CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA

PROGRAMA DE ENSEÑANZA PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACION

ESCUELA DE POSGRADUADOS

MANEJO DE SUSTRATOS PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) EN EL CULTIVO DE BANANO (*Musa* AAA)

POR

MARIA EUGENIA ARANGO OSPINA

Turrialba, Costa Rica
2000

CRÓN · IICA · CATIE
DIC 2000
RECIBIDO

CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
PROGRAMA DE EDUCACIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA CONSERVACIÓN
ESCUELA DE POSGRADUADOS

MANEJO DE SUSTRATOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* MORELET) EN EL CULTIVO DEL BANANO (*Musa* AAA).

Tesis sometida a la consideración de la Escuela de Posgraduados, Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza como requisito parcial para optar al grado de:

Magíster Scientiae

por

María Eugenia Arango Ospina

Turrialba, Costa Rica
2000

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por el Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación y la Escuela de Posgraduados del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del estudiante como requisito parcial para optar por el grado de:

MAGISTER SCIENTIAE

FIRMANTES:

Elkin Bustamante, Ph.D.
Consejero Principal

Francisco Jiménez, Ph.D.
Miembro Comité Consejero

Nelly Vásquez M.
Nelly Vásquez, M.Sc.
Miembro Comité Consejero

Gilberto Páez, Ph.D.
Director y Decano de la Escuela de Posgraduados

María Eugenia Arango O.
María Eugenia Arango Ospina
Candidato

DEDICATORIA

Al Niño Jesús de Praga por iluminar mi camino y mostrarme que siempre el sol sale de nuevo.

A mi hija Viviana Alexandra lo mejor que me ha pasado en la vida, mi constante inspiración.

A mi madre Hilda, por su entrega y porque sin su ayuda no hubiera podido alcanzarlo.

A mis hermanos Ángela, Constanza, Juan y Jhon por su gran confianza y cariño incondicional.

A mi padre por su silencio.

A ti por tu gran amor y porque no dejaras de ser aunque pasen mil lunas.

A los campesinos con los que compartiré los conocimientos adquiridos.

AGRADECIMIENTOS

A Viviana por su gran compañía y por haber sido parte de esta aventura.

A la Fundación W.K. Kellogg por haber financiado mis estudios.

A Blas Santos por creer en mi.

Al Dr. Elkin Bustamante por su excelente apoyo, comprensión y confianza.

Al Dr. Francisco Jiménez por todo, especialmente por su gran calidad humana.

A la Dra. Nelly Vásquez por sus valiosos aportes y por su alegría y ánimo contagiosos.

A Arturo y Asdrúbal por su valiosa colaboración.

A todos mis amigos por no dejar de ser.

CONTENIDO

DEDICATORIA iii
AGRADECIMIENTOS iv
TABLA DE CONTENIDO v
LISTA DE CUADROS viii
LISTA DE FIGURAS ix
LISTA DE ANEXOS x
SUMMARY xiii
RESUMEN xv

1. INTRODUCCION 1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 1
1.2. OBJETIVOS 2
1.2.1. Objetivo general 2
1.2.2. Objetivos específicos 2
1.3. HIPÓTESIS 3
2. REVISIÓN DE LITERATURA 4
2.1. SIGATOKA NEGRA 4
2.1.1. Ciclo de vida de Mycosphaerella fijiensis Morelet 4
2.1.2. Epidemiología 4
2.1.3. Factores climáticos y desarrollo de la enfermedad 6
2.1.4. Síntomas y signos de la enfermedad 7
2.1.5. Control de la enfermedad 8
2.1.5.1. Metodología de Stover modificada por Gauhl 8
2.1.5.2. Sistema de preaviso biológico 9
2.1.5.3. Control cultural 10
2.1.5.4. Control químico 11
2.1.5.5. Mejoramiento genético 12
2.2. CONTROL BIOLÓGICO 12
2.2.1. Mecanismos de control biológico 14
2.2.1.1. Introducción de microorganismos antagonistas 14
2.2.1.2. Manipulación del ambiente 16
2.2.1.3. Factores ambientales limitantes para el desarrollo de microorganismos epifitos 17
2.2.1.4. La resistencia inducida 18
3. MATERIALES Y MÉTODOS 19
3.1. FASE I: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SUSTRATOS SOBRE LA DINÁMICA DE POBLACIÓN DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS A (MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS MORELET) Y SOBRE EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD 19
3.1.1. Ubicación geográfica 19
3.1.2. Diseño experimental 19
3.1.3. Modelo lineal aditivo 20
3.1.4. Unidad experimental 21

