sido los de mejor resultado. Después del testigo referencial le sigue un fungicida biológico que su modo de acción es la competencia, así también los productos ECOFLORA y ECOFUNGI que son orgánicos y su función principal no es la de un fungicida. Estos datos comparados con los obtenidos por García (2003) son superiores, ya que este último reporta que el 75 % de las ascosporas germinaron con el producto BANKIT mientras que en la presente investigación apenas alcanzó 68,54%. Por otra parte, en cuanto a los resultados obtenidos en el tratamiento TRICHOEB 5WP a base de conidias de *Trichoderma spp* enunciamos lo expuesto por Arzate, *et al* (2006) manifiesta que de 25 cepas nativas de *Trichoderma spp* se seleccionaron ocho que presentaron inhibición en el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*. Las cepas J20, J25, J24, J7, J12 y J11 tuvieron el antagonismo más agresivo, inhibiendo el desarrollo y crecimiento sobre el fitopatógeno además de tener un potencial de biocontrol.

En el tercer experimento donde se utilizaron vitroplantas de plátano cv. Barraganete, el testigo referencial BANKIT mostró un efecto superior estadísticamente seguido de 3B112 S.C. En tercer lugar y sin diferencia estadística se ubicaron los productos ECOFLORA y

ECOFUNGI, luego el TRICHOEB y por ultimo el TESTIGO absoluto. El BANKIT un producto sistémico con acción preventiva como curativa, lo que puede indicar su diferencia estadística con el resto de productos estudiado. El producto que le sigue en eficiencia es un fungicida de contacto 3B112 S.C, que inhibe la formación de las esporas, lo que podría ser la razón por la cual estos dos productos presentaron los periodos de incubación mas largos y una menor área afectada. García (2003), el BANKIT posee un mayor efecto protectante, su translocación es vía xilema a distancias mas largas del punto de aplicación. Los ingredientes activos, afloran por difusión a la superficie de la hoja en dirección al movimiento xilemático inhibiendo la germinación de ascosporas hasta 9 días después de ser aplicado, pero no hay efecto sobre la inhibición de esporas para áreas adyacentes en dirección al floema. Por último, los productos orgánicos son una buena alternativa preventiva, más que curativa, ya que estos tienen un modo de acción por competencia de alimentos y por contaminación por sus excretas ya que provienen de microorganismos.

La metodología usada (una sola aplicación de los productos, seguido por la inoculación de *M. fijiensis*), provocó el daño total de las hojas, posiblemente por la concentración del inóculo, lo que no permitió observar efecto en las etapas finales ni siquiera con Bankit. Sin embargo nos da la pauta para usar más aplicaciones del producto en pruebas posteriores.

Con los antecedentes expuestos a excepción del tercer experimento, el producto 3B112 S.C. sobresale en la investigación. Sin embargo, al analizar el tercer experimento este producto se ubica por debajo del BANKIT, en que permite aceptar la hipótesis planteada en la presente investigación que dice; ***“Existen productos biorracionales capaces de controlar la Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis) en Musáceas y permitir por tanto la reducción del uso de moléculas químicas y su efecto nocivo en el ambiente de las plantaciones, manteniendo sus niveles de productividad”.***

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación se emiten las siguientes conclusiones y recomendaciones.

A. Conclusiones

1. El testigo referencial BANKIT continúa siendo un producto adecuado para el manejo de Sigatoka negra en *Musas*. El producto presentó los mejores resultados sobre la reducción de la incidencia de la Sigatoka negra en plántulas de plátano cv. *Barraganete (AAB)*, en las dos variables estudiadas.
2. Los biorracionales ECOFLORA y ECOFUNGI, al igual que el TRICHOEB 5WP, se presentan como una posibilidad de control de *M. fijiensis* especialmente en condiciones de baja incidencia de la enfermedad de modo que se reduce el uso de productos químicos (Bankit) susceptibles de desarrollar resistencia del patógeno.
3. El producto 3B112 S.C. presentó los mejores resultados en la inhibición de la germinación sobre la germinación del hongo *Mycosphaerella fijiensis* en medio Agar-agua. Sin embargo, es un producto que aun no es comercial.
4. Independientemente del producto usado, todos ejercieron una actividad más bien protectora, reduciendo la acción del hongo en presencia del producto, la excepción fueron 3B112 S.C. y BANKIT que tuvieron adicionalmente cierta acción terapéutica.
5. Los productos usados presentan buena actividad antifúngica aun en presencia inicial del hongo, por lo tanto pueden usarse a nivel de campo en periodos de alta incidencia, con alta posibilidad de control aunque ya el hongo se haya en la planta. Esta acción es más visible con el BANKIT y el 3B112 S.C.

B. Recomendaciones

- 1.** Se recomienda que se gestione el registro oficial del producto 3B112 S.C. que presento los mejores resultados.
- 2.** Continuar con investigaciones de estos productos biorracionales, para desarrollar nuevas alternativas orgánicas para reducir o eliminar el uso de productos químicos.
- 3.** Repetir esta investigación a nivel de campo para confirmar resultados de su comportamiento en plantaciones establecidas.
- 4.** Probar programas de fumigación de *Musas* combinando los productos biorracionales con la estrategia de manejo integrado del cultivo.

VII. RESUMEN

La Sigatoka negra es una enfermedad foliar causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* que ataca al cultivo de banano y plátano en el mundo, generando grandes pérdidas en producción, con alta inversión en agroquímicos como método efectivo de control. Por ello, es importante desarrollar alternativas que permitan reducir el costo económico y ambiental. El uso de controladores biológicos, genéricamente conocidos como “biorracionales”, para el manejo alternativo de la Sigatoka negra en el cultivo de plátano, podría ser una estrategia promisorio de control. El presente estudio fue realizado en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP y tuvo como objetivo estudiar la eficacia de cinco productos biorracionales para el manejo de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) en el cultivo de plátano (*Musa AAB*) a nivel de laboratorio e invernadero. Los productos biorracionales estudiados son: TRICHOEB 5WP (Acondicionador del suelo), ECOFLORA (Acondicionador biológico), ECOFUNGI (Inoculante de micorrizas), 3b112 S.C. (Inhibidor de la esporulación de hongos) y el BANKIT (Fungicida sistémico). En los ensayos de laboratorio se midieron las variables, total de ascosporas descargadas, y el porcentaje de germinación, y en el ensayo de invernadero se midió el periodo de incubación (**PI**), y el porcentaje del área afectada (**AA**), de acuerdo a la escala descrita por Romero 2005. Para los dos primeros ensayos se utilizó un Diseño Completamente al Azar (**DCA**) y para el tercer ensayo se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial de 2 x 6 con 5 observaciones. Para la diferencia de las medias de los tratamientos, se empleó la prueba de rangos múltiples Tukey al 95% de la probabilidad. En el primer ensayo el efecto del producto 3B112 S.C. sobre la germinación del hongo *M. fijiensis* en medio agar agua, obtuvo los mejores resultados. En el segundo ensayo el producto 3B112 S.C. presentó la mejor eficacia sobre la formación del hongo *M. fijiensis* en fragmentos de hoja respecto al número de ascosporas y porcentaje de ascosporas germinadas. En el tercer ensayo, el Bankit presentó la mayor eficacia sobre la reducción de la incidencia de la Sigatoka negra en plántulas de plátano cv. Barraganete (*AAB*), respecto al periodo de incubación y porcentaje de área afectada, seguido del tratamiento 3B112 S.C.

