



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

“Calidad, Pertinencia y Calidez.”

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

TEMA:

**“ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COMPLEJO ORGÁNICO ACTIVFOL
PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DEL HONGO
(*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE SIGATOKA NEGRA EN BANANO.”**

AUTOR:

BYRON ALEXANDER CARRIÓN ABAD

TUTORA:

DRA. CARMEN SILVERIO. MG. SC.

MACHALA – EL ORO – ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN DE REVISIÓN

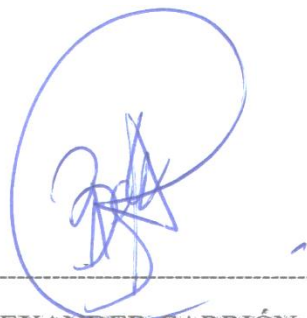
Certifico haber dirigido el presente trabajo de titulación del Sr. Byron Alexander Carrión Abad, egresado de la carrera de Bioquímica y Farmacia, cuyo tema es: “**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COMPLEJO ORGÁNICO ACTIVFOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DEL HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE SIGATOKA NEGRA EN BANANO**”, el mismo que fué revisado sistemáticamente y con sujeción a las normas establecidas para su elaboración y que revisado su contenido y forma, autorizo su presentación y así el mencionado continúe con los trámites previo la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico.



Dra. Carmen Silverio Calderón. Mg. Sc.
Tutora del Trabajo de Titulación

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD

Yo, **BYRON ALEXANDER CARRIÓN ABAD**, autor del Trabajo de Titulación “**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COMPLEJO ORGÁNICO ACTIVFOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DEL HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE SIGATOKA NEGRA EN BANANO**”, declaro que la investigación, resultados y conclusiones expuestas en el presente trabajo, son de mi absoluta responsabilidad.



BYRON ALEXANDER CARRIÓN ABAD.

C.I. 070538662-1

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA

Yo, **BYRON ALEXANDER CARRIÓN ABAD**, con cédula de identidad 070538662-1, egresado de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del trabajo de titulación: “**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COMPLEJO ORGÁNICO ACTIVFOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DEL HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE SIGATOKA NEGRA EN BANANO.**”, certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría; una vez que ha sido aprobada por el Tribunal de Sustentación, autorizando su presentación.

Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de plagio, otorgando los derechos de conservar copias y original en la biblioteca de la Unidad Académica a la cual pertenezco y lugares donde estas se archiven. Manteniendo en este caso el autor todos los derechos legales y de difusión sobre este trabajo de titulación.



BYRON ALEXANDER CARRIÓN ABAD.

C.I. 070538662-1

DEDICATORIA

A Dios:

Por estar conmigo cada día de mi vida dándome salud para lograr uno de mis objetivos, por darme fuerzas cuando más lo necesite y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo universitario.

A mi madre Ana:

Por darme la vida, por su amor y comprensión, por sus consejos y valores que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada la motivación y apoyo incondicional que siempre me brindó. Gracias mamá no pude haberlo hecho sin ti.

A mi padre Edgar:

Por ser un pilar fundamental en mi vida, por su ejemplo de superación y perseverancia que siempre lo ha caracterizado, me enseñaste que con esfuerzo y dedicación puedo lograr todo lo que me proponga en la vida. Dicen que la mejor herencia es la educación, gracias papá por darme una carrera para mi futuro.

A mi hermana Diana y a mi hermano Jr.:

Por todo su apoyo y porque siempre estuvieron alentándome a seguir adelante. Gracias los quiero mucho.

A mi esposa Ghislaine y a mi hijo Israel:

Por formar parte importante de mi vida, por ser la inspiración que me motiva a superarme, porque con su calidez y alegría calman mi cansancio después de un largo día de trabajo. Gracias por su apoyo, son lo mejor que me ha pasado en la vida.

A todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad

Técnica de Machala y a la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud por formarme profesionalmente como Bioquímico Farmacéutico.

A todos los docentes a lo largo de estos 5 años de carrera quienes me impartieron sus conocimientos científicos, técnicos y tecnológicos; y son quienes con investigación y desarrollo de nuevas tecnologías contribuyen al país con nuevos profesionales con alta capacitación científica, ética y humanística.

A la Dra. Carmen Silverio, por ser mi tutora y guía en la presente investigación.

Agradezco al CIBE, por toda la ayuda brindada para la culminación del presente trabajo.

INDICE

CERTIFICACIÓN DE REVISIÓN.....	iii
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD.....	iii
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvii

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 DEFINICION DEL PROBLEMA.....	2
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	4

CAPITULO II

2. OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	5

CAPITULO III

3. REVISIÓN DE LITERATURA	6
3.1 EL BANANO	6
3.1.1 MORFOLOGÍA	7
3.1.1.1 LAS RAÍCES	8
3.1.1.2 EL CORMO.....	8
3.1.1.3. EL PSEUDOTALLO.....	8
3.1.1.4 HOJAS.....	9
3.1.1.5 FLORES	9
3.1.1.6 FRUTO	10
3.2 CLASIFICACION DE BANANOS Y PLATANOS	10
3.3 BANANO EN EL ECUADOR.....	12
3.3.1 SUPERFICIE BANANERA EN ECUADOR.....	13
3.3.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO	14
3.4 PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL BANANO.....	16
3.4.1 LA SIGATOKA NEGRA.....	17
3.4.2 ESTADIOS EVOLUTIVOS DEL HONGO EN LA HOJA DEL BANANO.....	19
3.4.2.1 ESTADIO 1	19
3.4.2.2 ESTADIO 2	19
3.4.2.3 ESTADIO 3	19
3.4.2.4 ESTADIO 4	20
3.4.2.5 ESTADIO 5	20
3.4.2.6 ESTADIO 6	20

3.4.2.7 PERIODO DE INCUBACIÓN (PI)	21
3.4.2.8 PERIODO DE LATENCIA (PL)	21
3.4.2.9 TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE SÍNTOMAS (TES)	21
3.4.2.10 TIEMPO DE DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD (TDE)	21
3.5 CICLO DE VIDA.....	22
3.6 CONTROL DE LA SIGATOKA NEGRA.	23
3.6.1 CONTROL CULTURAL	23
3.6.2 CONTROL BIOLÓGICO.	24
3.6.3 MEJORAMIENTO GENÉTICO.....	24
3.6.4 CONTROL QUÍMICO.....	25
3.6.4.1 DE CONTACTO	26
3.6.4.2 SISTÉMICOS.....	26
3.7 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FUNGICIDAS.....	27
3.8 ESTIMULACIÓN DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA EN PLANTAS	27
3.8.1 INDUCCIÓN DE RESISTENCIA.....	28
3.9 RESISTENCIA DE LOS FUNGICIDAS	29
3.10 IMPACTO DE LAS FUMIGACIONES	30

CAPITULO IV

4. HIPÓTESIS	32
4.1 HIPÓTESIS NULA	32
4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	32

CAPITULO V

5. MATERIALES Y METODOS.....	33
5.1 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
5.2 MATERIALES Y EQUIPOS	33
5.2.1 MATERIAL DE ESTUDIO	33
5.2.2 MATERIALES.....	33
5.2.3 EQUIPOS	34
5.2.4 REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO.....	35
5.3 VARIABLES DE ESTUDIO	35
5.3.1 VARIABLE DEPENDIENTE.....	35
5.3.2 VARIABLE INDEPENDIENTE	35
5.4 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	36
5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
5.5.1 TIPO DE DISEÑO	37
5.6 METODOLOGÍA.....	38
5.6.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA	38
5.6.2 DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD DE <i>M.</i> <i>fijiensis</i> FRENTE A ACTIVFOL Y TRIAMIN POR ESPECTROFOTOMETRÍA EN PLACAS DE ELISA	38
5.6.2.1 REPRODUCCION DE <i>M. fijiensis</i> EN PLACAS CON MEDIO PDA.....	38
5.6.2.2 OBTENCIÓN DEL MICELIO.....	39
5.6.2.3 CONTEO DE MICELIOS.....	39
5.6.2.4 CONCENTRACIÓN DE MICELIOS.....	40
5.6.2.5 PRUEBA DE SENSIBILIDAD DE TRIAMIN Y	

ACTIVFOL	41
----------------	----

CAPITULO VI

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
---------------------------------	----

6.1 ANÁLISIS DE DATOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN.....	48
---	----

CAPITULO VII

7. CONCLUSIONES.....	51
----------------------	----

CAPITULO VII

8. RECOMENDACIONES	52
--------------------------	----

BIBLIOGRAFIA	53
--------------------	----

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie Bananera en Ecuador	13
Cuadro 2. Superficie, Producción y Rendimiento a nivel Nacional.....	14
Cuadro 3. PIB del Banano del 2002-2009.....	16
Cuadro 4. Cálculo de concentración de micelios	40
Cuadro 5. Lecturas de TRIAMIN frente a la cepa proveniente de la provincia de El Oro.....	42
Cuadro 6. Lecturas de TRIAMIN frente a la cepa proveniente de la provincia de Esmeraldas.....	42
Cuadro 7. Resultados de Activfol frente a una cepa aislada de la provincia de El Oro.....	43
Cuadro 8. Resultados de Activfol frente a una cepa aislada de la provincia de Esmeraldas.....	43
Cuadro 9. Tasa de mortalidad en % de <i>M. fijiensis</i> con respecto a TRIAMIN.....	44
Cuadro 10. Tasa de mortalidad en % de <i>M. fijiensis</i> con respecto a ACTIV FOL	45
Cuadro 11. Comparación del % de Mortalidad de Sigatoka en la Provincia de El Oro.....	46
Cuadro 12. Comparación del % de Mortalidad de Sigatoka en la Provincia de Esmeraldas.....	47
Cuadro 13 y 14 Mejores tratamientos de ACTIVFOL Y TRIAMIN sobre los inóculos de <i>M. fijiensis</i> de la Provincia de Esmeraldas y El Oro.....	48
Cuadro 15 y 16 Análisis estadístico ANOVA.....	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características de la planta de Banano.....	7
Figura 2. Clasificación de las <i>Musáceas</i>	10
Figura 3. . Clasificación taxonómica del banano de acuerdo a Simmonds y Sherpherd	11
Figura 4. Exportaciones de banano de Ecuador	15
Figura 5. Clasificación de <i>M. fijiensis</i>	17
Figura 6. Estadios Evolutivos de Sigatoka Negra	20
Figura 7. Ciclo de vida de <i>M. fijiensis</i>	22
Figura 8. Modo de acción de los Fungicidas	26
Figura 9. Campos de observación de la cámara de Neuvahuer	40
Figura 10. Esquema de la placa de Elisa	41

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análisis de % de Mortalidad con Respecto a Concentraciones de TRIAMIN.....	44
Gráfico 2. Análisis de % de Mortalidad con Respecto a Concentraciones de ACTIV FOL.....	45
Gráfico 3. Análisis de comparación de % de mortalidad de TRIAMIN Y ACTIVFOL con respecto a <i>M. fijiensis</i> de El Oro.....	46
Gráfico 4. Análisis de comparación de % de mortalidad de TRIAMIN Y ACTIVFOL con respecto a <i>M. fijiensis</i> de Esmeraldas.....	47

RESUMEN

Esta investigación se la realizó en la UtMach, en conjunto con los laboratorios de Fitopatología y Bioproductos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), de la Escuela Superior Politécnica del Litoral. El objetivo principal del presente trabajo fué demostrar la eficacia del bioproducto ACTIVFOL frente al hongo *M. fijiensis* causante de la Sigatoka negra en banano para lo cual se empleó el diseño de bloques completos al azar, evaluando a 2 productos, empleando un control y 6 concentraciones diferentes con 8 repeticiones cada una, sobre 2 inóculos de *M. fijiensis*, provenientes de las provincias de El Oro y Esmeraldas. Para evaluar la sensibilidad de la Sigatoka negra frente a ACTIVFOL se utilizó el método de espectrofotometría en placas de ELISA, para lo cual preparamos diluciones de: 32, 100, 320, 1000, 3200 y 5000 ppm. Cada dilución se la analizó en placas de Elisa de 96 pocillos frente a las cepas de *M. fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas, colocando en la primera fila el **Blanco de muestra** y en la segunda fila el **Control de la muestra**. En cada pocillo de la placa se colocó 50 µL de inóculo más 200 µl de PDB con las concentraciones respectivas del producto a evaluar. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó las lecturas en el espectrofotómetro a 690 nm de longitud de onda, siendo las Absorbancias encontradas proporcionales a las concentraciones inhibitorias de *M.fijiensis*.