3.1.5. Selección de sustratos 21
3.1.6. Tratamientos: 22
3.1.7. Distribución espacial de plántulas durante el ensayo 22
3.1.8. Procedimiento experimental 22
3.1.8.1. Preparación de sustratos 25
3.1.9. Evaluación de los tratamientos y análisis estadístico 25
3.1.9.1. Variables evaluadas 26
3.2. FASE II: ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA SIGATOKA NEGRA (MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS MORELET) EN EL CULTIVO DEL BANANO (MUSA AAA) 27
3.2.1. Ubicación geográfica 27
3.2.2. Diseño experimental 28
3.2.3. Modelo lineal aditivo 28
3.2.4. Tratamientos 29
3.2.5. Unidad experimental 29
3.2.6. Mapa de campo 29
3.2.7. Procedimiento experimental 29
3.2.8. Preparación de los sustratos 32
3.2.9. Variables evaluadas 32
3.3 FASE III: ANÁLISIS ECONÓMICO DE LAS ALTERNATIVAS DE COMBATE DE LA SIGATOKA NEGRA EMPLEADAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN 33
3.3.1. El presupuesto parcial 33
3.3.2. Procedimiento experimental 34
3.3.2.1. Variables evaluadas 34
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 35
4.1. FASE I: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SUSTRATOS SOBRE LA DINÁMICA DE POBLACIÓN DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS A (Mycosphaerella fijiensis MORELET) Y SU EFECTO SOBRE LA ENFERMEDAD 35
4.1.1. Multiplicación y dinámica de población de los antagonistas 35
4.1.1.1. Prueba en blanco o ensayo de uniformidad 36
4.1.1.2. Segunda evaluación 41
4.1.1.3. Tercera evaluación 42
4.1.1.4. Cuarta evaluación 44
4.1.1.5. Quinta evaluación 45
4.1.2. Reacción de los tipos de colonias a las diferentes pruebas químico biológicas 47
4.1.3. Efecto de los sustratos sobre el desarrollo de la enfermedad 48
4.1.4. Efecto de las condiciones climáticas sobre el comportamiento de los antagonistas durante la fase de campo 49
4.1.5. Efecto de la fuentes individuales sobre la densidad y dinámica de población de los microorganismos 51
4.1.6. Selección de los dos mejores sustratos 52
4.1.7. Efecto del lavado sobre la dinámica de población de los microorganismos 55
4.1.8. Análisis de carbohidratos y proteínas 55

4.2. FASE II: ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA SIGATOKA NEGRA (Mycosphaerella fijiensis MORELET) EN EL CULTIVO DEL BANANO (Musa AAA) 56
4.2.1. Desarrollo de la enfermedad 56
4.2.2. Efecto de las condiciones climáticas en el desarrollo de la enfermedad. 62
4.2.3. Efecto de los tratamientos sobre el número de hojas funcionales a cosecha y a floración. 62
4.2.4. Población de microorganismos antagonistas a nivel de campo. 63
4.3. FASE III : ANÁLISIS ECONÓMICO DE LAS ALTERNATIVAS DE COMBATE DE LA SIGATOKA NEGRA 66
4.3.1. Desarrollo vegetativo de la planta 66
4.3.2. Desarrollo reproductivo de la planta 66
4.3.3. Análisis económico 69
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 70
5.1. CONCLUSIONES 70
5.2. RECOMENDACIONES 71
6. BIBLIOGRAFIA 73
7. ANEXOS 81

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Datos climáticos registrados en la estación experimental " La Montaña " CATIE, Turrialba, Costa Rica durante la investigación.....28

Cuadro 2. Cronograma de aplicación de los tratamientos.....31

Cuadro 3. Caracterización física de las colonias.....35

Cuadro 4. Multiplicación y dinámica de población de los antagonistas a nivel de invernadero y campo durante la fase de inoculación.....37