SUMMARY

The Black Sigatoka is a leaf disease caused by the fungus *Mycosphaerella fijiensis* that attacks the banana and plantain in the world, causing great losses in production, with high investment in agrochemicals as an effective method of control. It is therefore important to develop alternatives to reduce the economic and environmental cost. The use of biological controls, generically known as "biorational" for alternative management of black Sigatoka in banana cultivation could be a promising strategy for control. This study was conducted at the Experimental Station INIAP Pichilingue Tropical and aimed to study the effectiveness of five biorational products for the management of black Sigatoka (*M. fijiensis*) in the cultivation of plantain (*Musa AAB*) in the laboratory and emissions. Biorational products studied are: TRICHOEB 5WP (soil conditioner), EcoFlora (Conditioner biological), ECOFUNGI (mycorrhizal inoculant), 3b112 SC (Inhibitor of sporulation of fungi) and BANKIT (systemic fungicide). In laboratory tests variables were measured, total ascospores discharged, and the percentage of germination, and in the greenhouse trial measured the incubation period (IP), and percentage of the affected area (AA) of According to the scale described by Romero 2005. For the first two trials used a completely randomized design (CRD) and the third trial used a completely randomized design with factorial arrangement of 2 x 6 with 5 observations. For the difference of treatment means, we used the Tukey multiple range test at 95% probability. In the first test the effect of product 3B112 SC on the germination of the fungus *M. fijiensis* in water agar, obtained the best results. In the second trial the product 3B112 S.C. presented the best efficiency on the formation of the fungus *M. fijiensis* in leaf fragments on the number of ascospores and percentage of germinated ascospores. In the third trial, showed the highest efficiency Bankit on reducing the incidence of black Sigatoka in banana seedlings cv. Barraganete (AAB), with respect to the incubation period and percentage of affected area, followed by treatment 3B112 SC.

VIII. BIBLIOGRAFIA CITADA

Armijos, F. ed. 2008. Principales Tecnologías Generadas para el Manejo del Cultivo de Banano, Plátano y otras Musáceas. Guayaquil, EC, INIAP, Estación Experimental Boliche, Programa Nacional de Banano, Plátano y otras Musáceas. 64 p. (Boletín Técnico N°.131).

Arzate, J; Michel, A; Domínguez, V; Santos, O. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. Sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Agente Causal de la Sigatoka negra del plátano (*Musa sp.*) in Vitro e Invernadero. Obregón Revista Mexicana de Fitopatología. 24 (002): 98 – 104.

Barcos, M. 2009. Determinación de la influencia de calcio, cobre y boro en el desarrollo de plantas micropropagadas de banano variedad Williams, e inoculadas con conidias y concentrado crudo tóxico de *Mycosphaerella fijiensis*. Tesis M.Sc. Guayaquil, EC. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. 78 p.

Barrios, M. 2006. Estudio de hongos endófitos como inductores de resistencia para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) en plátano. Tesis M.Sc. Turrialba, CR. Escuela de Posgraduados. CATIE. 56 p.

Belalcázar, S. 2000. Reacción de variedades mejoradas al ataque de Sigatoka negra. CII (IDRC) INIBAP-Inpofos (eds) Produmedios. 192-214 p.

Bornacelly, H. 2009. Estudio del ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis* en tres clones de banano (*Musa AAA*) en tres regiones de la zona bananera del Magdalena. Tesis M.Sc. Palmira, CO. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 70 p.

Cedeño, G. 2010. Evaluación del comportamiento de doce cultivares de *Musa* spp, inoculados con *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agente causal de la Sigatoka negra. Tesis Ing. Agr. Quevedo, EC, Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería Agronómica. 77 p.

Coello, R. 2008. Evaluación de tres productos de bajo impacto ambiental para el control integrado de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) en plantaciones de banano orgánico Tesis Ing. Agrop. Guayaquil, EC, Escuela Superior Politécnica del Litoral. ESPOL. 18 – 70 p.

Díaz, A. 2003. Desarrollo y evaluación de métodos para tamizado temprano de resistencia a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, en Cultivares de Plátano. Tesis M.Sc. Turrialba, CR. CATIE. 66 p.

Espinoza, L. 2007. 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. Ecuador. Tesis, Ing. Agrop. Guayaquil, EC, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. 88p.

Fernández, A. 2006. El cultivo del banano en el Ecuador. Cultivo, Plagas y Enfermedades. 2 ed. Machala, EC. GRAFIRAM. 292 p.

FHIA (Fundación Hondureña de Investigación Agrícola) 2012. Programa de Banano y Plátano (en línea) Honduras, C.A. Consultado 27 de feb. 2012 Disponible en: http://www.fhia/banano_y_platano.html.

Fouré, E. 1985. Black leaf streak disease of Bananas and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.), study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. Paris, FR. IRFA-CIRAD. 23 p.

Freitez, J. 2007. Desarrollo de un modelo predictivo del brote de la Sigatoka negra para las plantaciones de plátano al sur del lago de Maracaibo. Tesis Ing. Agr. Mérida, VE, Universidad de los Andes Mérida, 22 p.

García, E. 2003. Estudio comparativo de translocación y difusión hacia la superficie foliar de azoxistrobina y bitertanol en hojas de banano, y su efecto en la germinación de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis* en áreas adyacentes no tratadas. Tesis Ing. Agr. S.C. Guatemala, Universidad San Carlos, 76p.

Guzmán, M. 2002. Situación de la Sigatoka Negra en Costa Rica y opciones para el manejo de la enfermedad. Memorias ACORBAT. Cartagena de Indias, CO, 27 de Octubre - 2 de Noviembre. p. 18-191.

Herrera, J.; Naranjo, M. 2007. Evaluación del efecto de dos inductores de resistencia sobre el desarrollo de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y el crecimiento de plantas de banano (*Musa AAA*). Tesis Ing. Agr. San José, CR, Universidad EARTH, 67p.

INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) 2009. Toda la información estadística en un solo sitio Web (en línea) Quito, EC Consultado 9 sep. 2010 Disponible en: <http://www.ecuadorencifras.com/cifras-inec/main.html>

Intriago, L. 2009. Identificación y evaluación en laboratorio e invernadero de microorganismos antagonistas de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en musáceas en el litoral ecuatoriano. Tesis Ing. Agro. Portoviejo, EC. Universidad Técnica de Manabí. Facultad de Ingeniería Agronómica. 90 p.

IPM/CRSP (Integrated Pest Management/Collaborative Research Support Program). 2003. Tenth Annual Report 2002 – 2003. Blacksburg, US. p. 374 – 380.

Kirk, P. M.; Cannon, P. T.; David, J. C.; Stalpers, J. A. 2001. Dictionary of the fungi. Surrey, UK, CABI, Bioscience. 655 p.

Martillo, E.; Solano, P. 2003. Situación de la Sigatoka negra en el Ecuador. *in*: Memorias del taller *Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas*. Guayaquil, EC. INIBAP. p. 13 – 18.