Para demostrar la efectividad de ACTIVFOL, evaluamos al mismo frente a otro producto semejante que se encuentra en el mercado (TRIAMIN) y a estos, sobre 2 inóculos de *M. fijiensis*, provenientes de las provincias de El Oro y Esmeraldas. Por lo cual

procedimos a realizar un contraste o prueba de hipótesis, planteando una hipótesis nula y otra alternativa resumida a continuación:

$H_0: \text{ACTIVFOL} = \text{TRIAMIN}$

$H_a: \text{ACTIVFOL} \neq \text{TRIAMIN}$

Para dicha demostración recopilamos los mejores tratamientos de ambos productos y procedimos a realizar un Análisis de Varianza, utilizando el software del programa estadístico Origin 5.6. Los datos arrojados por el programa estadístico fueron para la cepa proveniente de la Provincia de Esmeraldas: $F=101.7$, $p=8.42E-8$, y para la cepa proveniente de la Provincia de El Oro: $F=260.8$, $p=1.91E-10$. Es decir **ACTIVFOL** tiene un efecto estadísticamente significativo del **SOBRE EL HONGO DE SIGATOKA NEGRA FRENTE** al producto **TRIAMIN** en un nivel de confianza de 95,0 %. Con los resultados obtenidos y puesto que el valor p de la prueba fué inferior a 0.05, la hipótesis nula fué rechazada y la hipótesis alternativa fué ratificada a este nivel de confianza, con lo cual concluimos que **ACTIVFOL** posee propiedades antifúngicas frente al hongo causante de la Sigatoka Negra en Banano.

ABSTRACT

This research was conducted in the UTMACH, together with the laboratories of Phytopathology and Bioproducts Biotechnology Research Center of Ecuador (CIBE), the Escuela Superior Politecnica del Litoral. The main objective of this study was to demonstrate the effectiveness of bioproduct ACTIVFOL against the fungus *M. fijiensis* causing black sigatoka in banana for which the design of randomized complete block design was used, evaluating 2 products, using a control and 6 concentrations different with 8 repetitions each, for 2 inocula *M. fijiensis*, from the provinces of El Oro and Esmeraldas. spectrophotometry method was used in ELISA plates to assess the sensitivity of black Sigatoka front ACTIVFOL, for which prepare dilutions: 32, 100, 320, 1000, 3200 and 5000 ppm. Each dilution was analyzed in the plates Elisa 96 well against strains of *M. fijiensis* in the provinces of El Oro and Esmeraldas, standing in the first row the White sample in the second row and the control sample. In each plate well 50 uL of inoculum plus 200 ul PDB the respective concentrations of the product to be evaluated was placed. When the time of incubation, readings took place in the spectrophotometer at 690 nm. wavelength, being proportional to the Absorbance found inhibitory concentrations of *M fijiensis*.

To demonstrate the effectiveness of ACTIVFOL , we evaluated the same against another such product found on the market (TRIAMIN) and these , about two inocula of *M. fijiensis* , from the provinces of El Oro and Esmeraldas. So we proceeded to perform a contrast or hypothesis testing, posing a null hypothesis and alternative summarized below:

Ho: ACTIVFOL = TRIAMIN

Ha: ACTIVFOL \neq TRIAMIN

For this demonstration we collect the best treatments for both products and proceeded to make an analysis of variance, using the statistical software program Origin 5.6. The data produced by the statistical program for the strain were from the Province of Esmeraldas: $F = 101.7$, $p = 8.42E^{-8}$, and the strain from the Province of El Oro : $F = 260.8$, $p = 1.91E^{-10}$. That is ACTIVFOL has a statistically significant effect of SIGATOKA FUNGUS ON BLACK FRONT TRIAMIN product on a confidence level of 95.0 %. With the results obtained and since the p value of the test was less than 0.05, the null hypothesis was rejected and the alternative hypothesis was ratified at this level of confidence with which we conclude that ACTIVFOL has antifungal properties against the fungus causing the Black Sigatoka in bananas.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el banano ecuatoriano es muy apetecido por su calidad y sabor, siendo esta fruta comercializada y cotizada en los continentes de Europa, Asia y Norte América. Esto ocurre ya que en la costa ecuatoriana se dan las condiciones óptimas de suelo y clima para la plantación y cosecha de la fruta. De acuerdo a la información que registra el MAGAP (Ministerio de agricultura, ganadería, acuicultura y pesca) las plantaciones bananeras representan el diez por ciento del área agrícola del Ecuador y su tasa de crecimiento promedio es del 3 % desde hace nueve años. (PRO ECUADOR. 2013)

En el 2012, el sector bananero ecuatoriano exportó USD 2,078,239.38 millones de dólares por concepto de divisas y 5,196,065.09 de toneladas ubicando al banano como el primer producto de exportación del sector privado del país. (PRO ECUADOR, 2013)

Para el Ecuador esto tiene una importancia relevante, ya que en promedio representa un 26 % del PIB (Producto interno bruto) Agrícola del país y aporta en un 2 % al PIB total, siendo uno de los productos tradicionales dentro de las exportaciones ecuatorianas (INEC.2013). Además, de las fuentes de empleos directos e indirectos que genera éste sector agrícola, tales como mano de obra en las plantaciones, cartoneras, plásticos, fertilizantes y abonos, fumigadoras aéreas, transporte terrestre y marítimo, etc.

1.1 DEFINICION DEL PROBLEMA

La principal enfermedad en las plantaciones de banano en el Ecuador es el hongo conocido como Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*), y es considerada la enfermedad foliar más limitante y devastadora. Este patógeno provoca un estrago sistemático en el área foliar, para posteriormente causar una necrosis a nivel de toda la hoja, perjudicando la fase fotosintética, haciendo que la mata arribe a la floración con un escaso número de hojas funcionales, desfavoreciendo el eficaz llenado de las bananas y estimulando el proceso de maduración de la fruta. Esto origina pérdidas millonarias en la etapa de comercialización (GUZMÁN 2006; MARÍN Y ROMERO 1998).

En el año 1987 en Ecuador, el hongo *M fijiensis* fue detectado en la provincia de Esmeraldas, dos años después la infección ya se la encontraba en las provincias de Guayas y Los Ríos y finalmente apareció en las bananeras de la provincia de El Oro en 1992. En resumen la enfermedad de la Sigatoka negra solo tardó 5 años en infectar todo el cultivo de banano en el Ecuador (RIVAS PLATERO.2003).

A nivel de la región costera de nuestro país (Los Ríos, Guayas y El Oro) hay alrededor de unas 150.000 Has cultivadas con banano, todas infectadas con Sigatoka negra. Los diferentes climas que poseen las provincias costeras, ha provocado que el hongo tenga diferentes conductas, provocando que la enfermedad sea más severa en los últimos años. (RIVAS PLATERO.2003).

Tradicionalmente el control de esta enfermedad se la realiza con fungicidas sistémicos, sin embargo éstos en la actualidad han perdido sensibilidad y actúan de forma relativamente eficaz contra la Sigatoka negra, debido a que el hongo ha desarrollado resistencia, por la sobre exposición y falta de rotación de los mismos, causando así que los ciclos de fumigación aumenten, encareciendo la producción de la fruta y generando impactos medioambientales como contaminación de suelos, aguas y deterioro de la salud humana. A pesar de todo lo dicho anteriormente, la fumigación aérea con fungicidas químicos continúa siendo la herramienta de manejo más usada, por medianos y grandes productores.

Por otro lado, el control biológico de esta enfermedad mediante el uso de productos alternativos, ha revelado resultados favorables. Investigaciones de inductores de resistencia endógenos y exógenos, han revelado evidencias y resultados prometedores para un manejo ecológico de Sigatoka negra (RIVEROS Y LEPOIVRE. 1998)

1.2 JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo pretende deducir la eficacia que poseen los compuestos bioquímicos presentes en el Complejo Orgánico ACTIVFOL y demostrar su efectividad como una nueva alternativa en el control de Sigatoka negra.

ACTIVFOL, es un “**FITOFORTIFICANTE**” obtenido por fermentación con microorganismos naturales que NO han sido genéticamente modificados (OGM), que producen metabolitos, ácidos orgánicos, aminoácidos, enzimas y fitohormonas naturales, dirigidos a aumentar la capacidad fotosintética de la planta y reducir el estrés por efectos de clima u otros factores como: mala nutrición, déficit de riego y drenajes, plagas y enfermedades, etc., además de mejorar el desarrollo de la planta, coloración, la calidad y peso del fruto. Tiene propiedades que activan los mecanismos naturales de defensa de las plantas creando resistencia a plagas y enfermedades, al regular el equilibrio fisiológico de las plantas. (CARRIÓN E. 2011)

Con la presente investigación se desea implementar una nueva línea de investigación dirigida a los procesos de biorremediación, debido a la carencia de tecnologías efectivas de manejo de *M. fijiensis* y a que no existen variedades de banano resistentes, por lo que se hace necesario buscar fuentes de resistencia para utilizar en programas de fitomejoramiento. El estudio desea generar bases para implementar nuevas alternativas efectivas en el manejo de la enfermedad, sostenibles y de bajo costo, que tengan un impacto favorable al medio ambiente y a la salud; además, de beneficiar a todas las familias que dependen directa e indirectamente del cultivo.

CAPITULO II

1. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

- Demostrar a nivel de laboratorio, que el bioproducto **ACTIVFOL** posee una acción eficaz en el control del *Mycosphaerella fijiensis* causante de la Sigatoka negra en el banano.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Aislar al hongo *M. fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas.
- Determinar la sensibilidad de **ACTIVFOL** sobre los inóculos de *M. fijiensis*. de las provincias de El Oro y Esmeraldas
- Comparar la acción del producto **ACTIVFOL** frente a otro producto bioestimulante del mercado (**TRIAMIN**).

CAPITULO III

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL BANANO

Mucho antes de convertirse en un producto internacional de exportación, el banano sirvió de alimento a muchas generaciones. Se cree que es la fruta más antigua del mundo, pues data de tiempos prehistóricos, de millones de años. En el año 327 A.C Alejandro Magno descubrió la planta cultivada en el valle del Indo, en la India. El enciclopedista Romano Plinio fue uno de los primeros escritores que descubrió la especie, posteriormente fue clasificada por el botánico del siglo XVIII Linneo, quien le dio el nombre de *Musa sapientum*. (MEDINA M, 1994)

El centro de origen del banano silvestre es el sureste de Asia y las islas del Pacifico, extendiéndose desde la India hasta Papua Nueva Guinea, incluyendo Malasia e Indonesia. La evidencia taxonómica indica que el centro primario donde la comestibilidad evolucionó fue la Península Malaya, incluyendo posiblemente los territorios vecinos más cercanos (SIMMONDS 1995).

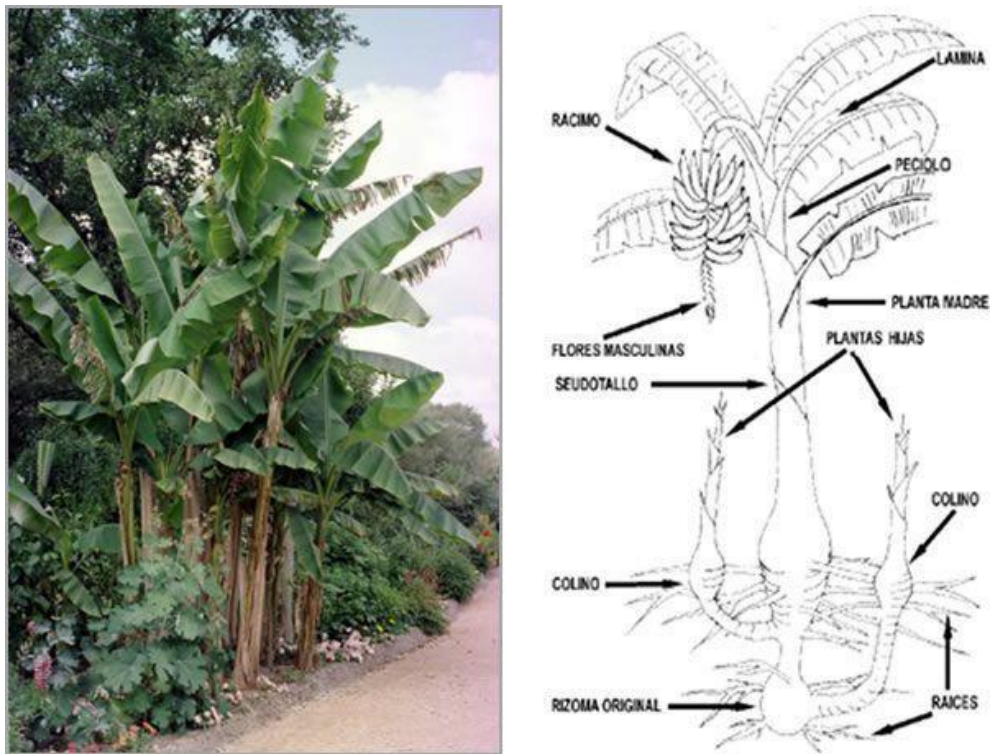
Fue un manjar exclusivamente asiático hasta el siglo VII, cuando los mercaderes Árabes llevaron la planta a África Occidental, donde habría de recibir su nombre formado por la contracción de palabras de la región como bana, gbana, abana, funana y bunane. Hacia aquella época, los exploradores y sacerdotes Portugueses y españoles la llevaron a las islas Canarias.