Cuadro 5. Reacción de los principales tipos de colonias a las diferentes pruebas químicas biológicas.....47

Cuadro 6. Condiciones climáticas promedio registradas entre aplicación del sustrato y lavado de la hoja a nivel de campo.....49

Cuadro 7. Análisis económico para las diferentes alternativas de Control de la Sigatoka negra utilizando la técnica de los presupuestos parciales.....68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escala de Stover modificada por Gaulh (CORBANA 1996).....9

Figura 2. Desarrollo de la hoja candela (CORBANA 1996).....10

Figura 3. Efecto de los tratamientos T1, T6, T11 y T20 sobre la densidad, diversidad y estabilidad de los antagonistas durante el ensayo..... 54

Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad en la última evaluación para plantas adultas 58

Figura 5. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad en la última evaluación para plantas hijas.....59

Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad para plantas hijas durante el desarrollo de la investigación.....60

Figura 7. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad para plantas adultas durante el desarrollo de la investigación.....61

Figura 8. Efecto de los tratamientos sobre el número de hojas a floración y a cosecha.....62

Figura 9. Efecto de los tratamientos sobre las variables densidad y diversidad de colonias a nivel de campo.....65

Figura 10. Beneficios netos y costos generados por las diferentes alternativas de control.....69

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Datos climáticos diarios registrados en la estación experimental "La Montaña", CATIE, Turrialba, Costa Rica, durante la fase I de la investigación 82

Anexo 2. Tratamientos incluidos dentro de la fracción positiva. 83

Anexo 2-A. Tratamientos incluidos dentro de la fracción negativa 83

Anexo 3. Distribución espacial de las plántulas en el invernadero 84

Anexo 4. Formato para evaluar el número de colonias por muestreo. 85

Anexo 5. Formato para evaluar la enfermedad según la escala de Fouré 1985. .. 85

Anexo 6. Formato para registrar información relacionada con el número de hojas y el estado de la hoja candela. 86

Anexo 7. Frecuencia de emisión foliar durante el periodo de inoculación natural . 87

Anexo 8. Frecuencia de emisión foliar durante el tiempo del ensayo 89

Anexo 9. Disposición espacial de las unidades experimentales en el campo 92

Anexo 10. Formato para evaluación de Sigatoka negra a nivel de campo 93

Anexo 11. Formato para registrar datos relacionados con el desarrollo de la planta 93

Anexo 12. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (segundo muestreo) 94

Anexo 13. Análisis de varianza para las colonia amarillas (segundo muestreo) ... 94

Anexo 14. Análisis de varianza para las colonias rosadas (segundo muestreo) ... 94

Anexo 15. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (tercer muestreo) . 94

Anexo 16. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (tercer muestreo) 94

Anexo 17. Análisis de varianza para las colonias amarillas (tercer muestreo) 95

Anexo 18. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (tercer muestreo) 95

Anexo 19. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (cuarto muestreo) 95

Anexo 20. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (cuarto muestreo) 95

Anexo 21. Análisis de varianza para las colonias amarillas (cuarto muestreo) 95

Anexo 22. Análisis de varianza para las colonias rosadas (cuarto muestreo) 96

Anexo 23. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (cuarto muestreo) 96

Anexo 24. Análisis de varianza para las colonias amarillo radiante (cuarto muestreo) 96

Anexo 25. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (quinto muestreo) 96

Anexo 26. Análisis de varianza para las colonias amarillas (quinto muestreo) 96

Anexo 27. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (quinto muestreo) 97

Anexo 28. Análisis de varianza para las colonias amarillo radiante (quinto muestreo) 97

Anexo 29. Análisis de varianza para las colonias amarillo estriado (quinto muestreo) 97

Anexo 30. Análisis de varianza para la evaluación del desarrollo de la enfermedad a nivel de invernadero 97

Anexo 31. Comportamiento y dinámica de población de los microorganismos bajo condiciones de invernadero 98

Anexo 32. Análisis de varianza para hojas funcionales al momento de la floración 98

Anexo 33. Análisis de varianza para hojas funcionales al momento de la cosecha 99

Anexo 34. Población y diversidad de colonias a nivel de campo 99

Anexo 35. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (muestreo a nivel de campo) 100