Marin, D. H.; Romero, R. A.; Guzmán, M.; Sutton, T. B. 2003. Black Sigatoka: An Increasing treat to banana cultivation. *Plant Disease*. 87, (3): 208

Molina, G.; Krausz, J. 1998. Phitotoxic activity on crude extract from *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis* and its use for evaluating resistance levels to Black Sigatoka. *Plant Disease*. 73: p. 142 - 144.

Mourichon, X.; Lepoivre, P.; Carlier, J. 2000. Host Pathogen Interaction. Chapter 2. Fungal diseases of the foliage. 67 – 72 p. In. *Diseases of Banana, Abaca, and Enset* (D. R. Jones, ed) CAB international.

Ortiz, J; Gómez, M; Vásquez, N; Aguilar, M. 2002. Transformación Genética de Banano (cv. Gran Enano) y Plátano (cv Curaré) para introducir resistencia a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Memorias ACORBAT. Cartagena de Indias, Colombia 27 de octubre-2 de Noviembre. p. 9-53.

Osorio, G; 2006. Evaluación de hongos endofiticos y extractos botánicos para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) en banano. Tesis M.Sc. Turrialba, CR. CATIE. 73 p.

Romero, R. A. 2006. Caracterización y manejo de la resistencia a fungicidas de *Mycosphaerella fijiensis* en bananos. En: Memorias XVII Reunión Internacional Acobat. Joinville, SC, Brasil. Bananicultura: un negocio sostenible. Soprano, E; Tcacenco, FA; Lichtemberg, LA; Silva, MC. (eds.) Editorial, Epagri, Estación experimental de Itajaí, SC, Brasil. p.92-99

Stover, R; Simmonds, N. 1987. Bananas. Longman scientific and technical. 3 ed. Londres, UK. 467 p.

Suárez, C.; Vera, D.; Solís, K.; Carranza, J.; Cedeño, J.; Belezaca, C.; Williams, R.; Ellis, M.; Alwang, J.; Norton, G.; Harris, C. 2003. Development of IPM Programs for Plantain Systems in Ecuador. *in* IPM/CRSP Tenth Annual Report 2002 – 2003. Blacksburg, US. p. 374 – 380.

Tazán, L. 2002. Cultivo de Plátano en Ecuador, Programa Nacional del Banano. Guayaquil, EC, p. 54 – 55 – 56.

----- **2003.** El Cultivo de Plátanos en Ecuador. Ministerio de Agricultura y Ganadería Subsecretaría Regional del Litoral, Sur y Galápagos. Guayaquil, EC, p. 59 – 64.

Vera, D.; Suárez, C.; Belezaca, C. 2004. Estrategias de Manejo Integrado de la Sigatoka negra en Plátano cv. “Barraganete” (*Musa AAB*) en el Ecuador. *in* Memorias de la XVI Reunión Internacional ACORBAT 2004. Oaxaca, MX. p. 170 – 173.

APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza en experimento sobre la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre *Mycosphaerella fijiensis* agente causal de la Sigatoka negra en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fisher	Valor de Probabilidad 5%	
Variable ascosporas descargadas.				CV% 22,27		
Tratamiento	5	224,88	44,98	1,23	0,3064	NS
Error	54	1969,30	36,47			
Variable ascosporas germinadas.				CV% 5,52		
Tratamiento	5	113078,46	22615,69	1763,16	<0,0001	**
Error	54	703,42	13,03			

* Significativo

** Altamente significativo

NS No significativo

Cuadro 2. Análisis de varianza en experimento sobre la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre *Mycosphaerella fijiensis* agente causal de la Sigatoka negra en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fisher	Valor de Probabilidad 5%	
Variable ascosporas descargadas.				CV% 22,62		
Tratamiento	5	1657,93	331,59	11,67	<0,0001	**
Error	54	1534,80	28,42			
Variable ascosporas germinadas.				CV% 7,09		
Tratamiento	5	20595,44	4119,09	118,60	<0,0001	**
Error	54	1875,49	34,73			

** Altamente significativo

Cuadro 3. Análisis de varianza en experimento sobre la determinación del efecto de cinco productos Biorracionales sobre *Mycosphaerella fijiensis* agente causal de la Sigatoka negra en plátano (*Musa AAB*) EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fisher	Valor de Probabilidad 5%	
Variable Periodo de incubación.		CV% 5,56				
Tratamiento	5	1401,73	280,35	320,40	<0,0001	**
Inoculación	1	5,40	5,40	6,17	0,0165	*
Interacción	5	17,20	3,44	3,93	0,0046	**
Error	48	42,00	0,87			
Variable área afectada.		CV% 0,78				
Tratamiento	5	918,11	183,62	7652,31	<0,0001	**
Inoculación	1	131,86	131,86	5495,10	<0,0001	**
Interacción	5	164,76	32,95	1373,26	<0,0001	**
Error	48	1,15	0,02			

* Significativo

** Altamente significativo

Cuadro 4. Efecto de productos biorracionales sobre *M. fijiensis* en plátano cv. Barraganete aplicados en la etapa de pre y post inoculación del patógeno. EET – Pichilingue, INIAP, 2011.

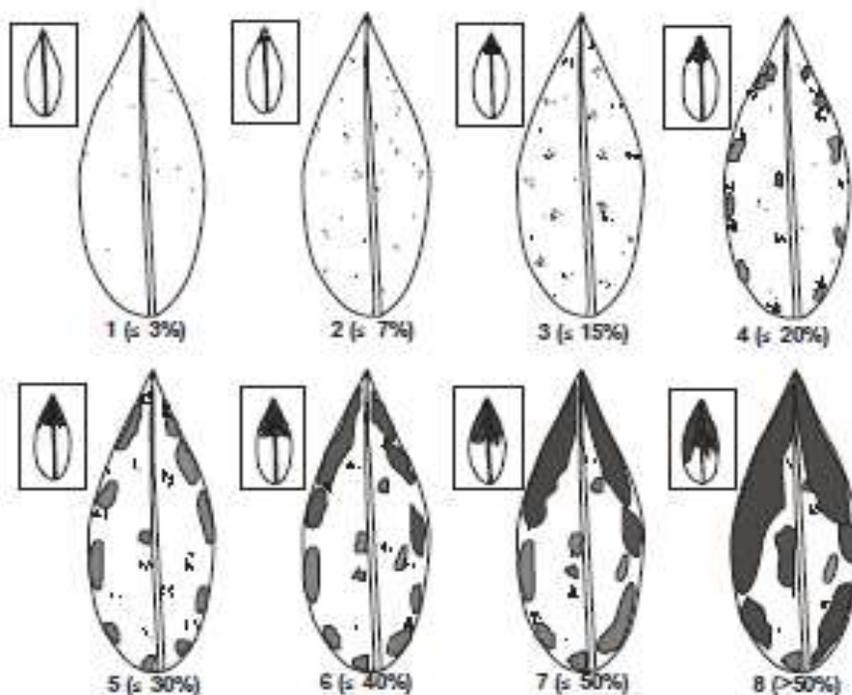
TRATAMIENTO	VARIABLES				
	Periodo de incubación		Área afectada (%)		
Factor 1					
<i>(Mycosphaerella fijiensis</i> + Producto)	TRICHOEB 5WP	13,20	de	26,20	i
	ECOFLORA	14,60	d	15,65	c
	ECOFUNGI	14,60	d	15,65	c
	3B112 S.C.	21,40	c	13,38	a
	BANKIT	27,00	a	14,00	b
	TESTIGO	12,00	e	25,40	h
Factor 2					
<i>(Producto + Mycosphaerella fijiensis)</i>	TRICHOEB 5WP	13,20	de	23,74	g
	ECOFLORA	15,00	d	21,09	f
	ECOFUNGI	14,80	d	21,09	f
	3B112 S.C.	19,40	c	20,25	e
	BANKIT	24,80	b	16,50	d
	TESTIGO	12,00	e	25,40	h

Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$)

Figura 1. Escala de síntomas de la Sigatoka negra descrita por Fouré (1985).