Luego en 1516, Fray Tomás de Berlanga la trajo a la española y luego se difundió a otras islas y al continente Americano. (RIOFRÍO, 1995)

3.1.1.- MORFOLOGÍA:

Morfológicamente, la planta de Banano consiste de un sistema de raíces fibrosas, un cormo subterráneo y un falso tallo (pseudotallo) que sostiene las hojas, flores y frutos.

Figura 1. Características de la planta de Banano



Fuente: Infoagro.com

3.1.1.1.- LAS RAÍCES:

Tienen forma de cordón y aparecen en grupos de 3 ó 4. Son de color blanco cuando emergen, y a medida que aumenta la edad de la planta, se tornan amarillentas y duras. Su diámetro oscila entre 1.0 y 5.0 rara. En suelos fértiles, bien drenados y profundos, las raíces se pueden extender 1.5 m en profundidad y hasta 5.0 m lateralmente. (Lavillé. 1964)

3.1.1.2.- EL CORMO:

Es un tallo subterráneo con ramificación monopódica. En el ápice se encuentra anidado el punto vegetativo o meristemo apical, a partir de los cuales surgen las raíces y el pseudotallo. La forma del cormo está influenciada por la textura y estructura del suelo, puede variar desde cónica en suelos pesados a cilíndrica achatadas en suelos livianos. El diámetro no excede de los 30 cm. La consistencia suele ser carnosa debido a su alto contenido de parénquima.

3.1.1.3.- EL PSEUDOTALLO:

Ofrece a la planta apoyo y capacidad para almacenar reservas amiláceas; también, le permite alcanzar mayor altura y elevar el nivel de las láminas foliares que captan la luz solar. En una planta adulta puede medir 5.0 m de altura y 40 cm de diámetro según el clon. Su estructura es resistente y puede soportar el peso de las láminas foliares y de su inflorescencia que llega hasta 75 kg.

3.1.1.4.- HOJAS:

Se originan en el punto central de crecimiento o meristemo terminal, situado en la parte superior del rizoma. Al principio, se observa la formación del pecíolo y la nervadura central terminada en filamento, lo que será la vaina posteriormente. La parte de la nervadura se alarga y el borde izquierdo comienza a cubrir el derecho, creciendo en altura y formando los semilimbos. La hoja se forma en el interior del pseudotallo y emerge enrollada en forma de cigarro. Son hojas grandes, verdes y dispuestas en forma de espiral, de 2-4 m de largo y hasta 1,5 m de ancho, con un peciolo de 1 m o más de longitud y un limbo elíptico alargado, ligeramente decurrente hacia el peciolo, un poco ondulado y glabro. Cuando son viejas se rompen fácilmente de forma transversal por el azote del viento.

3.1.1.5.- FLORES:

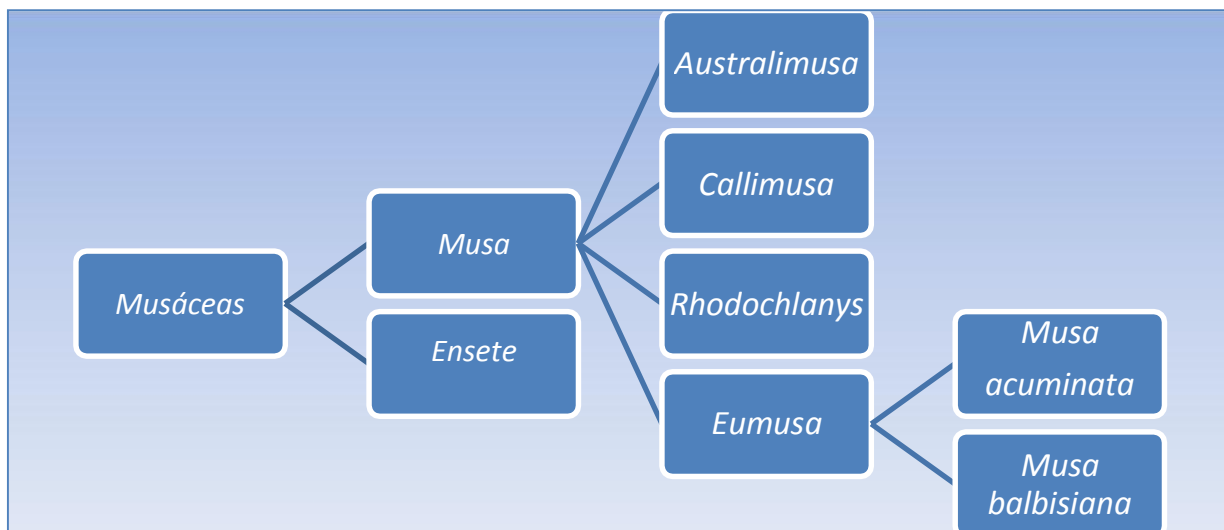
Son amarillentas, irregulares y con seis estambres, de los cuales uno es estéril, reducido a estaminodio petaloideo. El gineceo tiene tres pistilos, con ovario ínfero. El conjunto de la inflorescencia constituye el “régimen” de la platanera. Cada grupo de flores reunidas en cada bráctea forma una reunión de frutos llamada “mano”, que contiene de 3 a 20 frutos. Un régimen no puede llevar más de 4 manos, excepto en las variedades muy fructíferas, que pueden contar con 12-14.

3.1.1.6.- FRUTO:

Baya oblonga. Durante el desarrollo del fruto éstos se doblan geotrópicamente, según el peso de este, determinando esta reacción la forma del racimo. Los plátanos son polimórficos, pudiendo contener de 5-20 manos, cada una con 2-20 frutos, siendo su color amarillo verdoso, amarillo, amarillo-rojizo o rojo. Los plátanos comestibles son de partenocarpia vegetativa, o sea, desarrollan una masa de pulpa comestible sin ser necesaria la polinización. La mayoría de los frutos de la familia de las *Musáceas* comestibles son estériles, debido a un complejo de causas, entre otras, a genes específicos de esterilidad femenina, triploidía y cambios estructurales cromosómicos, en distintos grados.

2.2 CLASIFICACION DE BANANOS Y PLATANOS.

Figura 2. Clasificación de las *Musáceas*.



Fuente: Carrión B. 2015

Están considerados como plantas monocotiledóneas que pertenecen a la familia *Musáceae* y ésta su vez comprende dos géneros: *Musa* y *Ensete*. Éste último, es de uso estético y crece en zona climáticas subtropicales, mientras que el género *Musa* está formado por: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys* y *Eumusa*.

Dentro de *Eumusa* se encuentran los bananos y plátanos comestibles, siendo de mayor importancia económica y distribución geográfica *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, los cuales se clasifican en Grupos que indican la contribución genotípica y el grado de ploidía con que está constituido cada clon, de tal manera que se denomina con la letra "A"(genoma A) a las características semejantes a *M. acuminata* y con "B"(genoma B) a las *M. balbisiana*. En 1955 Simmonds y Shepherd diseñaron un método para indicar la contribución relativa de las dos especies a los diferentes genotipos cultivados, utilizando la designación del genoma A y B. La mayoría de los cultivares comerciales son triploides y pertenecen al grupo AAA. Los tres grupos más importantes que se cultivan a nivel mundial son AAA, AAB y ABB. (SIMMONDS 1995).

Figura 3. Clasificación taxonómica del banano de acuerdo a Simmonds y Shepherd.

Género	Genoma ^a	Tipo	Subgrupo	Cultivares comunes
<i>Musa</i>	AAA	Banano	Gros Michel	Gros Michel Cocos
			Cavendish	Lacatán Dwarf Cavendish Valery (Robusta, Poyo) Grande Naine
<i>Musa</i>	AAB	Plátano	Plátano	Falso cuerno Francés (Dominico)
<i>Musa</i>	ABB	Banano de cocción (guineos)	Maia Maoli	Maqueño Bluggoe (Cuadrado)
				Pelipita

^aLas designaciones A y B en el genoma corresponde a *Musa acuminata* y *M. balbisiana*, respectivamente. El banano es un híbrido natural de estas dos especies de *Musa*.

Fuente: SIMMONDS 1995

2.3 BANANO EN EL ECUADOR

El inicio del “boom” bananero en el Ecuador comienza allá por 1944 y 1948. El historiador Rodolfo Pérez Pimentel narra que a consecuencia de un furioso huracán que azotó la costa del Caribe y destruyó las plantaciones de esta fruta en los países productores de Centro América, el señor Clemente Yerovi (posteriormente Presidente de la República) vio la oportunidad para los agricultores del Litoral y tuvo el acierto de solicitar al gobierno del presidente en funciones, Galo Plaza, la concesión de un préstamo de 22 millones de sucres para el cultivo de la fruta. (LEDESMA E. 2009)

En los primeros años el comercio del banano constituía un riesgo por la carencia de las vías de comunicación, no se disponía de carreteras, lo poco que se recolectaba de las fincas procedentes de cultivos de carácter domestico se lo transportaba en acémilas hasta las estaciones ferroviarias y por vía fluvial hasta los puertos de embarque. Se construyeron grandes vías de comunicación que unían las zonas bananeras que inicialmente estaban aisladas, como el caso de carreteras Santo Domingo – Quevedo; Santo Domingo – Esmeraldas; Duran – Tambo; Boliche – Naranjal – Machala, y unas tantas carreteras más de segundo orden que poco a poco fueron formando la gran red vial que actualmente tiene el Ecuador a lo largo de la costa, donde se encuentran sembradas las plantaciones de banano. (JAMES C. 2009)

Económicamente, los efectos del auge bananero en el país fueron importantes. Se profundizó el modelo de desarrollo capitalista en relación con el mercado mundial. Ecuador se

insertó en un orden internacional en el que asumió claramente el papel de proveedores. Al mismo tiempo se produjo un aumento de la producción nacional en distintos órdenes, se expandieron las relaciones salariales, creció el mercado interno y la economía se diversificó. Los sectores que crecieron fueron la industria, la construcción, la pesca industrial, la producción agropecuaria, el comercio, la banca, el transporte y las comunicaciones. (MIRANDA V. 2011). A partir de 1946, las exportaciones adquieren un ritmo de crecimiento firme y voluminoso a tal punto que desde 1952, el país se convierte en el mayor exportador de una cuantía que determina la enorme diferencia con el país inmediato en la exportación mundial de banano. (RIOFRÍO J. 1995)

3.3.1 SUPERFICIE BANANERA EN ECUADOR.

Según datos oficiales del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, tomado a agosto 31 del 2009, las áreas sembradas inscritas en El Oro, Guayas y Los Ríos (las principales del país) y de otras provincias en dicha dependencia, ascienden a 170.897 hectáreas, desglosadas de la siguiente manera:

Cuadro 1. Superficie Bananera en Ecuador.

AREAS SEMBRADAS INSCRITAS (Has.)				
2011				
EL ORO (Has.)	GUAYAS (Has.)	LOS RÍOS (Has.)	OTRAS (Has.)	TOTAL (Has.)
57.257,68	63.483,22	67.406,50	19.341,96	207.197,36

Fuentes: MAGAP/ SIGAGRO 2013.

En el siguiente cuadro se detalla la producción nacional expresada en toneladas, entre los años 2005 y 2011, con una media aproximada de casi 7 millones de toneladas y un rendimiento de 32,5 tm/ha. Además de la superficie de área cultivada y superficie cosechada.

Cuadro 2. Superficie, Producción y Rendimiento a nivel Nacional.

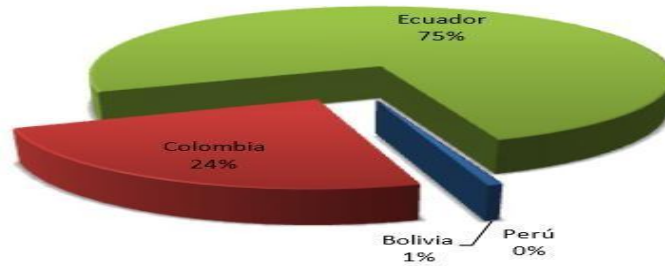
Año	Superficie sembrada (Ha)	Superficie cosechada (Ha)	Producción en fruta fresca Tm	Rendimiento (Tm./Ha)
2005	232.780	221.085	6.118.425	27,67
2006	221.107	209.35	6.127.060	29,27
2007	211.843	197.41	6.002.302	30,41
2008	233.427	215.521	6.701.146	31,09
2009	229.602	216.115	7.637.324	35,34
2010	232.939	218.793	8.237.546	37,65
2011	231.221	217.145	7.842.112	36,18

Fuentes: MAGAP/ SIGAGRO 2013.