Anexo 36. Análisis de varianza para las colonias amarillas (muestreo a nivel de campo) 100

Anexo 37. Análisis de varianza para la variable diámetro del pseudotallo en las plantas adultas 101

Anexo 38. Análisis de varianza para la variable peso total del racimo 101

Anexo 39. Análisis de varianza para la variable peso del fruto medio de la antepenúltima mano 101

Anexo 40. Análisis de varianza para la variable longitud del fruto central de la antepenúltima mano 101

Anexo 41. Análisis de varianza para la variable circunferencia del fruto central de la antepenúltima mano 102

Anexo 42. Análisis de varianza para la variable peso del fruto central de la segunda mano 102

Anexo 43. Análisis de varianza para la variable circunferencia del fruto central de la segunda mano 102

ARANGO OSPINA, M.E. 2000. Substrates' management for biological control of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) in banana (Musa AAA).

Key words: antagonists, biological control, black Sigatoka, chitinolitic enzymes, glucan, glucanolitic enzymes, *Micosphaerella fijiensis*, milk, molasses, pathogen, phylloplane, substrates, yeast.

SUMMARY

Banana and plantain, which are of dietary importance to four hundred million people (Perea 1998), are attacked by black Sigatoka, a disease caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. This organism is very aggressive and difficult to handle. It is responsible for losses in production of up to 100% through the drastic reduction of photosynthesis (Macie *et al.* 1998). Frequent applications of fungicides per crop cycle is necessary to combat the disease, representing around 45% of crop production costs. Biological control is a new form of thinking in relation to problems of plant diseases in terms of restoring the biological balance, offering important principles to increase production through mechanisms of suppression or destruction of inoculum, the protection of plants against infection or the increase in the ability of plants to resist the pathogen (Cook and Baker 1996).

The manipulation of the environment through the application of substrates permits the modification of the physical and nutritional conditions of the phylloplane to prevent germination and establishment of the pathogen and to favor the antagonists. For this reason, the selection of substrates considered the necessity to provide a carbon source to the antagonists, in this study molasses was used; milk was used as a protein source, the addition of chitin and glucan as important components of the cellular wall of hyphae of the fungus (Ruiz ET al. 1995); calcium nitrate neutralized the pH of the solution. Altogether, twenty treatments, resulting from combinations of the different mixtures, were evaluated. The criteria used as indicators for selection of the two best substrates for their subsequent application

at field level were, their effect on the response variables, population density, stability, diversity, and the ability of the antagonists to produce glucanolytic and chitinolitic enzymes, as well as their effect on the development of the disease in plants exposed to natural inoculation. The youngest leaf with lesions (SYL) was the most important indicator of the progress of the disease at field level and determined the moment for the applications of the respective treatments. total number of leaves, leaves with and without lesions, and the degree of disease development according to the scale of Stover modified by Gaulh (CORBANA 1996), were evaluated. applications of chitin + yeast + calcium nitrate, and chitin + milk + molasses alternated with commonly used fungicides for control of the disease, performed statistically similar to the chemical control treatment. these treatments, whose effects were studied at the research level, reduced the number of fungicidal applications by 40%, verifying that plants exposed to the mixtures from their initial stages perform better in relation to the variables initial stages perform better in relation to the variables SYL, development stage of the disease and the total number of leaves without lesions.

ARANGO OSPINA, M.E. 2000. Manejo de sustratos para el control biológico de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo del banano (*Musa* AAA).

Palabras claves: antagonistas, control biológico, enzimas glucanoliticas, enzimas quitinoliticas, filosfera, leche, levadura, melaza, *Micosphaerella fijiensis,* Sigatoka negra, sustratos.

RESUMEN

El cultivo del plátano y del banano importantes sistemas de producción agrícola, y alimento básico en la dieta de cuatrocientos millones de personas (Perea 1998), es atacado por la Sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, de gran agresividad y difícil manejo llegando a producir pérdidas en la producción hasta de un 100% por la drástica reducción de la fotosíntesis (Macie *et al.* 1998). Gran cantidad de aplicaciones de funguicidas por ciclo son necesarias para el combate de la enfermedad representando alrededor del 45% de los costos de producción del cultivo, además del desarrollo de resistencia por parte del patógeno ante la aplicación indiscriminada de productos sistémicos con el consiguiente deterioro del ambiente. El control biológico considerado como una nueva forma de pensar con relación a los problemas de las enfermedades de las plantas en términos de restaurar el balance biológico ofrece importantes principios para incrementar la producción mediante mecanismos de supresión o destrucción del inóculo, la protección de las plantas contra la infección o el incremento de la habilidad de estas para resistir al patógeno (Cook y Baker 1996).