<p>Estadio 1. Corresponde a una pequeña decoloración aproximadamente 1 mm de largo, clorótica o amarilla en la fase inicial y visible únicamente en el envés de la hoja. Para observarla, debe exponerse el envés de la hoja a la luz, ya que al trasluz no puede determinarse.</p>	
<p>Estadio 2. La decoloración se convierte en una estría de 2-3 mm de largo, pudiendo ésta ser observada tanto en el envés como en el haz de la hoja. A esta fase se le denomina comúnmente “pizca”.</p>	
<p>Estadio 3. La estría aumenta sus dimensiones haciéndose más larga y más ancha. Es a partir de esta fase cuando aparecen los conidióforos los cuales dan lugar a la producción de conidios.</p>	
<p>Estadio 4. Este se presenta como una mancha oval que toma una coloración marrón o pardo oscuro en el envés y negra en el haz de la hoja.</p>	
<p>Estadio 5. Se caracteriza por ser una mancha totalmente negra con tendencia elíptica y rodeada por un halo amarillo cuyo centro empieza a deprimirse.</p>	
<p>Estadio 6. Si el desarrollo de la enfermedad llega a alcanzar esta fase, el centro de la mancha se seca y llega a ser blanco-grisáceo, en el que pueden apreciarse claramente la presencia de peritecios del hongo.</p>	

Figura 2. Escala de Romero (2005) para la evaluación de resistencia a Sigatoka negra en vitroplantas de *Musa spp.* Inoculadas artificialmente con *M. fijiensis*, bajo condiciones controladas de invernadero.



G0 = Sin síntomas.

G1 ($\leq 3\%$) Menor o igual al de un 3% de la lámina foliar con síntomas.

G2 ($\leq 7\%$) Menor o igual al de un 7% de la lámina foliar con síntomas.

G3 ($\leq 15\%$) Menor o igual al de un 15% de la lámina foliar con síntomas.

G4 ($\leq 20\%$) Menor o igual al de un 20% de la lámina foliar con síntomas.

G5 ($\leq 30\%$) Menor o igual al de un 30% de la lámina foliar con síntomas.

G6 ($\leq 40\%$) Menor o igual al de un 40% de la lámina foliar con síntomas.

G7 ($\leq 50\%$) Menor o igual al de un 50% de la lámina foliar con síntomas.

G8 ($> 50\%$) Mayor del 50% de la lámina foliar con síntomas.

Figura 3. Proceso del aislamiento de *M. fijiensis* para la obtención de colonias. EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

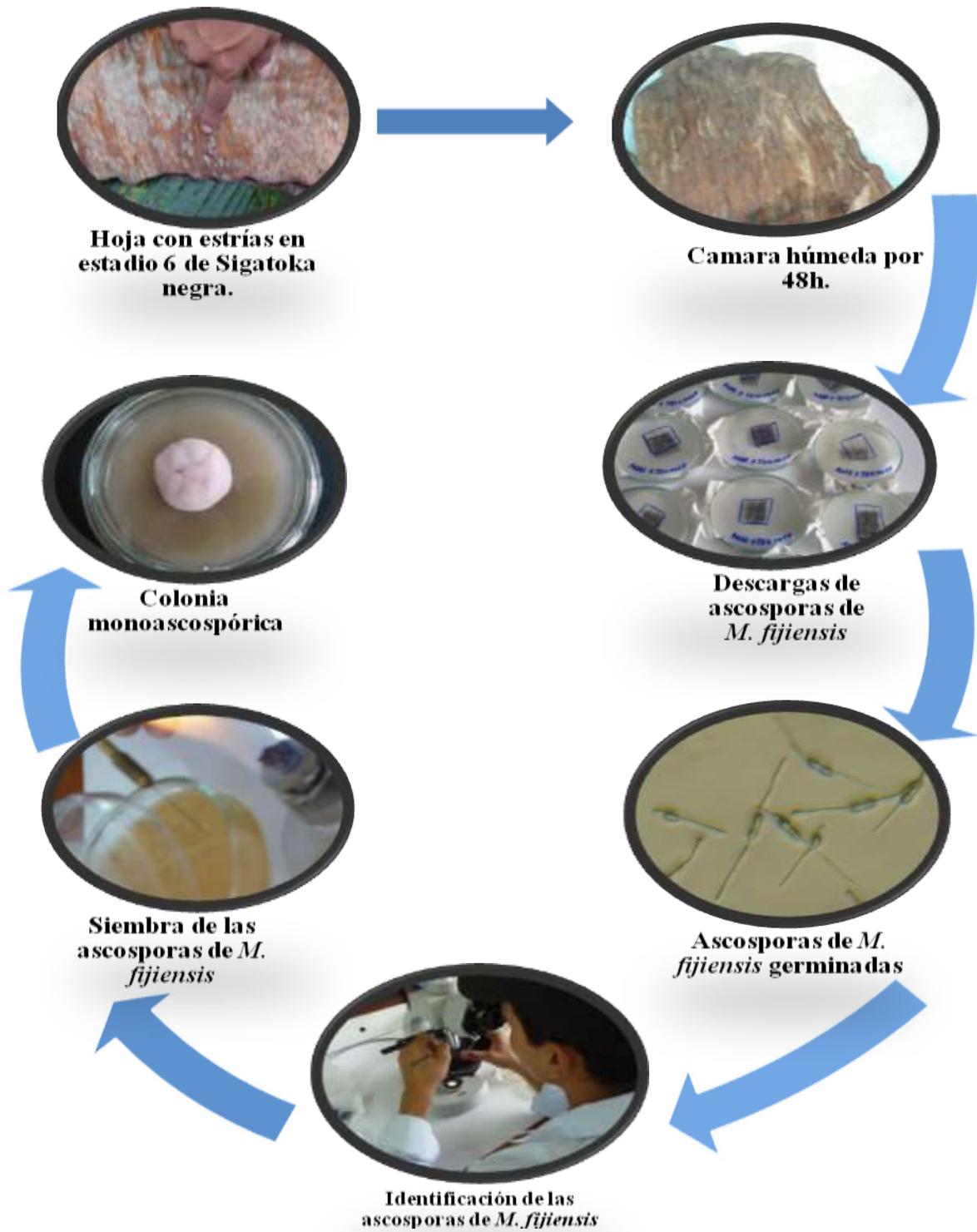
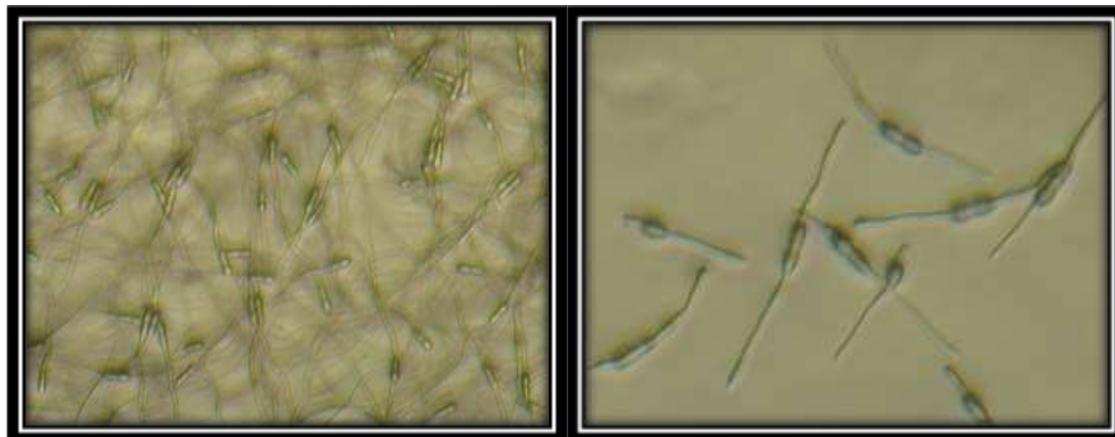
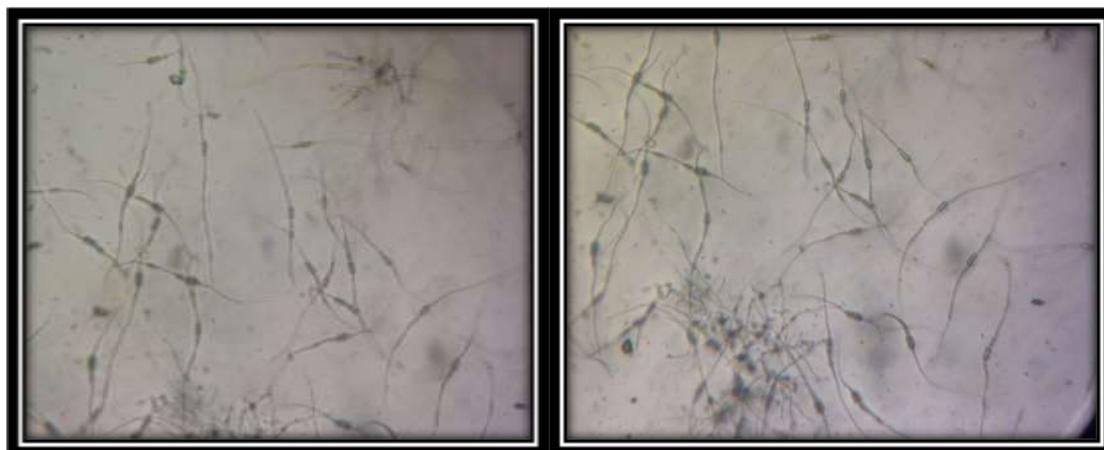