3.3.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO

En total, en el mundo se exporta un promedio de 16'340.258,67 TM anuales. En este contexto el principal exportador es Ecuador, quien aporta con un 29 % de las exportaciones mundiales totales. Sus dos competidores cercanos en el mercado mundial son Costa Rica y las Filipinas con 12 % del total de las exportaciones mundiales cada una. En el caso de la CAN, Ecuador también es el principal exportador con el 75 % de la región, le sigue Colombia con el 24 % y Bolivia con tan solo el 1 %. (INEC. 2009).

Figura 4. Exportaciones de banano de Ecuador



Fuente: INEC. 2009

A través de los años el sector bananero con su producción y comercialización ha contribuido en forma directa con el país en la generación de divisas, empleos e ingresos. Inversionistas nacionales y extranjeros han dirigido recursos al sector, para ubicarlo entre los más importantes generadores de divisas.

El PIB del banano en el Ecuador tiene un promedio de 700,45 millones de USD, y una tasa de crecimiento de 5,93 % para el periodo 2002-2009 y alcanza su mayor valor en 2009 con 951,36 millones de USD aproximadamente. La representación promedio del banano dentro del PIB agrícola en el período 2002-2009 es de un 26 %. El valor mínimo se presenta en 2007 con el 20,16 %, y su valor máximo en 2003 con el 33,23 %. La participación del banano en el PIB nacional muestra una trayectoria similar en el mismo período, con un promedio de crecimiento del 2 %. En 2008 alcanza un valor igual al 1,27 % y al 2,56 % en 2003.

Cuadro 3. PIB del Banano del 2002-2009

Año	PIB banano (millones de USD)	PIB nacional (millones de USD)	PIB agrícola (millones de USD)	Participación en PIB nacional	Participación en el PIB agrícola
2002	635,76	24899,48	2047,91	2,55%	31,04%
2003	734,31	28635,91	2209,72	2,56%	33,23%
2004	666,86	32642,23	2218,63	2,04%	30,06%
2005	680,75	37186,94	2462,81	1,83%	27,64%
2006	616,79	41763,23	2790,04	1,48%	22,11%
2007	622,62	45789,37	3026,98	1,36%	20,57%
2008	695,12	54685,88	3448,63	1,27%	20,16%
2009	951,36	58659,98	3548,80	1,62%	26,81%

Fuente: INEC. 2009

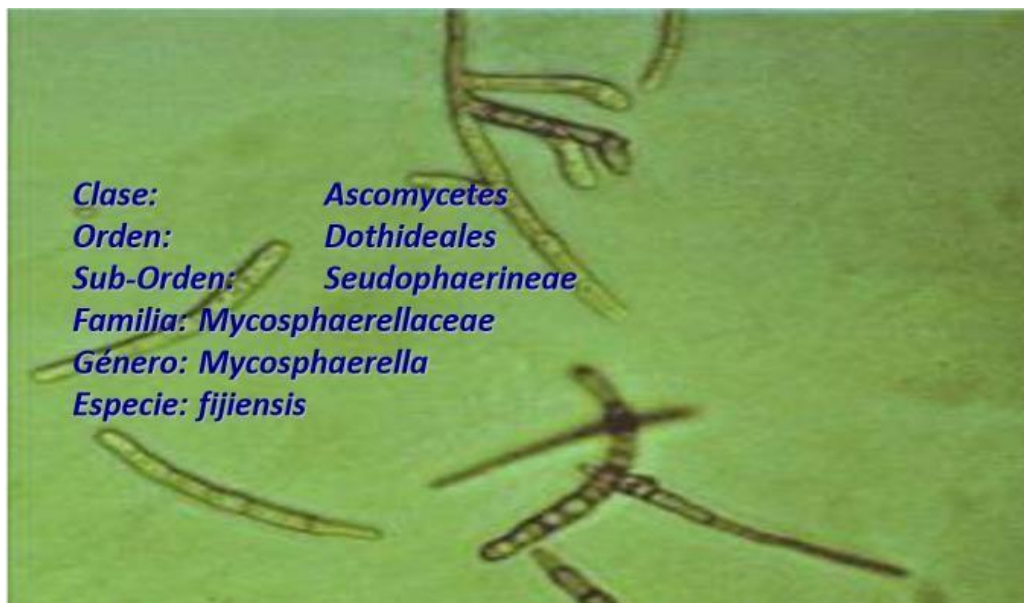
3.4 PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL BANANO

Las plagas y enfermedades constituyen un factor limitante para el desarrollo de las bananeras, para contrarrestar esto, los productores bananeros invierten altas sumas de dinero en el control de enfermedades y plagas (en especial *M. fijiensis*), que ocasiona pérdidas de hasta un 100 % de la producción si ésta no es controlada apropiadamente. (MAURA, F 2007). Entre los problemas fitosanitarios más frecuentes que afronta el cultivo en relación a plagas y enfermedades se tiene: virus del mosaico del pepino (CMV), virus del rayado del banano (BSV), nematodos (*Radopholus similis*, *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne* spp.), picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), y Sigatoka negra (*Micosphaerella fijiensis*); siendo ésta última, es la principal enfermedad responsable de grandes pérdidas económicas en la producción mundial. (BARRIOS M. 2006)

3.4.1.- LA SIGATOKA NEGRA

La Sigatoka Negra es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, pertenece a la clase *Ascomycetes*, orden *Dothideales* familia *Dothideaceae*. Fué descrita por primera vez en la isla de Fiji en 1963, sin embargo, la enfermedad estaba ampliamente difundida en el pacífico antes de su descubrimiento en la isla. A partir de esta fecha, la enfermedad se ha diseminado a través de varias regiones de América Latina y el Caribe: Belice en 1975, Guatemala, Costa Rica, El Salvador y Nicaragua en 1977. México y Panamá en 1980, Colombia en 1981, Ecuador en 1986, Venezuela y Cuba en 1991; Jamaica y Perú en 1994, República Dominicana en 1996, Bolivia en 1997 y Brasil, en 1998. (BARRIOS. M. 2006).

Figura 5. Clasificación de *M. fijiensis*.



Fuente: CARRIÓN B. 2015

Este hongo tiene la característica de reproducirse tanto sexual como asexualmente durante su ciclo de vida, lo que dificulta su manejo. La fase asexual, genera conidios que son liberados desde los conidióforos a partir de las primeras lesiones de la enfermedad (pizcas o estrías). La fase sexual produce una gran cantidad de ascosporas desde estructuras llamadas peritecios, los cuales se forman sobre la superficie del estado de lesión más avanzado de la enfermedad. (MEREDITH. 1970.)

Como producto de la gran capacidad reproductiva del hongo, éste ha alcanzado una amplia variedad genética y patogénica que le ha permitido adaptarse a diversas condiciones ambientales. Entre las variables agrometeorológicas que influyen en la germinación, penetración y éxito en la colonización de los tejidos internos y desarrollo de *M. fijiensis*, se encuentra la temperatura, la humedad relativa, el viento y la precipitación; las cuales definen la dinámica del inoculo y el impacto de la enfermedad en los rendimientos. (MARÍN.2003).

La enfermedad provoca desórdenes significativos en el crecimiento vegetativo de la planta, la cual sufre un severo deterioro del área foliar y de la productividad del cultivo, al disminuir su capacidad fotosintética. De presentarse esta condición, la planta no logra extraer de las hojas los elementos nutritivos para llevarlos al racimo y llenarlo; éste puede presentar madurez prematura y la fruta no sirve para la exportación (HERRERA, 2007).

3.4.2 ESTADIOS EVOLUTIVOS DEL HONGO EN LA HOJA DEL BANANO.

Los síntomas de la enfermedad, bajo condiciones controladas de invernadero pueden desarrollarse por completo desde los 10 hasta los 50 días (ROMERO, JE. 2005). Según la escala de Fouré, los síntomas de la Sigatoka negra se pueden reconocer a través de seis estadios. (ÁLVAREZ E, PANTOJA A, GAÑÁN L Y CEBALLOS G. 2013)

3.4.2.1.- ESTADIO 1:

Se observa una pequeña mancha rojiza (peca). Esta puede observarse únicamente en el envés (parte de abajo) de las hojas 2 y 3. Son más abundantes en el lado izquierdo cercano del borde de la hoja.

3.4.2.2.- ESTADIO 2:

Se caracteriza por una raya marrón rojiza, paralela a la venación que puede observarse por ambos lados de la hoja.

3.4.2.3.- ESTADIO 3:

La raya se torna más ancha y el color comienza a cambiar de rojo a marrón oscuro

3.4.2.4.- ESTADIO 4:

Se caracteriza por manchas marrón oscuras en el envés de la hoja y manchas negras irregulares en el haz de la hoja.

3.4.2.5.- ESTADIO 5:

En el haz de la hoja se observa un halo clorótico alrededor de la mancha negra.

3.4.2.6.- ESTADIO 6:

El centro de la mancha adquiere un color blanco grisáceo con bordes negros y de apariencia hundida.

Figura 6. Estadios Evolutivos de Sigatoka Negra



Fuente: ALVARADO A. 2007

3.4.2.7.- PERIODO DE INCUBACIÓN (PI):

Número de días desde el momento de la inoculación hasta la aparición del primer estadio (pizcas).

3.4.2.8.- PERIODO DE LATENCIA (PL):

Tiempo transcurrido entre la aparición de las estrías y las primeras manchas en estadio 6.

3.4.2.9.- TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE SÍNTOMAS (TES):

Número de días desde la aparición de los primeros síntomas (estadio 1) hasta el final de estos (estadio 6).

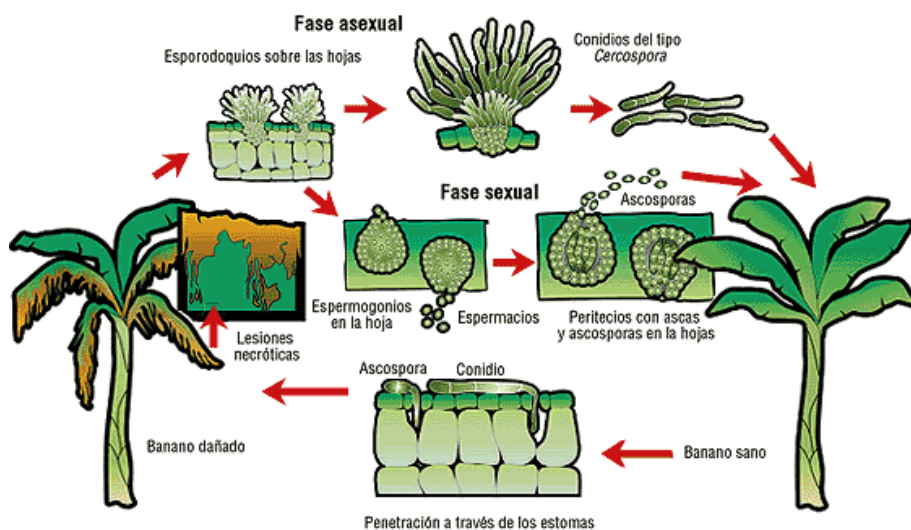
3.4.2.10.- TIEMPO DE DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD (TDE):

Número de días entre el momento de la inoculación y la aparición de las primeras manchas necrosadas en la hoja (estadio 6).

3.5 CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de *M. fijiensis* inicia con la deposición de las esporas, ya sean ascosporas o conidios, sobre las hojas del banano. La germinación y penetración del inóculo ocurre únicamente cuando se dan las condiciones favorables para su reproducción tales como son: humedad relativa de 90 a 100%, temperaturas de 26 a 28°C y, sobre todo, presencia de agua libre sobre las hojas. En estas condiciones, las esporas germinan en un período de 2 a 6 horas, formando tubos germinativos que se extienden y ramifican en busca de los estomas. De esta forma inicia el proceso de penetración que tarda de 2 a 3 días si las condiciones de humedad relativa, temperatura y moja dura foliar son las adecuadas. (BELALCÁZAR. 1991; MERCHÁN. 2000; PATIÑO Y MEJÍA. 1999; PLOETZ. 1994; SIERRA. 1993).

Figura 7. Ciclo de vida de *M. fijiensis*



Fuente: BAYER MEXICO 2014

Las ascosporas o esporas de origen sexual se desarrollan en el interior de cuerpos fructíferos conocidos como ascócarpos o pseudotecios y se desprenden de la lesiones en estadio 5 y 6. Mientras que las conidias o esporas de origen asexual se producen sobre los conidióforos y se desprenden desde el estadio 2 hasta el 6. Las conidias se desprenden del conidióforo, por acción de agentes ambientales como agua y el viento.