La manipulación del ambiente mediante la aplicación de sustratos permite la modificación de las condiciones físicas y nutricionales del filoplano para perjudicar la germinación y el establecimiento del patógeno y favorecer las poblaciones de antagonistas, por tal razón estos se seleccionaron considerando la necesidad de aportar a los antagonistas una fuente de carbono, representada por la melaza; la

leche se empleo como fuente proteica, y la adición de quitina y glucano como componentes importantes de la pared celular de las hifas del hongo (Ruiz *et al.* 1995), el nitrato de calcio contribuyo con la neutralización del pH de solución. En total se evaluaron veinte tratamientos resultantes de la interacción de las diferentes mezclas. Los criterios señalados como indicadores para seleccionar los dos mejores sustratos, para su posterior aplicación a nivel de campo fueron el efecto sobre las variables de respuesta densidad de población, estabilidad, diversidad y habilidad de los antagonistas para producir enzimas glucanolíticas y quitinolíticas, así como su efecto sobre el desarrollo de la enfermedad en plántulas expuestas a inoculación natural.

La hoja más joven manchada (HMJM) fue el indicador más importante del progreso de la enfermedad a nivel de campo y determinó el momento de las aplicaciones de los respectivos tratamientos. Se evaluaron además total de hojas, hojas enfermas, hojas limpias y grado de desarrollo de la enfermedad según la escala de Stover modificada por Gaulh (CORBANA 1996). Plantas expuestas a aplicaciones de quitina + levadura + nitrato de calcio y quitina + leche + melaza alternadas con los funguicidas usados comúnmente para el control de la enfermedad se comportaron estadísticamente igual a plantas bajo control químico, lográndose a nivel de la investigación reducir en un 40% el número de aplicaciones de funguicidas, comprobándose que las plantas al ser expuestas al efecto de las mezclas desde sus etapas iniciales presentan un mejor comportamiento con relación a las variables de respuesta HMJM, grado de desarrollo de la enfermedad y total de hojas limpias.

1. INTRODUCCION

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ante las actuales circunstancias de deterioro ambiental y agotamiento de los recursos naturales, la agricultura mundial se enfrenta a una nueva prioridad y desafío: desarrollar una estrategia de producción agropecuaria que contribuya con la conservación del ambiente, realice un manejo racional de los recursos naturales y logre mayor sostenibilidad de la producción a largo plazo.

El cultivo de banano y plátano representan un importante sistema de producción agrícola, fuente importante en la dieta básica de cuatrocientos millones de personas (Perea 1998) y en la economía de varios países de las zonas tropicales e intertropicales, con una producción de alrededor de 79 millones de toneladas año, la tercera parte proveniente de América del Sur, América Central y el Caribe (Riveros y Lepoivre 1998).

El cultivo de banano es atacado por la Sigatoka negra, causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, de gran agresividad y difícil manejo; puede llegar a producir pérdidas en la producción hasta de un 100% (Macie *et al.* 1998), dada la drástica reducción de la fotosíntesis. Después de floración las plantas sin ningún control químico pueden perder todas sus hojas, el racimo no se desarrolla completamente con reducciones en la producción de más del 40% (Pérez 1998).

El control químico de la enfermedad representa alrededor del 45% de los costos totales de producción (Plotz 1999), con un aumento paulatino en el número de aplicaciones de fungicidas y la consecuente generación de resistencia por parte del patógeno, convirtiéndose en prioridad la necesidad de generar investigación que contribuya a disminuir este efecto. Stover y Simmonds (1987) mencionan entre 5 y 15 aplicaciones por año para Sigatoka amarilla; en Méjico, América central, y Colombia donde ha sido reemplazada por la Sigatoka negra, son necesarias de 35 a 45 aplicaciones por año. La resistencia obtenida por el patógeno, ha ocasionado que

países como Filipinas, y algunos ubicados en Centro y Sur América incrementen el número de aplicaciones por ciclo 20 a 40 aproximadamente, representando un costo anual aproximado de US $1000 por hectárea (Ploetz 1999.