Figura 4. Observación de las ascosporas descargadas en medio sólido agar-agua mas la dosificación de cada uno de los productos biorracionales estudiados. EET-Pichilingue, INIAP, 2011.



Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua.



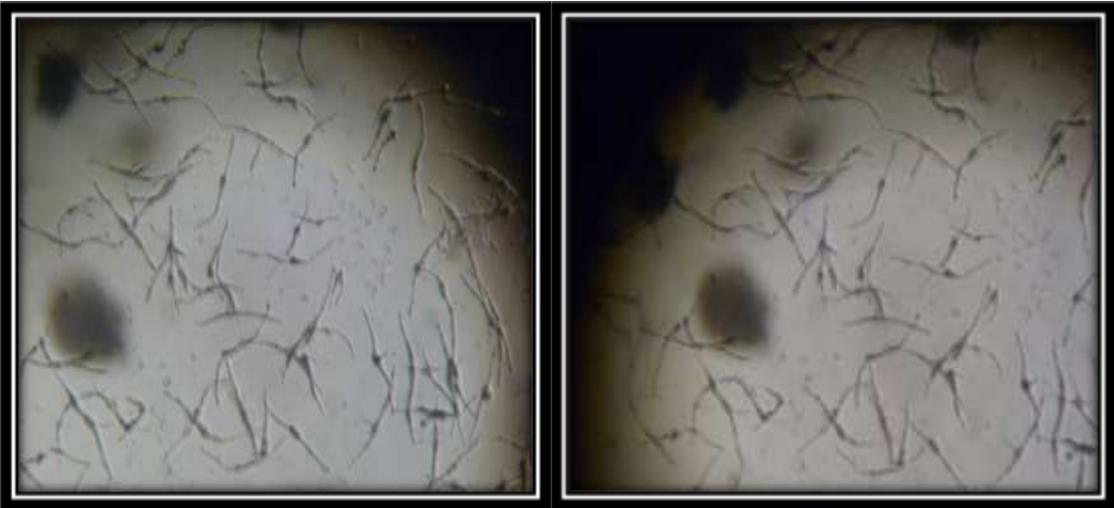
Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua + Trichoeb 5W.

Continúa Figura 4.....

Continuación Figura 4.....



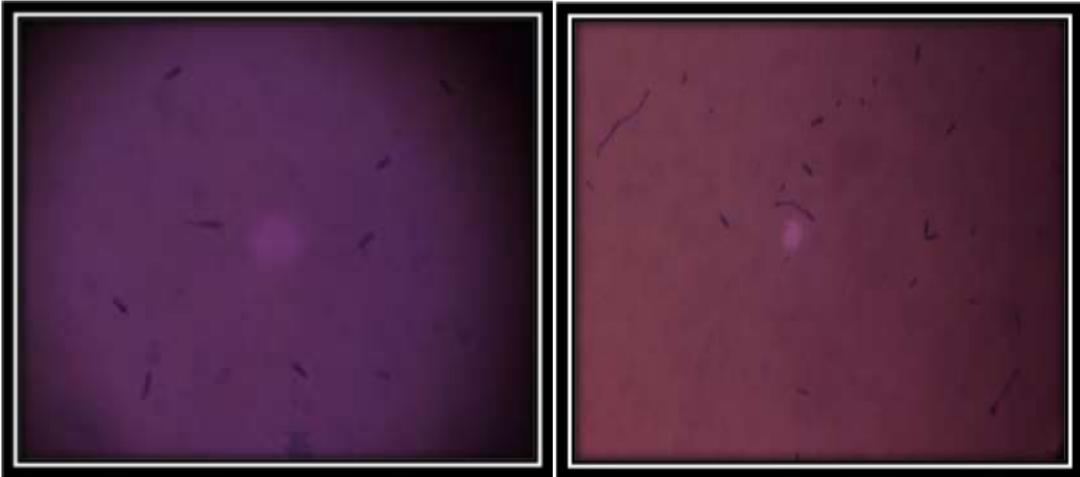
Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua + Ecofungi.



Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua + Ecoflora.

Continúa Figura 4.....

Continuación Figura 4.....



Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua + Bankit



Ascosporas de *M. fijiensis* descargadas en medio sólido Agar – agua + 3b112

Figura 5. Proceso de la preparación del inóculo de *M. fijiensis*. EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

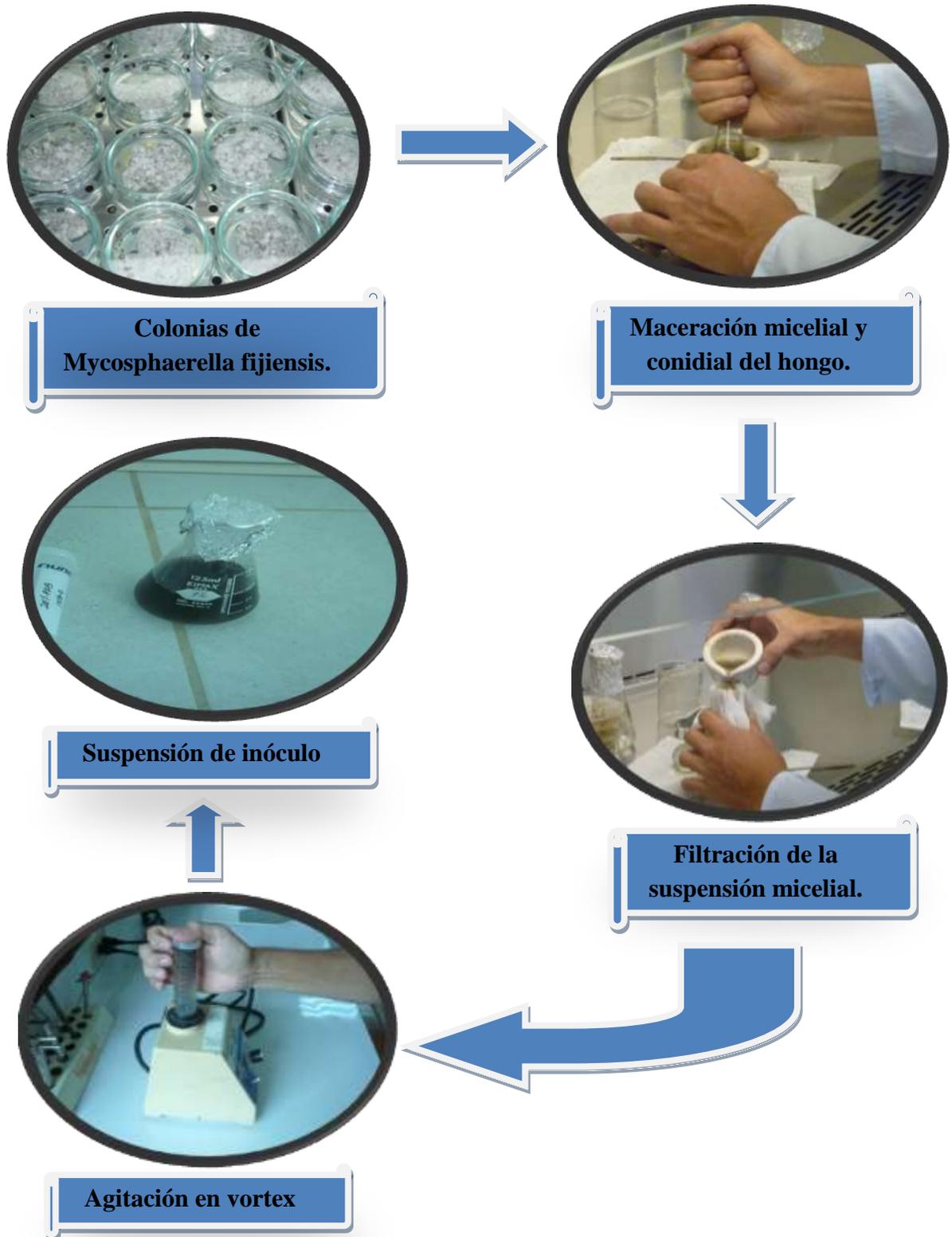


Figura 6. Proceso de descargas de ascosporas de *M. fijiensis* asperjando los fragmentos con los productos biorracionales antes de realizar la descarga. EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