3.6 CONTROL DE LA SIGATOKA NEGRA.

El manejo integrado de enfermedades se considera una herramienta sustentable para el combate de patógenos, mediante la combinación de métodos químicos, culturales, físicos y biológicos que minimicen los riesgos económicos, de salud y ambientales. (HOLLIER, 2004). Para controlar la enfermedad se debe intervenir en uno o en varios puntos del ciclo de vida del hongo para tratar de minimizar la cantidad de esporas producidas por el inóculo.

3.6.1.- CONTROL CULTURAL.

El cultivo de banano con un buen control cultural como: densidad de siembra 10 %, deshoje fitosanitario 10 %, drenajes secos 10 %, control de malezas 5 %, sistema de riego 5 % y fertilización 10 % permiten evitar o disminuir la alta humedad relativa y alta temperatura, lo que facilita un microclima favorable a la plantación. Pero estas prácticas por si solas no son

suficientes para el control de la enfermedad, lo que es complemento los fungicidas 50 %.

(COMTEC. 2000.)

3.6.2.- 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. 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 bananero está presente todo el año. Se han probado varias bacterias (incluyendo *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Serratia* spp.) para el control de *M. fijiensis*, pero aún la investigación del control biológico está en sus etapas preliminares. (SIERRA. L 1993.)

3.6.3.- MEJORAMIENTO GENÉTICO

Las técnicas de hibridación son frecuentemente usadas con la finalidad de obtener plantas genéticamente más resistentes a enfermedades y plagas; y alcanzar mayor rendimiento en la producción de la fruta. Sobre estas perspectivas varios investigadores lo han venido utilizando en las musáceas para contrarrestar la Sigatoka negra. En Venezuela, (GARCIA A y SOSA L 2001)

evaluaron el comportamiento agronómico del híbrido de plátano resistente a Sigatoka negra, denominado FHIA-21, de manera de poder ofrecerle al pequeño y mediano productor una alternativa en el cultivo del plátano. Los resultados obtenidos de este trabajo indican la buena adaptación del híbrido a la zona y su resistencia a la Sigatoka negra, constituyéndose en una alternativa viable de producción para el pequeño y mediano productor de plátano sin tener que recurrir a agroquímicos para el control de la enfermedad. No obstante, posee muchos detractores que consideran que su aceptación implicará una limitación para su comercialización nacional e internacionalmente, como lo han vivido y lo siguen experimentando los agricultores. Las razones que alegan es que estos híbridos en general poseen baja adaptación al manejo post cosecha tradicional y características organolépticas diferentes a los clones comerciales.

3.6.4.- CONTROL QUÍMICO.

Es actualmente la medida de control más usada para reducir los estragos de esta enfermedad, sin embargo, la mayor preocupación de esta medida es la mala práctica en la aplicación de fungicidas, favoreciendo a la resistencia genética de *M. fijiensis*. El control químico se hace mediante aspersiones aéreas y terrestres en las que se utilizan fungicidas, aceites minerales y emulsificantes. Los cultivadores gastan del 30 a 40% de sus ingresos brutos en fungicidas. (OROZCO M. 1998). Para prevenir la resistencia del hongo con los fungicidas, se debe evitar el uso exclusivo y continuo de los mismos. Estos se pueden agrupar en dos categorías según el modo de acción:

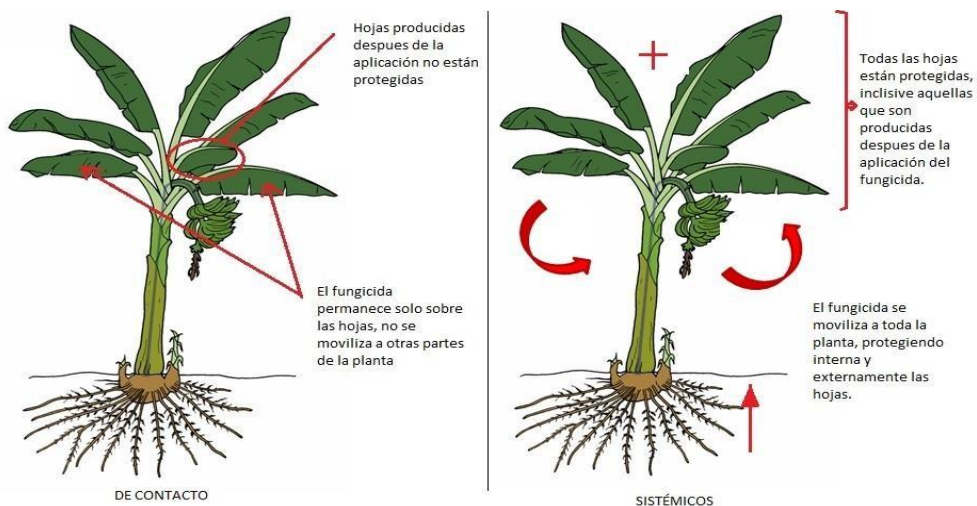
3.6.4.1 DE CONTACTO:

Son de acción preventiva ya que actúan en el lugar donde hacen contacto con la planta y no son capaces de penetrar al interior de la hoja, de esta forma protegen únicamente las partes de las hojas fumigadas, impidiendo la germinación de las esporas sin tener acción sobre las infecciones ya establecidas.

3.6.4.2.- SISTÉMICOS.

Estos tienen acción preventiva y curativa ya que atraviesan la cutícula y traslocan vía floema hacia otros puntos distantes de la planta. El ingrediente activo actúa sobre sitios específicos de las células del hongo, induciendo la formación de razas resistentes, si estos se aplican con mucha frecuencia.

Figura 8. Modo de acción de los Fungicidas



Fuente: CARRIÓN B. 2015

3.7 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FUNGICIDAS

Según (COMTEC. 2000) los mecanismos de acción de los fungicidas pueden ser:

- Fungicidas que actúan como tóxicos generales.
- Fungicidas que actúan sobre la respiración.
- Fungicidas que actúan sobre la mitosis y división celular.
- Fungicidas que actúan sobre la síntesis de A. nucleicos y la biosíntesis de las proteínas.
- Fungicidas que actúan sobre la membrana celular.

3.8 ESTIMULACIÓN DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA EN PLANTAS.

Existe un grupo importante de bacterias y hongos que presentan efectos antagónicos contra otros microorganismos. Sin embargo, aún no se ha logrado determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta huésped. Para *Trichoderma*, se ha considerado un complejo de mecanismos que incluye: competencia por nutrientes y espacio, antibiosis, micoparasitismo e inducción de resistencia. Hongos como *Fusarium oxysporum* no patogénico, se le adjudican como modos de acción más importantes: inducción de resistencia, competencia por nutrientes en la rizosfera y competencia por sitio de infección. (HARMAN. 2004)

3.8.1 INDUCCIÓN DE RESISTENCIA.

La inducción de resistencia consiste en la estimulación, por parte de moléculas activadoras, de los mecanismos de defensa en el hospedante. En ciertos casos, la inducción de resistencia inicia con una respuesta local por parte de la planta alrededor del punto de necrosis y es asociada con un incremento rápido de la síntesis de ácido salicílico (AS) y la posterior activación de un gran número de genes que codifica para la producción de proteínas (PR) relacionadas con la patogenicidad. Subsecuentemente, la resistencia se expresa sistémicamente y se desarrolla en todas las partes de la planta, fenómeno conocido como Resistencia Sistémica Adquirida (RIVEROS, AS. 2001).

En la actualidad, se han sugerido una serie de inductores sintéticos de resistencia que involucran el ácido salicílico (AS) como señal intermediaria que conduce a SAR inhibiendo la acción de la catalasa; convirtiendo el H_2O_2 en H_2O y O_2 . La inhibición resulta en una acumulación de especies reactivas de oxígeno que puede actuar como mensajeros secundarios para inducir la expresión de los genes responsables de SAR (CHET. I; INBAR. J. 1994). No obstante, algunos autores consideran que la inhibición de la catalasa no solo se logra por acción del AS. La inducción de ciertas proteínas no es producto de la acumulación del H_2O_2 sino del AS directamente, además, la actividad de la enzima no decrece con el tratamiento de AS. Así mismo, los niveles de AS dentro del tejido son muy bajos como para inhibir la catalasa, y el H_2O_2 en altos niveles también puede inducir la producción de AS (HAMMERSOEHMIDT. R; SMITH. R. 2000.)

Diferentes inductores bióticos como proteínas, glicoproteínas, péptidos, quitina, glucano, polisacáridos y lípidos, han sido encontrados en fluidos de esporas en germinación, filtrados de cultivos de hongos y bacterias, paredes celulares o membranas de hongos fitipatógenos, al igual que en el espacio apoplástico de las plantas donde se encontraba el hongo en proceso de colonización intercelular (RIVEROS. AS. 2002).

Dentro del género *Mycosphaerella* se ha reportado que la especie *M. pinodes*, la cual secreta un elicitor en su fluido de picnosporas en germinación, induce mecanismo de defensa en plantas mediante la producción de fitoalexinas, además de un incremento en la actividad de proteínas PR como 8-1,3-glucanasa y endoquitinasa. Este elicitor, además, de inducir las respuestas de defensa, responde a un supresor que bloquea esta misma, condicionando los tejidos de la planta a ser susceptibles. La acción de este supresor parece estar relacionada con base en el tipo de interacción que puede ser específica a una especie o en forma similar a la especificidad entre el cultivar y una raza del patógeno. (DARVILL. AG; ALBERSHEIM. P. 1984).

3.9 RESISTENCIA DE LOS FUNGICIDAS.

El uso exclusivo y excesivo de los fungicidas con modo de acción específica, puede dar lugar a selección de razas de hongos resistentes a dichos fungicidas; se manifiestan por una reducción de la sensibilidad a dichos productos, con la consiguiente pérdida de eficacia de los

mismos para dichos hongos. Resistencia a un organismo es cuando un producto químico no causa el mismo efecto sobre las poblaciones del mismo, en las mismas concentraciones (COMTEC. 2000).

3.10. IMPACTO DE LAS FUMIGACIONES

Desde la época de la revolución verde, en la década del 60 al 70, se ha venido intensificando el uso de fungicidas químicos para el control de las enfermedades de las plantas, y así vemos que en el caso específico del banano, la mayoría de los pequeños y medianos bananeros sufren pérdidas económicas a causa del incremento del costo de los insumos y de los continuos ciclos de fumigación aérea. (AGUIRRE C. 2013)

Cuando hablamos de ciclos de fumigaciones, estamos hablando de aspersiones aéreas. Normalmente la industria bananera y las empresas bananeras actualmente están en un promedio de 22 a 29 ciclos de aspersiones aéreas al año. Esto significa que se fumiga cada 15 días en las zonas aproximadamente. Sobre todo hay que tener en cuenta una situación: cuando se fumiga, no se fumiga para curar, se fumiga para prevenir. Se están usando toneladas de químicos, por cada hectárea se están utilizando en promedio 65 Kilos de plaguicidas al año. (TEGANTAI .2012)

El impacto sobre el medio ambiente por éste indiscriminado uso de agroquímicos, está afectando tanto a poblaciones que residen dentro o bien en las inmediaciones de plantaciones bananeras. Es de conocimiento público, a pesar de que los grandes empresarios han intentado minimizar lo que es evidente, que la gran cantidad de productos químicos empleados en las fumigaciones de varias hectáreas de banano, tienen un elevado índice de toxicidad, tanto así que son calificados como “veneno”, no solo para el ser humano, sino para el agua, la tierra el aire, la flora y fauna de los alrededores, es difícil determinar el tiempo de duración y permanencia de dichos productos, pero lo que se puede saber a ciencia cierta, utilizando nada más que el sentido común, es que este fenómeno no solo afectara a quienes habitan en dichos lugares hoy en día, sino que lo hará de igual o peor manera a las generaciones venideras. (MALDONADO A, MATÍNEZ A. 2007).

CAPITULO IV

3. HIPÓTESIS

4.1 HIPÓTESIS NULA

ACTIVFOL posee propiedades similares a **TRIAMIN**, que actúa como un bioestimulante de la planta de banano, frente al hongo *Mycosphaerella fijiensis* causante de Sigatoka negra.

4.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA

ACTIVFOL **no** posee propiedades similares a **TRIAMIN**, que actúa como un bioestimulante de la planta de banano, frente al hongo *Mycosphaerella fijiensis* causante de Sigatoka negra.