CORBANA (1996) menciona para Costa Rica una disminución de los rendimientos del cultivo por causa de la enfermedad de 2620 cajas de banano ha^{-1} $año^{-1}$ en 1990, a 1850 en 1994, con un incremento considerable en el número de aplicaciones de fungicidas por año, pasando de 17 en 1993 a 35 en 1996. Actualmente se realizan entre 37 y 40 aplicaciones por año, con un valor de US $ 1500 ha^{-1} $año^{-1}$ *

En Colombia el cultivo se desarrolla en las zonas de Urabá y Santa Marta con un área de 28000 y 14000 hectáreas respectivamente, el costo por combate de la Sigatoca negra equivalente a 800 y 500 dólares ha^{-1} $año^{-1}$ para un total de 29.4 millones de dólares anuales (Buritica y Montes 1997).

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar alternativas potenciales de control biológico para el manejo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo del banano (*Musa* AAA), mediante la aplicación de sustratos dentro de una estrategia de manejo integrado de plagas.

1.2.2. Objetivos específicos

- Estimar el incremento de la población bacteriana en la filosfera tanto a nivel de invernadero como de campo, mediante la aplicación de sustratos.

---

* Marin, D. 2000. Control químico de la Sigatoka Negra. DEL MONTE. Comunicación Personal

- Evaluar el efecto del lavado de la hoja sobre la dinámica poblacional de los microorganismos de la filosfera.

- Evaluar el efecto de la aplicación de diferentes sustratos sobre el desarrollo de la Sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis*.

- Realizar un análisis comparativo de los costos parciales de producción del cultivo relacionados directamente con el empleo de las diferentes alternativas de control de manejo de la enfermedad empleadas en la investigación.

1.3. HIPÓTESIS

-La aplicación foliar de sustratos afecta el desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en el cultivo del banano.

- La aplicación foliar de sustratos contribuye con el crecimiento y actividad de las poblaciones de microorganismos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.

- El lavado de la planta tiene un efecto directo sobre la dinámica de la población de microorganismos que intervienen con el desarrollo de la enfermedad.

- La aplicación foliar de sustratos disminuye los costos de producción por concepto del control de la enfermedad.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. SIGATOKA NEGRA

Riveros y Lepoivre (1998), indican que es la enfermedad mas devastadora que ataca el género Musa, es conocida como raya negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (forma asexual *Paracercospora fijiensis*). El microorganismo pertenece al subreino Eumycete, clase Ascomycete, orden Dothiales, familia Dothiacea (Alexopolus y Mins 1979).

2.1.1. Ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Inicia con la germinación de las esporas sobre las hojas, principalmente en la hoja candela y dos hojas más jóvenes. Los procesos de germinación y penetración requieren la presencia de agua libre. Las esporas germinan en menos de dos horas, originando tubos germinativos rectos que se alargan y ramifican en búsqueda de estomas, penetrando entre 48 y 72 horas bajo condiciones favorables de humedad y temperaturas alrededor de los 20 °C. La fase asexual ocurre con el desarrollo de las primeras lesiones, con un número bajo de conidióforos saliendo de los estomas, principalmente en la superficie inferior de las hojas; tanto las conidias como las ascosporas son importantes en la epidemiología de la enfermedad (Stover y Simmon1987). Bajo condiciones óptimas el período de incubación es de 17 días. Los primeros conidios sobre lesiones en estado de estría aparecen 28 días después de la infección; 49 días después termina el ciclo con la liberación de las primeras ascosporas (Merchan 1998).

2.1.2. Epidemiología

Mycosphaerella fijiensis Morelet presenta reproducción sexual y asexual, limitando su manejo y fortaleciendo al patógeno para producir epidemias. La producción de conidios en la fase asexual es más abundante en los estadios 3 y 4 y durante los períodos de mayor pluviosidad. La cantidad de conidios por lesión en Sigatoka negra es menor que en la amarilla, una sola lesión de 20 mm^2 de Sigatoka negra puede producir 1200 conidios, contra más de 30000 producidos por la Sigatoka amarilla; la

densidad de lesiones de Sigatoka negra por unidad de superficie es superior (Merchan 1998).