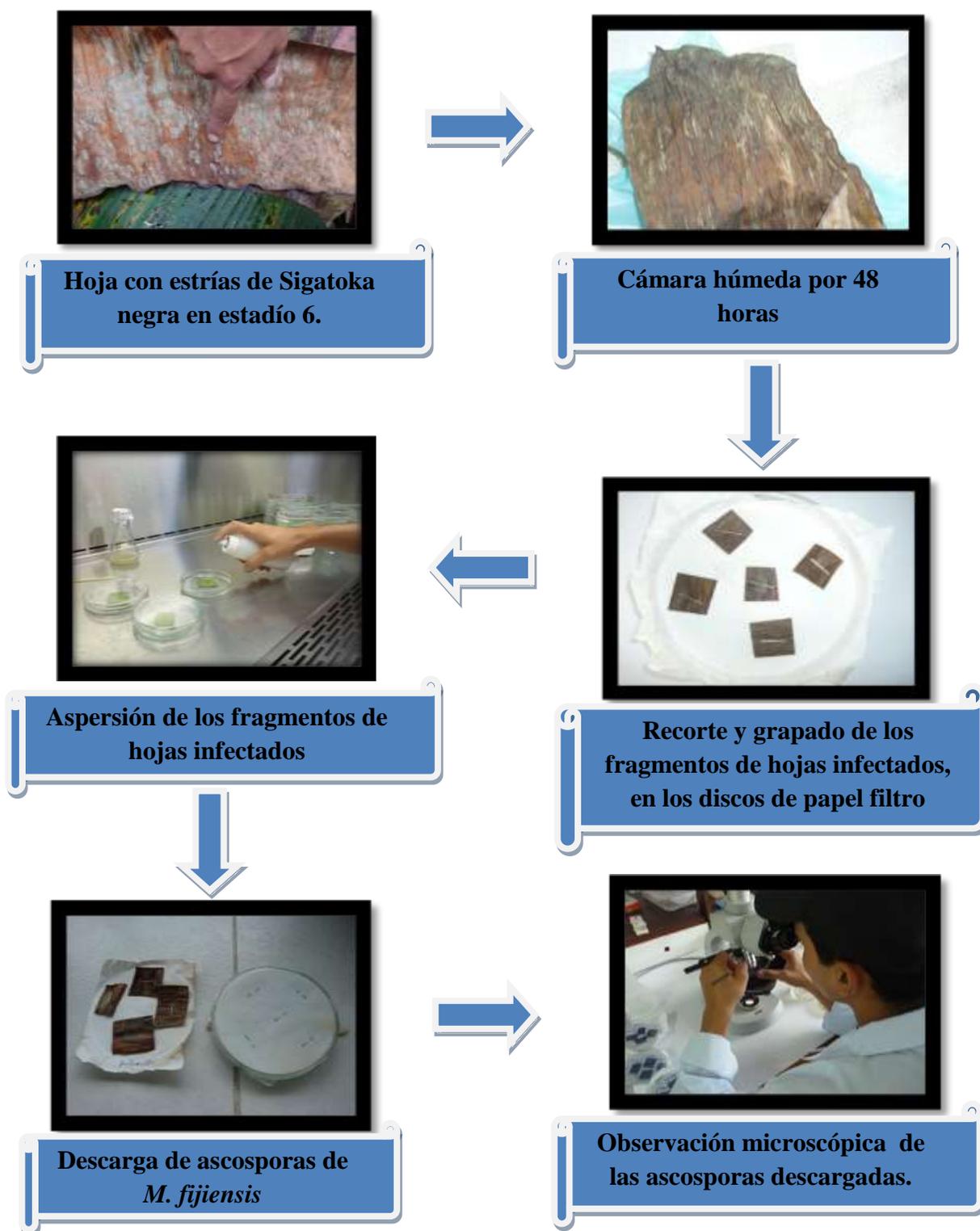


Figura 7. Esquema de la inoculación de *M. fijiensis* en vitroplantas de plátano cv. Barraganete (Musa AAB). EET-Pichilingue, INIAP, 2011.

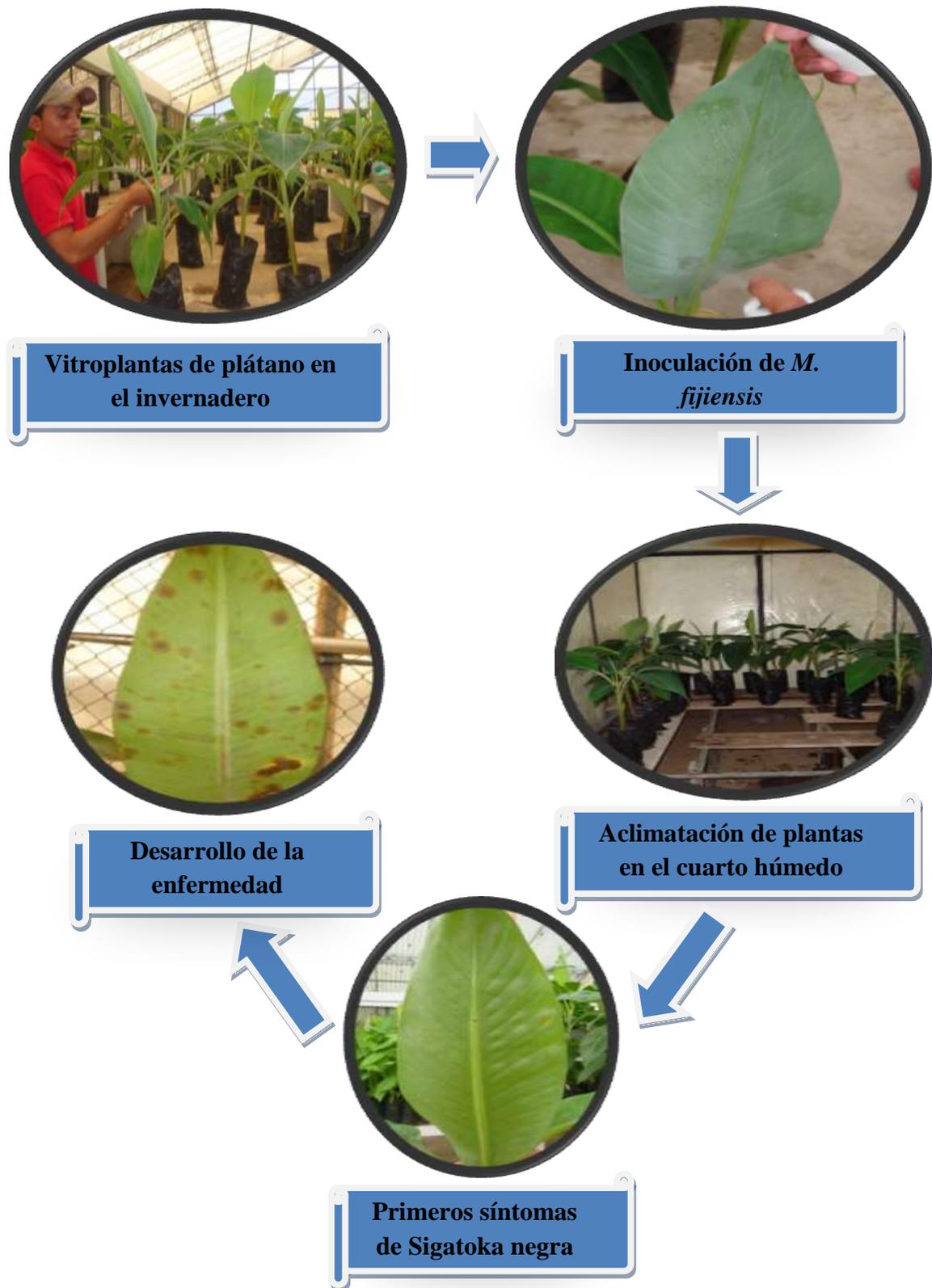
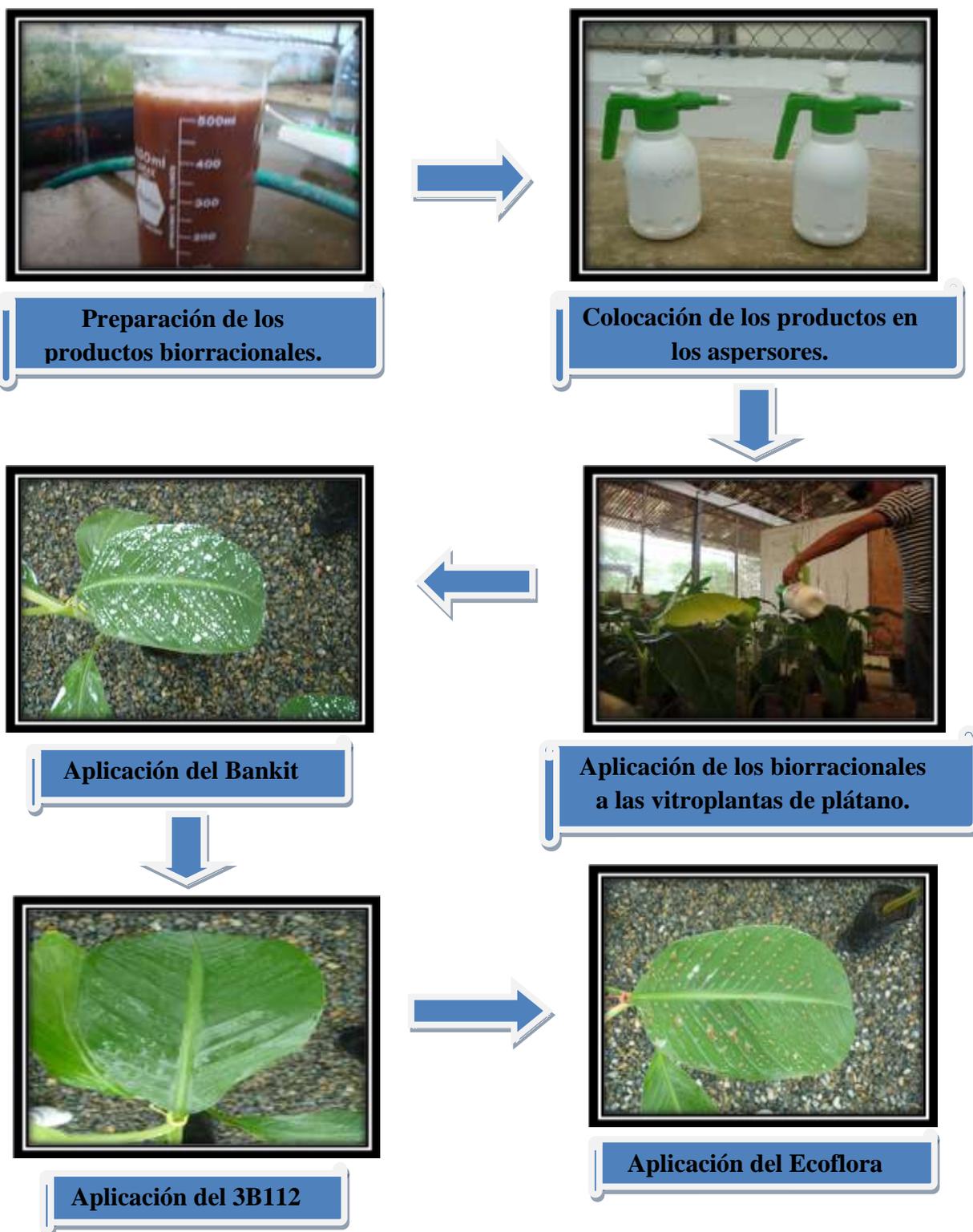