CAPITULO V

4. MATERIALES Y METODOS

5.1 LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue realizada en la UTMACH, en la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Área de Microbiología, situada en la vía Machala – Pasaje, Km 5 ½ y en el CIBE (Centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, situada en la vía perimetral, Km 30.5.

5.2 MATERIALES Y EQUIPOS

5.2.1 MATERIAL DE ESTUDIO:

- Hongo de Sigatoka Negra: *Mycosphaerella fijiensis*
- ACTIVFOL
- TRIAMIN

5.2.2 MATERIALES

- Tubos de ensayo
- Canaletes
- Micro pipetas

- Pipetas
- Probetas
- Cajas Petri
- Buretas
- Vasos de precipitación
- Matraces Erlenmeyer
- Agitadores
- Tubos Falco de 15 ml y 50ml
- Placas de micro titulación 96 pocillos de 300 μ l Nunclon
- Puntas de 10, 200, 1000 μ l

5.2.3 EQUIPOS

- Plancha de agitación y calentamiento.
- Incubadora
- Esterilizador
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Estereoscopio
- Microscopio
- Cámara de neuvahuer
- Espectrofotómetro Uv **Biotek (Synergy HT)**

5.2.4 REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

- PDA (Papa Dextrosa Agar)
- Agar Agua 2 %
- Tween 20 al 0.005 %
- Etanol 70 %
- Isopropanol 70 %.
- PDB (Caldo Papa Dextrosa)

5.3 VARIABLES DE ESTUDIO

5.3.1 VARIABLE DEPENDIENTE

- Sensibilidad o respuesta del Hongo *Mycosphaerella Fijiensis*

5.3.2 VARIABLE INDEPENDIENTE

- Dosificación de los productos **ACTIVFOL Y TRIAMIN.**

5.4 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

La presente investigación es de tipo **Experimental - Descriptivo**, ya que se describió el comportamiento o respuesta que tiene la variable dependiente (*M. fijiensis*) al manipular la variable independiente (ACTIVFOL Y TRIAMIN) en diferentes concentraciones (32, 100, 320, 1000, 3200 y 5000 ppm) para evaluar su efectividad.

5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL:

Inicialmente se deseaba usar el método del disco en placa, usualmente empleado para detectar la efectividad de diferentes agentes o moléculas de acción terapéuticas sobre determinados microorganismos específicos, el cual consiste en poner discos de papel filtro de 5 mm de diámetro previamente esterilizados, impregnados con la muestra en estudio, sobre la superficie de un medio de cultivo selectivo sembrado con el hongo en cajas Petri. Concluido el tiempo de incubación se examina la superficie del agar, esperando encontrar halos de inhibición del hongo alrededor de los discos, las cuales se miden en milímetros con la ayuda de un calibrador vernier.

Este método presentó inconvenientes, debido a que al hacer las observaciones al microscopio el medio se encontraba contaminado con *Fusarium oxysporum*, ya que no se contaba con la instrumentación necesaria para el aislamiento de *M. fijiensis*. Otro contratiempo presentado fue que el crecimiento del hongo, el cual lo hacía de forma filamentosa, resultando difícil e inexacta la lectura del halo de inhibición.

Con estos antecedentes se gestionó trabajar en conjunto con el CIBE de la Escuela Superior Politécnica del Litoral de Guayaquil, el cual contaba con las instalaciones e instrumentación idóneas para realizar este tipo de investigación.

Para evaluar la sensibilidad de la Sigatoka negra frente a ACTIVFOL y TRIAMIN se utilizó un método validado por el CIBE por espectrofotometría en placas de ELISA, para lo cual preparamos diluciones en las siguientes concentraciones: 32, 100, 320, 1000, 3200 y 5000 ppm.

Cada dilución se la analizó en placas de Elisa de 96 pocillos frente a las cepas de *M. fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas, colocando en la primera fila el **Blanco de muestra** (caldo PDB + concentración de producto sin inóculo de Sigatoka) y en la segunda fila el **Control de la muestra** (caldo PDB + inóculo de *M. fijiensis*, sin concentración de producto). En cada pocillo de la placa se colocó 50 µL de inóculo más 200 µl de PDB con las concentraciones respectivas del producto a evaluar. . Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó las lecturas en el espectrofotómetro a 690 nm. de longitud de onda, siendo las Absorbancias encontradas proporcionales a las concentraciones inhibitorias de *M fijiensis*.

5.5.1 TIPO DE DISEÑO

Se empleó el diseño de bloques completos al azar, evaluando a 2 productos, empleando un control y 6 concentraciones diferentes con 8 repeticiones cada una, sobre 2 inóculos de *M. fijiensis*, provenientes de las provincias de El Oro y Esmeraldas.

5.6 METODOLOGÍA:

5.6.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

En un principio se seleccionó el tejido necrosado de hojas de banano infectadas con Sigatoka negra, recolectadas en la hacienda Santa Inés perteneciente a la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la UTMach. Posteriormente, la muestra se aisló de la colección perteneciente al CIBE, de muestras *M. Fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas.

5.6.2 DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD DE *M. fijiensis* FRENTE A ACTIVFOL Y TRIAMIN POR ESPECTROFOTOMETRÍA EN PLACAS DE ELISA

5.6.2.1 REPRODUCCION DE *M. fijiensis* EN PLACAS CON MEDIO PDA

Bajo cámara de flujo laminar, de las cepas de *Mycosphaerella fijiensis*, tanto de la provincia de El Oro como la de Esmeraldas de la colección perteneciente al CIBE, se extrajo cuidadosamente el tejido y se procedió a suspenderlo en 9 mL de Tween 20 al 0.005 % estéril. Aparte, preparamos y autoclavamos 500 mL de PDA (Papa Dextrosa Agar), para realizar un vertido en placa, colocando 2 mL de la suspensión dentro de una caja petri estéril y vertiendo sobre ésta 18 mL de PDA a 60 °C, una vez solidificado el agar las cajas se incuban entre 27 a 29 °C por 15 días, chequeando diariamente el cultivo para asegurar que no haya contaminación.

5.6.2.2 OBTENCIÓN DEL MICELIO

De las cajas petri ya cultivadas se procedió a hacer una dilución 1/5 en tubos falcon con Tween 20 al 0.05 % y se dejó reposar por 12 horas. Aparte, se esterilizan 3 rulimanes de 4 mm de diámetro para posterior a las 12 horas de reposo colocarlos dentro de los tubos y proceder hacer una trituración por agitación vigorosa por aproximadamente 20 minutos. Después de la trituración de los micelios, la dilución se filtró por membrana poro 100 μm .

5.6.2.3 CONTEO DE MICELIOS

El conteo se lo realizó con un microscopio con lente 40 X, colocando 10 μL del filtrado en una cámara de Neuvahuer. Para estimar el número de micelios/cc se hace un promedio contando todas las células observadas en los cuatro cuadrantes esquineros y multiplicar este valor por 10000. De la siguiente forma:

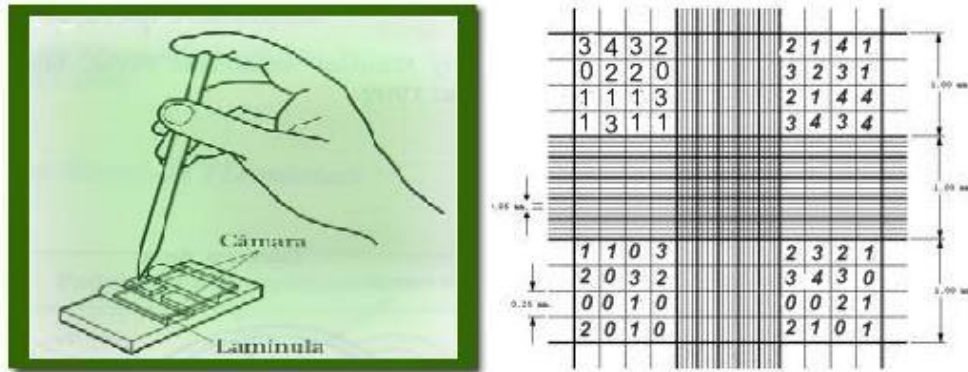
Para la provincia de Esmeralda se obtuvo: L1=55, L2=35, L3=46, L4=56

$$\frac{\text{Micelios}}{\text{mL}} = \frac{(55+35+46+56) \times 10000}{4} = 48 \times 10^5 \text{mic/mL}$$

Para la provincia de El Oro se obtuvo: L1=67, L2=39, L3=42, L4=60

$$\frac{\text{Micelios}}{\text{mL}} = \frac{(67+39+42+60) \times 10000}{4} = 52 \times 10^5 \text{mic/mL}$$

Figura.9 Campos de observación de la cámara de Neuvahuer



Fuente: CARRIÓN 2015

5.6.2.4 CONCENTRACIÓN DE MICELIOS

Para efectos de cálculos se utiliza la fórmula: $V1 \times C1 = V2 \times C2$. De acuerdo a la metodología del CIBE necesitamos preparar 10 mL que contenga una concentración de 5×10^5 micelios/mL. De esta forma procedemos de la siguiente forma:

Cuadro 4. Cálculo de concentración de micelios.

ESMERALDAS	EL ORO
$V1 = \frac{5 \times 10^5 \text{ mic/ml} \times 10000 \text{ ul}}{48 \times 10^5 \text{ mic/ml}}$	$V1 = \frac{5 \times 10^5 \text{ mic/ml} \times 10000 \text{ ul}}{52 \times 10^5 \text{ mic/ml}}$
$V1 = 1042 \text{ ul} + 8958 \text{ } \mu\text{l H}_2\text{O}$	$V1 = 962.0 \text{ ul} + 9038 \text{ } \mu\text{l H}_2\text{O}$

Fuente: CARRIÓN 2015

5.6.2.5 PRUEBA DE SENSIBILIDAD DE TRIAMIN Y ACTIVFOL.

Para evaluar la sensibilidad de Activfol y Triamin se prepararon diluciones en las siguientes concentraciones: 15, 32, 100, 320, 1000, 3200, 5000 y 10000 ppm. En cada pocillo se colocó 50 µL de inóculo más 200 µl de PDB con las concentraciones respectivas del producto a evaluar. Cada dilución se la analizó en placas de Elisa de 96 pocillos frente a las cepas de *M. fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas, colocando en la primera fila el **Blanco de muestra** (caldo PDB + concentración de producto sin inóculo de Sigatoka) y en la segunda fila el **Control de la muestra** (caldo PDB + inóculo de *M. fijiensis*, sin concentración de producto).

Figura 10. Esquema de la placa de Elisa

Conc. PPM	Blanco	Control	15	32	100	320	1000	3200	5000
Réplica 1									
Réplica 2									
Réplica 3									
Réplica 4									
Réplica 5									
Réplica 6									
Réplica 7									
Réplica 8									

Fuente: CARRIÓN 2015

Procedimos a sellar y rotular las placas para posteriormente incubar a 26 grados Celsius por un lapso de 11 días. Finalizado el tiempo de incubación, realizamos las lecturas de las placas de ELISA, de ACTIVFOL y TRIAMIN a una longitud de onda de 690 nm en el espectrofotómetro. El valor de absorbancia encontrado es proporcional al crecimiento o concentración de micelio en el medio de cultivo. Con estos valores pudimos conocer la sensibilidad inhibitoria de los productos en estudio, sobre las cepas de Sigatoka negra.

CAPITULO VI

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron pruebas de sensibilidad sobre dos aislados de *Mycosphaerella fijiensis* obtenidos de las provincias de El Oro y Esmeraldas respectivamente frente al producto TRIAMIN. Las concentraciones de producto evaluadas fueron 32, 100, 320, 1000, 3200 y 5000 ppm con ocho réplicas. Los resultados fueron los siguientes:

Cuadro 5. Lecturas de TRIAMIN frente a la cepa proveniente de la provincia de El Oro.

Conc. Ppm	C	32	100	320	1000	3200	5000
Réplica 1	0,832	0,768	0,719	0,785	0,754	0,629	0,75
Réplica 2	0,726	0,747	0,799	0,751	0,721	0,739	0,753
Réplica 3	0,749	0,737	0,723	0,734	0,759	0,713	0,712
Réplica 4	0,807	0,75	0,698	0,777	0,71	0,689	0,705
Réplica 5	0,842	0,816	0,956	0,815	0,788	0,777	0,741
Réplica 6	0,794	0,786	0,874	0,851	0,798	0,74	0,79
Réplica 7	0,775	0,782	0,781	0,787	0,795	.819	1,127
Réplica 8	0,787	0,766	0,8	0,779	0,768	0,791	0,753
Promedio	0,79	0,77	0,79	0,78	0,76	0,73	0,79
Crecimiento %	100	97	101	99	97	92	100

Fuente: CARRIÓN 2015

Cuadro 6. Lecturas de TRIAMIN frente a la cepa proveniente de la provincia de Esmeraldas.