Según Fouré (1992) el número de conidios transportados por el viento es 100 veces menor al número de ascosporas. La variedad diformis fue separada de la fijiensis porque además de conidioforos simples, presenta esporodoquios en los estomas. El estado de peritecio es igual para ambos patógenos. La fuente más importante de inóculo son las esporas y pueden ser transportadas a grandes distancias por el viento. En Hawai se recolectaron de 8000 a 33000 ascosporas por metro cúbico de aire en 24 horas (Stover 1987).

La concentración de ascosporas puede ser 10 a 100 veces más alta que los conidios, particularmente en condiciones de precipitación y temperaturas elevadas. La descarga de ascosporas puede iniciarse entre la segunda y tercera semana siguiente a la aparición de las estrías y prolongarse hasta 21 semanas después de dobladas las hojas (Merchan 1998).

La emergencia de conidióforos es constante hasta el segundo estadio de mancha. La producción de conidias es casi contínua entre el segundo estado de estría y el segundo estado de mancha. Los primeros conidióforos en cesar la producción de conidios se encuentran cerca del centro de la mancha y emergen individualmente o en grupos de dos a ocho a través de los estomas de la superficie inferior de la hoja, eventualmente emergen por el haz (Talavera 1996).

Friedhhelm (1992), en un estudio realizado en varias localidades de Costa Rica determinó la importancia del viento y la lluvia en el desarrollo de la enfermedad, observando en las primeras horas de la mañana una mayor liberación de ascosporas y diseminación de las mismas por parte del viento al momento de la lluvia o inmediatamente después de su ocurrencia.

2.1.3. Factores climáticos y desarrollo de la enfermedad

La enfermedad presenta una dinámica estacional, determinada por las variaciones de la temperatura y la pluviometría a lo largo del año (Pérez 1996), zonas con mayor severidad del enfermedad están caracterizadas por precipitaciones de mas de 1400 mm año y humedades relativas por encima del 80% (Martínez *et al.* 1998). La germinación y el crecimiento de las esporas es optimo cuando existe una película de agua sobre la hoja, también la producción de peritecios y la descarga de ascosporas es mayor en condiciones lluviosas (Stover y Simmonds 1987). La lluvia tiene su mayor efecto en el proceso de liberación del inóculo, y provee las condiciones de humedad favorables para el desarrollo de la infección. La liberación de las ascosporas comienza entre 10 y 15 minutos después de iniciado el humedecimiento de los tejidos y termina una hora después (Pérez 1996).

La temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad está alrededor de 26 °C (Merchan 1998). Rangos de temperaturas por encima de 20 °C son mas favorables al desarrollo de la enfermedad, la temperatura mínima para el crecimiento del hongo es de 12 °C, la óptima de 26 °C y la máxima de 36 °C. A temperaturas menores o superiores a 11 °C y 37 °C no se observa germinación de ascosporas, ni crecimiento de tubos germinativos. Con temperaturas entre 10 a 20 °C la velocidad de crecimiento del hongo disminuye a menos del 50% de su velocidad de crecimiento a 27 °C (Porras y Pérez 1997). Climas secos acompañados de temperaturas nocturnas por debajo de los 20 °C frenan el desarrollo de la enfermedad (Stover 1987).

El viento, conjuntamente con el agua son los principales mecanismos de dispersión de la enfermedad. Otras factores del clima con los cuales se ha encontrado correlación directa son la evaporación y la duración de la humectación (Marín y Romero 1998); ascosporas maduras sobre hojas húmedas son liberadas en pocos minutos; bajo condiciones óptimas de temperatura y precipitación las ascosporas pueden estar presentes por tres o cuatro semanas después de la aparición de las primeras estrías (Stover 1987). El rocío, variable climática muy importante en el

desarrollo de las infecciones, provee la humedad necesaria para la germinación de ascosporas y conidios en ausencia o escasez de precipitación normal. Áreas con períodos largos de lluvia y con poca formación de rocío durante la noche son inapropiadas para el desarrollo de la enfermedad, aún con temperaturas favorables. Al incrementarse la altitud y por ende disminuir la temperatura, el ciclo de vida del patógeno se alarga, los síntomas aparecen en hojas bajeras o viejas y la severidad o porcentaje de área foliar manchada se reduce (Merchan 1998).