Figura 8. Esquema de la aplicación de los productos biorracionales en el follaje de las Vitroplantas de plátano cv. Barraganete (*Musa AAB*). EET-Pichilingue, INIAP, 2011.



Continúa Figura 8.....

Continuación Figura 8.....

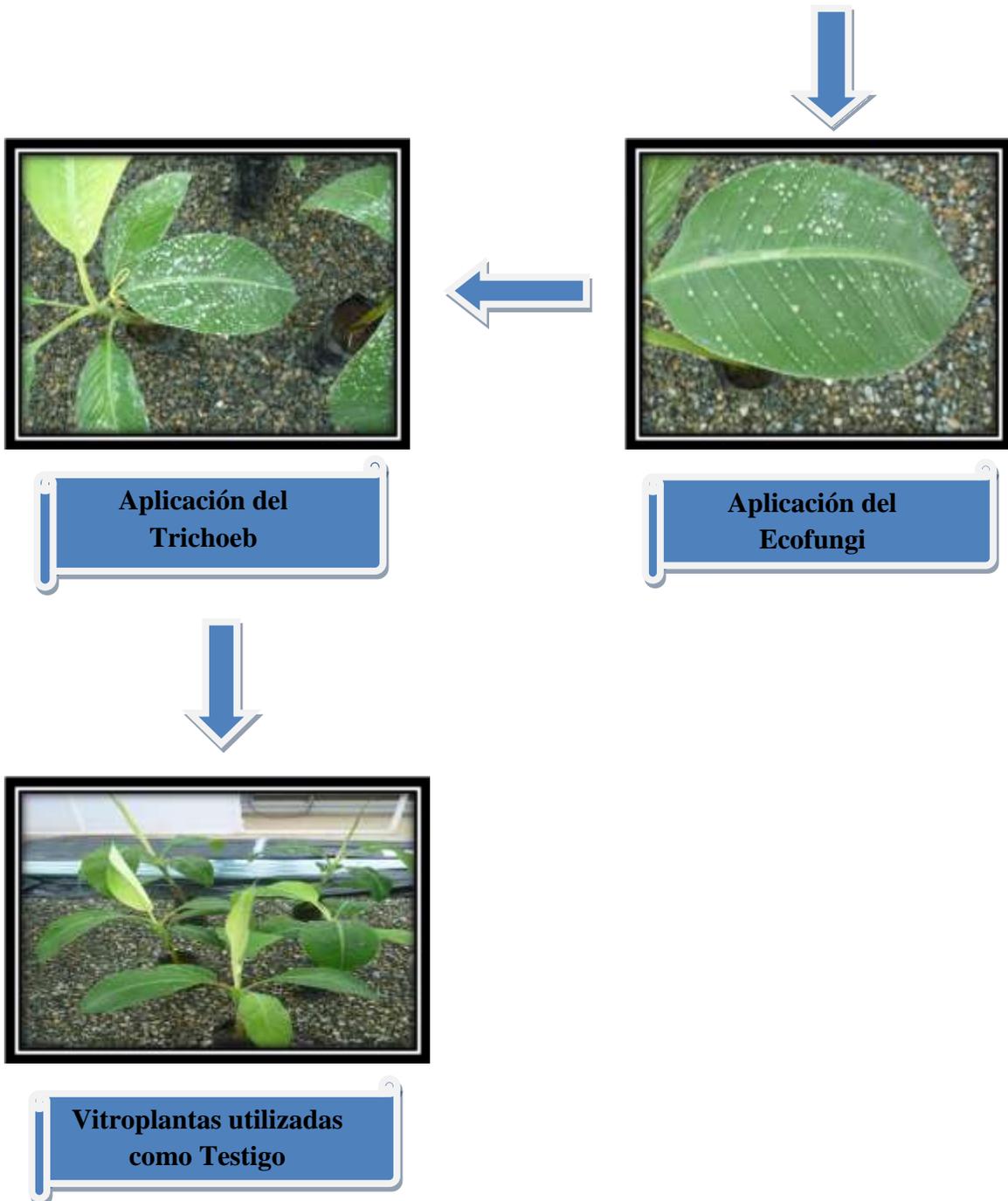


Figura 9. Esquema del desarrollo de síntomas de la Sigatoka negra en vitroplantas de plátano cv. Barraganete EET-Pichilingue, INIAP, 2011.



Testigo inoculada con *M. fijiensis*



Testigo inoculada con *M. fijiensis*



Ecoflora aplicado antes de la inoculación de *M. fijiensis*



Ecoflora aplicado después de la inoculación de *M. fijiensis*

Continúa figura 9.....

Continuación de figura 9.....



**Ecofungi aplicado
antes de la inoculación
con *M. fijiensis***



**Ecofungi aplicado
después de la inoculación
con *M. fijiensis***



**Bankit aplicado después
de la inoculación con *M.*
*fijiensis***



**Bankit aplicado antes
de la inoculación con *M.*
*fijiensis***

Continúa figura 9.....

Continuación de figura 9.....



3B112 aplicado antes de la inoculación con *M. fijiensis*



3B112 aplicado después de la inoculación con *M. fijiensis*



Trichoeb aplicado antes de la inoculación con *M. fijiensis*



Trichoeb aplicado después de la inoculación con *M. fijiensis*