Conc. Ppm	C	32	100	320	1000	3200	5000
Réplica 1	0,827	0,839	0,713	0,72	0,729	0,689	0,611
Réplica 2	0,725	0,885	0,784	0,719	0,758	0,612	0,759
Réplica 3	0,809	0,614	0,785	0,795	0,648	0,665	0,62
Réplica 4	0,796	0,658	0,731	0,792	0,708	0,62	0,731
Réplica 5	0,706	0,568	0,56	0,649	0,62	0,683	0,547
Réplica 6	0,589	0,548	0,611	0,539	0,574	0,521	0,533
Réplica 7	0,739	0,65	0,554	0,546	0,686	0,683	0,519
Réplica 8	0,817	0,777	0,653	0,622	0,728	0,631	0,641
Promedio	0,75	0,69	0,67	0,67	0,68	0,64	0,62
recimiento %	100	92	90	90	91	85	83

Fuente: CARRIÓN 2015

Se realizó la prueba de sensibilidad sobre dos aislados del hongo *Mycosphaerella fijiensis* de las provincias de El Oro y Esmeraldas respectivamente frente al producto ACTIVFOL en concentraciones de 15, 32, 100, 320, 1000, 3200 y 5000 ppm con ocho réplicas. Los resultados fueron los siguientes:

Cuadro 7. Resultados de Activfol frente a una cepa aislada de la provincia de El Oro.

Conc. Ppm	B	C	32	100	320	1000	3200	5000
Réplica 1	0,142	1,168	0,792	0,455	0,185	1,285	0,294	0,384
Réplica 2	0,144	0,74	0,423	0,656	0,113	0,855	1,031	0,716
Réplica 3	0,47	0,519	0,567	0,572	0,18	1,002	0,436	0,421
Réplica 4	0,471	0,559	0,565	0,79	0,27	0,329	0,572	0,738
Réplica 5	0,142	1,27	0,792	0,476	0,289	1,177	0,303	0,394
Réplica 6	0,144	0,64	0,529	0,939	0,115	0,859	1,051	0,723
Réplica 7	0,47	0,621	0,469	0,472	0,183	0,519	1,02	0,423
Réplica 8	0,471	0,548	0,429	0,894	0,258	0,333	0,55	0,753
Promedio	0,307	0,758	0,571	0,657	0,199	0,488	0,350	0,262
Crecimiento %		100	75	87	26	64	46	35

Fuente: CARRIÓN 2015

Cuadro 8. Resultados de Activfol frente a una cepa aislada de la provincia de Esmeraldas.

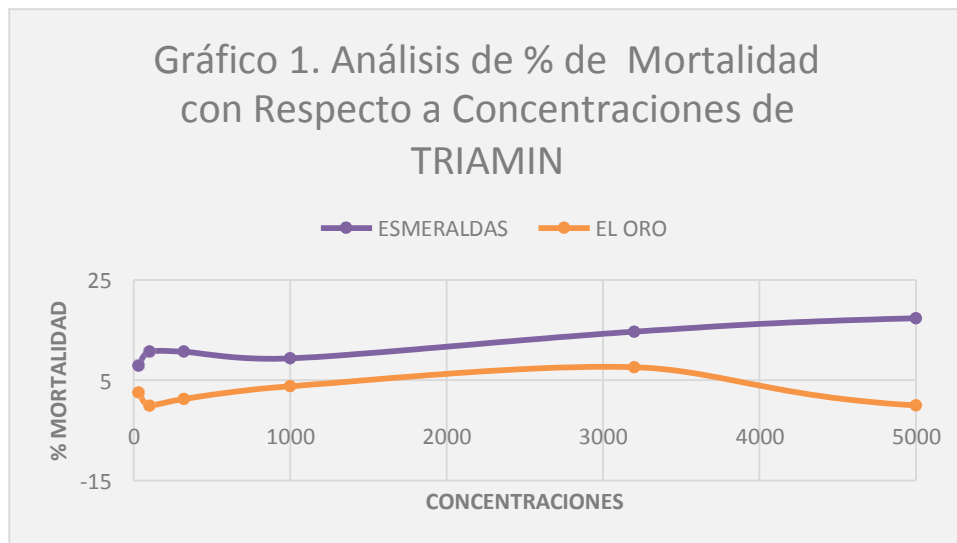
Conc. Ppm	B	C	32	100	320	1000	3200	5000
Réplica 1	0,142	0,862	1,624	1,204	1,917	2,192	1,465	0,35
Réplica 2	0,144	2,236	-0,011	1,085	0,352	1,771	0,985	0,557
Réplica 3	0,47	2,769	1,72	0,95	0,77	2,155	1,286	0,205
Réplica 4	0,471	2,339	0,884	0,876	0,943	2,049	1,739	0,807
Réplica 5	0,142	0,873	1,654	1,204	0,645	2,194	1,434	0,38
Réplica 6	0,144	2,231	-0,011	1,088	0,35	2,069	0,98	0,555
Réplica 7	0,47	2,773	1,755	0,957	0,745	2,153	1,272	0,207
Réplica 8	0,471	2,341	0,883	0,872	0,943	2,042	1,748	0,797
Promedio	0,307	2,053	1,062	1,030	0,833	1,771	1,057	0,176
Crecimiento %		100	52	50	41	86	51	9

Fuente: CARRIÓN 2015

Cuadro 9. Tasa de mortalidad en % de *M. fijiensis* con respecto a TRIAMIN.

TRIAMIN	% MORTALIDAD	
Conc. (ppm)	EL ORO	ESMERALDAS
32	3	8
100	0	11
320	1	11
1000	4	9
3200	8	15
5000	0	17

Fuente: CARRIÓN 2015



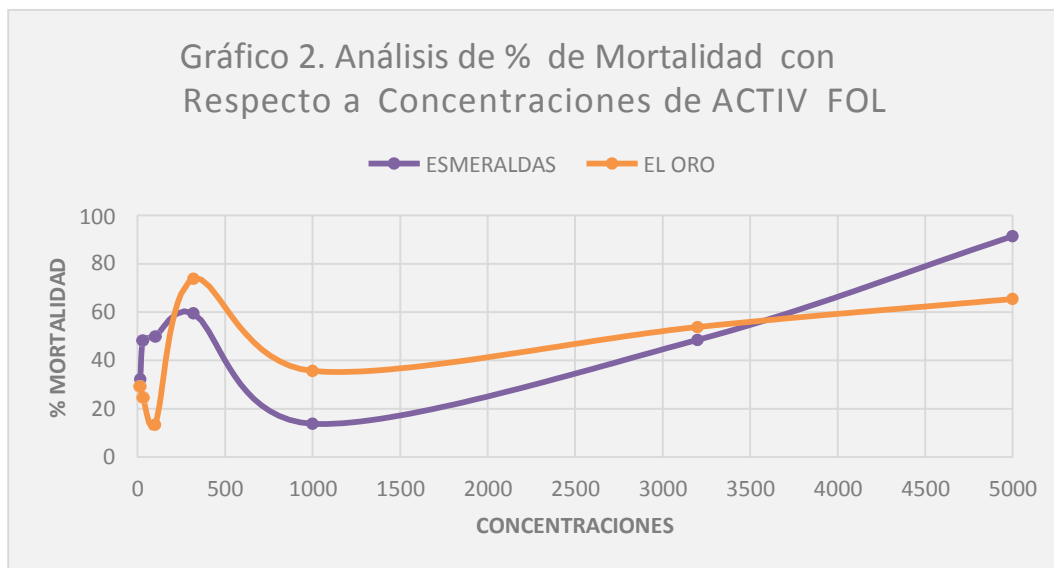
Fuente: CARRIÓN 2015

De acuerdo al gráfico 1 la tasa de mortalidad del producto Triamin no es muy significativa por tal motivo no se pudo referenciar el CL50 ya que ninguna concentración sobrepasa o iguala a la media, no obstante la mayor concentración de mortalidad fue en 5000 ppm con un 17 % de inhibición en la cepa de *M. Fijiensis* de Esmeraldas.

Cuadro 10. Tasa de mortalidad en % de *M. fijiensis* con respecto a ACTIV FOL.

ACTIV FOL Conc. (ppm)	% MORTALIDAD	
	EL ORO	ESMERALDAS
32	25	48
100	13	50
320	74	59
1000	36	14
3200	54	49
5000	65	91

Fuente: CARRIÓN 2015



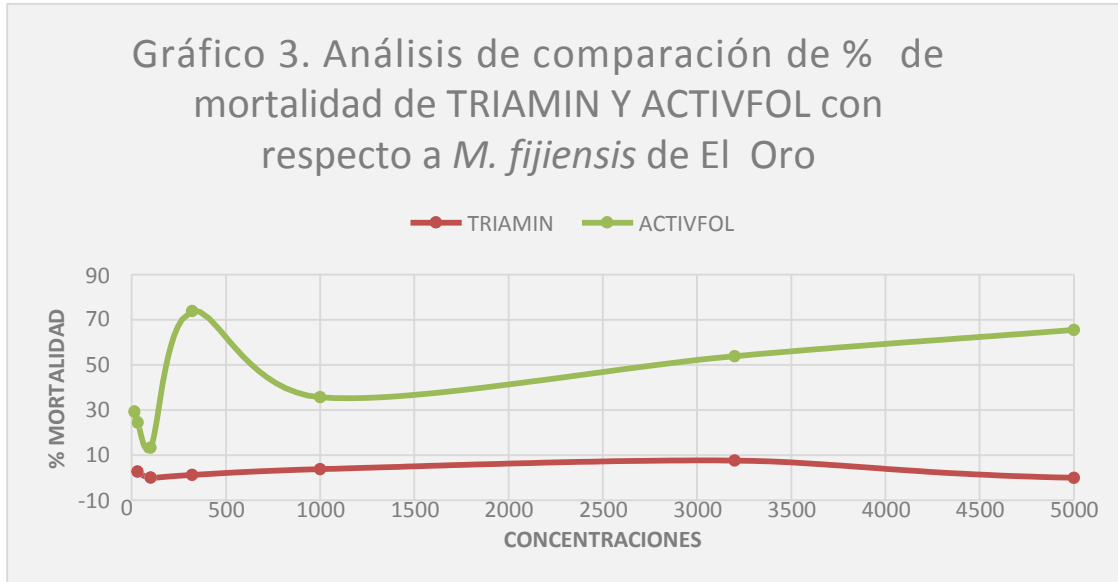
Fuente: CARRIÓN 2015

Se puede observar mediante la gráfica 2 que hay un mayor porcentaje de mortalidad a 5000 ppm en las cepas de las dos provincias llegando a inhibir hasta en un 65% a *M. fijiensis* de la provincia de El Oro y hasta en un 91 % en cepas de la Provincia de Esmeraldas. Al estimar el CL50 tenemos que Activfol inhibe hasta en un 75 % a *M. fijiensis* en las cepas de la provincia de El Oro y en un 59 % a cepas provenientes de la provincia de Esmeraldas, a una concentración de 320 ppm.

Cuadro 11. Comparación del % de Mortalidad de Sigatoka en la Provincia de El Oro

EL ORO Conc. (ppm)	% MORTALIDAD	
	TRIAMIN	ACTIVFOL
32	3	25
100	0	13
320	1	74
1000	4	36
3200	8	54
5000	0	65

Fuente: CARRIÓN 2015



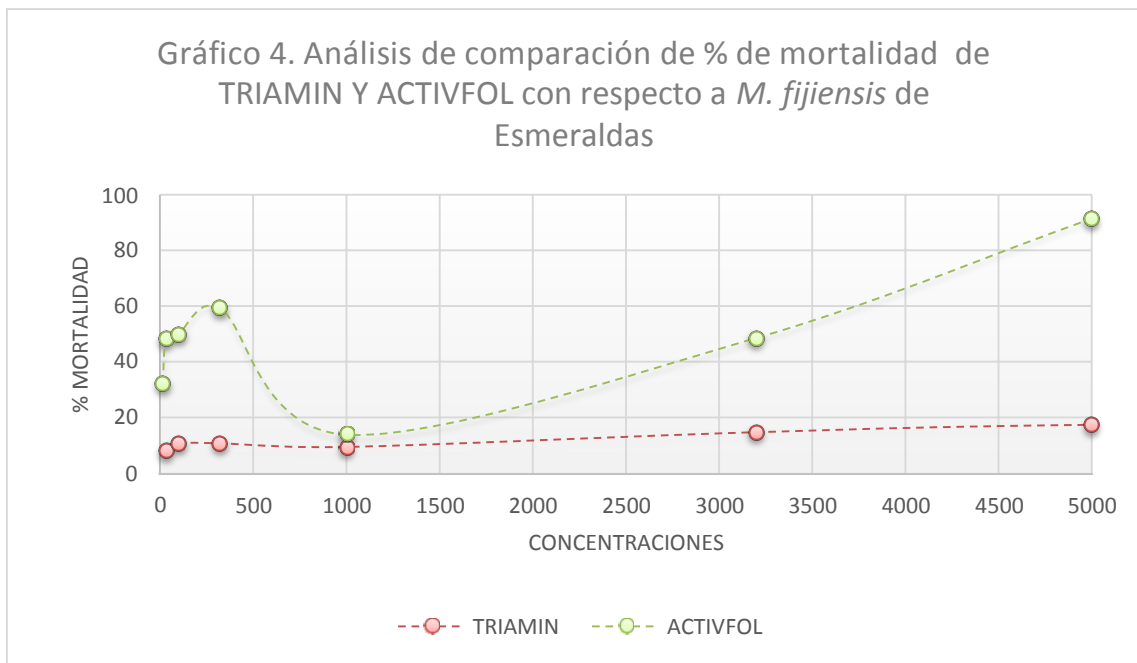
Fuente: CARRIÓN 2015

Dado el análisis realizado, Activfol tiene mayor eficacia en la provincia de El Oro en concentraciones de 320 ppm, en comparación con TRIAMIN ya que es menos eficaz por encontrarse los datos de mortalidad por debajo de Activfol a la misma concentración.

Cuadro 12. Comparación del % de Mortalidad de Sigatoka en la Provincia de Esmeraldas.

ESMERALDAS Conc. (ppm)	% MORTALIDAD	
	TRIAMIN	ACTIVFOL
32	8	48
100	11	50
320	11	59
1000	9	14
3200	15	49
5000	17	91

Fuente: CARRIÓN 2015



Fuente: CARRIÓN 2015

Al comparar el análisis de porcentaje de Mortalidad del patógeno de la provincia de Esmeraldas; Activfol tuvo el mayor porcentaje de mortalidad por lo cual es eficaz en la provincia Esmeraldas de acuerdo a los resultados obtenidos con el 59 % en concentraciones de 320 ppm y 91 %, a 5000 ppm, a diferencia del Triamin que en todas sus concentraciones que van desde 32 a 10000 ppm no logro alcanzar un CL50 o sobrepasar este.

6.1 ANALISIS DE DATOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN

Para demostrar la superioridad de ACTIVFOL sobre TRIAMIN frente al hongo causante de la Sigatoka negra en banano procedimos a realizar un contraste o prueba de hipótesis, para lo cual planteamos una hipótesis nula y otra alternativa resumida a continuación:

Ho: ACTIVFOL = TRIAMIN

Ha: ACTIVFOL \neq TRIAMIN

Para dicha demostración recopilamos los mejores tratamientos tanto de ACTIVFOL como de TRIAMIN (*ver Cuadro 13 y 14*) y procedimos a realizar un Análisis de Varianza, con un nivel de significación de $\alpha = 0,05$ equivalente al 5 %, utilizando el software del programa estadístico Origin 5.6.

Cuadro 13 y 14 Mejores Tratamientos de ACTIVFOL Y TRIAMIN sobre los inóculos de *M. fijiensis* de la provincia de Esmeraldas y El Oro.

% de Crecimiento de <i>M. fijiensis</i>	
ESMERALDAS	
TRIAMIN	ACTIVFOL
5000 ppm	5000 ppm
81,5	17,1
101,2	27,2
82,7	10,0
97,5	39,4
72,9	18,6
71,1	27,1
69,2	10,1
85,5	38,9
$\bar{X} = 82,7$	$\bar{X} = 23,5$

% de Crecimiento de <i>M. fijiensis</i>	
EL ORO	
TRIAMIN	ACTIVFOL
3200 ppm	320 ppm
79,7	24,4
93,7	14,9
90,4	23,7
87,3	35,6
98,5	38,1
93,8	15,2
103,8	24,1
100,3	34,0
$\bar{X} = 93,4$	$\bar{X} = 26,3$

Fuente: CARRIÓN 2015

En el cuadro 13 y 14 podemos observar que *M. fijiensis* proveniente de la provincia de Esmeraldas crece en el medio que contiene 5000 ppm de TRIAMIN hasta en un 83 %, mientras que a la misma concentración con ACTIVFOL dicho inóculo posee tan solo un 24 % de crecimiento; mientras tanto la cepa procedente de la provincia de El Oro se reproduce a una concentración de 3200 ppm de TRIAMIN en un 93 %, siendo éste su mejor control, que en comparación con ACTIVFOL a 320 ppm éste se propaga sobre el medio hasta en un 26 %.

Con los dos cuadros planteados anteriormente obtuvimos los siguientes cuadros de ANOVA respectivamente:

Cuadro 15 y 16: Análisis estadístico ANOVA

ESMERALDAS One-Way ANOVA on col(A) -> col(G):				EL ORO One-Way ANOVA on col(A) -> col(G):			
Data	Mean	Variance	N	Data	Mean	Variance	N
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
TRIAMIN	82,7	140,48857	8	TRIAMIN	93,4375	59,41696	8
ACTIVFOL	23,55	134,76857	8	ACTIVFOL	26,25	79,05429	8
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
F = 101,68594 p = 8,4217E-8				F = 260,79985 p = 1,90905E-10			
-----				-----			
At the 0,05 level, the means are significantly different.				At the 0,05 level, the means are significantly different.			

Fuente: CARRIÓN 2015

De acuerdo al análisis de ANOVA, se puede observar que los valores de p (significancia estadística) para el efecto de los productos, inferiores a 0,05 ($p < 0,05$). Es decir, tiene un efecto estadísticamente significativo del **ACTIVFOL SOBRE EL HONGO DE SIGATOKA NEGRA FRENTE** al producto **TRIAMIN** en un nivel de confianza de 95,0 %.

Con los resultados obtenidos y puesto que el valor p de la prueba es inferior a 0.05, la hipótesis nula es rechazada en el nivel de confianza del 95,0 %, por lo que, la hipótesis alternativa es ratificada a este nivel de confianza, la cual propone que **ACTIVFOL no** posee propiedades similares a **TRIAMIN**, en el control del hongo *Mycosphaerella fijiensis* causante de Sigatoka negra en banano, actuando como un fungicida.

CAPITULO VII

6. CONCLUSIONES

- El bioproducto ACTIVFOL posee propiedades fungicidas ya que demostró ser eficaz en el control de *Mycosphaerella fijiensis* causante de la Sigatoka en banano.
- El producto TRIAMIN presentó una leve sensibilidad frente a las cepas de la provincia de Esmeraldas llegando a inhibir hasta en un 20 % el crecimiento del inóculo a 10000 ppm, efecto que no sucedió con las cepas de El Oro. Además se observó que ACTIVFOL también tenía mayor sensibilidad en las cepas provenientes de la provincia de Esmeraldas, esto se debe probablemente a que El Oro es una provincia netamente bananera y sus cepas han estado sometidas a un mayor número de fumigaciones por año, haciendo que estas mejoren genéticamente adquiriendo una mayor resistencia.
- En comparación con TRIAMIN, existe evidencia suficiente a nivel de significación α para indicar que el producto ACTIVFOL, es muy superior en el control del hongo *Mycosphaerella fijiensis* causante de la sigatoka negra en banano. Además, puesto a los resultados obtenidos, podemos considerar a TRIAMIN como un bioestimulante, que ayuda a la planta de banano a generar sus propios mecanismos de defensa frente a agresores externos como lo es *M. fijiensis*.
- Concluido el estudio podemos asegurar que ACTIVFOL puede usarse como una nueva alternativa frente a *M. fijiensis*, para disminuir el impacto ambiental generado por los fungicidas químicos.

CAPITULO VIII

7. RECOMENDACIONES

- Para evitar que el hongo de la sigatoka negra, adquiera resistencia a los fungicidas químicos, se recomienda alternar éstos con nuevos productos alternativos que vienen demostrando ser eficaces frente *M. fijiensis* y así reducir los ciclos de fumigación por año.
- Se recomienda el uso de ACTIVFOL, ya que al ser un producto obtenido por fermentación en biodigestores, resulta ser amigable con el ambiente y según la ficha técnica se aplicaría 0.2 mL por m^2 de bananera, reduciendo considerablemente los impactos medioambientales por residuos químicos en las frutas y fuentes de aguas, menorando los rubros por fumigaciones aéreas que le representan al productor hasta en un 40 % de sus ingresos.

BIBLIOGRAFIA

ÁLVAREZ E, PANTOJA A, GAÑÁN L Y CEBALLOS G. 2013 La Sigatoka negra en plátano y banano. Centro internacional de agricultura tropical. Pág. 2 y 3

ALVARADO A. 2007. Guía Práctica de Plagas y Enfermedades en Plátano y Guineo. Pág. 3-5.
[Htps://projects.ipmcenters.org/Southern/FundedProjects/ReportFiles/4889523_778763.PDF](https://projects.ipmcenters.org/Southern/FundedProjects/ReportFiles/4889523_778763.PDF)

BARRIOS M. 2006. Estudio de hongos endófilos como inductores de Resistencia para el control de Sigatoka. Costa Rica. Pág. 5

BELALCÁZAR, 1991. Raya Negra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. El cultivo de plátano en el trópico. Armenia, Colombia: El autor, Pág. 235-277.

BENÍTEZ, T. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology. Pág. 249-260.

COMTEC. 2000 Recomendaciones para el uso racional de fungicidas en el control de Sigatoka Negra. Guayaquil. Hoja divulgativa. Pág. 1-49.

FAO. 2006. Base de datos estadísticos (en línea). Disponible en <http://apos.fao.org/>

GARCÍA A, SOSA L. 2001. Caracterización agronómica del híbrido de plátano FHIA -21 (Musa AAAB) resistente a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* M.) Pág. 117-123

GUZMÁN, M. 2006. Estado actual y perspectivas futuras del manejo de la Sigatoka negra en América Latina. M. C. Silva (eds.) Editorial Epagri. Pág. 83.

HERRERA, M. 2007. Manejo y control de la Sigatoka negra en plátano y banano. Asociación de Ingenieros Agrónomos del Valle de Cauca. Revista ASIAVA. Pág. 12-15

HOLLIER CA (2004) Integrated pest management. In: Trigliano RN, Windham MT, Windham AS (Eds.). Florida, USA. Pág. 337

INEC.2013, “Análisis del sistema agroalimentario del banano en el Ecuador”

www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Banano.pdf

MALDONADO A Y MARTÍNEZ A. 2007. Acción ecológica. Impacto de las fumigaciones aéreas en las bananeras de las ramas- salitre-guayas.

MEDINA M., 1994. Breve historia del banano en honduras. Revista Aguán.
<http://www.angelfire.com/ca5/mas/dpmapas/yor/ola/o12.html>

MARÍN, D. Y R. ROMERO. 1998. El combate de la Sigatoka negra. Revista CORBANA. San José. Costa Rica. Pág. 104-129.

MAURA, F 2007. Manejo alternativo de Sigatoka negra, utilizando biofertilizantes, en plantaciones comerciales de banano Cavendish, variedad Williams, cantón Taura. Pág. 32.

PRO ECUADOR.2013. “Análisis del Sector Banano” www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/09/PROEC_AS2013_BANANO1.pdf

RIVAS PLATERO.2003 Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas. Galileo Rivas y Franklin E. Rosales Editores. Pág. 14.

ROMERO, JE. 2005. Evaluación de dos metodologías de diagnóstico de resistencia temprana a la Sigatoka negra en cultivares de plátano. Trabajo de grado. Universidad del Tolima, Ibagué. Colombia. Pág. 84

RIOFRIO 1995. Banano en cifras y otras novedades. Acción gráfica Guayaquil Ecuador. Pág. 9

SIERRA. L. 1993 El cultivo de Banano (Producción y Comercio). Ed Graficas Olimpas. Pág. 679-680

SIMMONDS, NW. 1995. Bananas. *In* Evolution of Crop Plants.2 ed. Smart , J ; Simmonds, NW. Ed . Essex , England , Longman Scientific and Technical . Pág.. 370 - 375 .

TEGANTAI 2012. Banano: el rostro tóxico de las fumigaciones aéreas. **Entrevista con el Dr. Adolfo Maldonado.** www.agenciaecologista.info

Urkund Analysis Result


Analysed Document: Trabajo de Titulación Byron Carrión.docx (D20914433)
Submitted: 2016-06-21 08:15:00
Submitted By: byron_abc@hotmail.com
Significance: 4 %

Sources included in the report:

MONOGRAFI ALEJANDRO PIN .pdf (D11653031)
1424810520_TESIS DE GRADO DE JAIRO MODIFICADA.docx (D13354234)

Instances where selected sources appear:

2


Dna. Esmée Silveira
0702531351