2.1.4. Síntomas y signos de la enfermedad

En plantaciones medianamente afectadas los síntomas de la enfermedad pueden confundirse con Sigatoka amarilla; aunque en ataques severos sobre plantas adultas es inconfundible por la gran cantidad rayas y manchas de color café a negro que pueden cubrir toda el área foliar en forma descendente desde la tercera hoja más joven abierta; estas lesiones son más notorias y abundantes en el envés. La enfermedad evoluciona en la planta a través de los siguientes seis estadios (Fouré 1985).

Estadio 1. Pequeños puntos de color amarillo pálido, con un diámetro de 0.2 mm aproximadamente, forma irregular y difusa, visibles en el envés de la hoja. Esta lesión no es siempre visible y pasa usualmente inadvertida. No es tampoco claramente visible en algunos clones. En condiciones favorables al desarrollo del enfermedad pueden aparecer en la hoja 2, aunque generalmente aparecen en las hojas 3 y 4. las manchas se alargan alcanzando 1mm de longitud semejando una raya pardo rojiza visible solo por el envés.

Estadio 2. Las rayas se alargan y vuelven visibles por el haz, conservando su coloración pardo rojiza.

Estadio 3. Las rayas alcanzan de 20 a 25 mm de longitud y 2 mm de ancho, manteniendo el color café. Con alta densidad de inóculo las rayas se unen formando zonas necróticas dando aspecto oscuro a la hoja.

Estadio 4. Es considerado el primer estado de mancha. Las rayas se ensanchan y toman un contorno mas o menos redondeado, elíptico o fusiforme. La transición de

rayas a manchas es caracterizada por el desarrollo de un borde acuoso o pardo claro alrededor de la mancha, de fácil detección en las primeras horas de la mañana cuando el rocío esta presente o después de la lluvia.

Estadio 5. El color pardo rojizo cambia a pardo oscuro o casi negro, el área central que rodea la mancha se vuelve mas pronunciada debido al oscurecimiento; ocurre un amarillamiento ligero del tejido de la hoja que rodea el borde acuoso de la mancha.

Estadio 6. Mancha con el centro desecado, de color gris, bordeado por un anillo negro bien definido y halo amarillo brillante. Las manchas son visibles en hojas secas porque el anillo persiste. Después de que las hojas se han secado y colapsado, las manchas permanecen claramente visibles debido la centro claro y el borde oscuro.

En el estado más avanzado de la enfermedad se desarrollan peritecios y pseudotecios. Si la infección es muy severa la hoja se ennegrece, seca y muere dentro de las 3 ó 4 semanas siguientes a la aparición de los primeros síntomas. En tales casos las plantas antes de la cosecha carecen de hojas verdes (Merchan 1998)

2.1.5. Control de la enfermedad

Caracterizar la curva de progreso de la enfermedad durante el año constituye una herramienta muy importante para programar su manejo. Para racionalizar el empleo de productos químicos y reducir la contaminación ambiental se recomienda efectuar las aspersiones en función de la evolución de la enfermedad (método de preaviso biológico), del clima (época lluviosa) y del estado de desarrollo de la planta (dos meses antes del belloteó). Información clara y oportuna del estado sanitario de la plantación se obtiene mediante la realización de evaluaciones periódicas de la incidencia y severidad de la enfermedad (Marín y Romero 1998).

2.1.5.1. Metodología de Stover modificada por Gauhl

Consiste en la estimación visual del área foliar afectada de todas las hojas en plantas próximas a la floración, excepto en hoja candela y agobiadas. El área foliar afectada se estima visualmente para cada hoja y se calcula el porcentaje de la hoja cubierta por los síntomas. La hoja se divide en proporciones porcentuales como se

observa en la Figura 1 y se registra la información de acuerdo a los seis grados de infección propuestos por Fouré (1985). La hoja más joven manchada (HMJE), indica el progreso de la enfermedad, cuanto más joven es la hoja con síntomas, mayor es la incidencia y generalmente la severidad (Marín y Romero 1998).

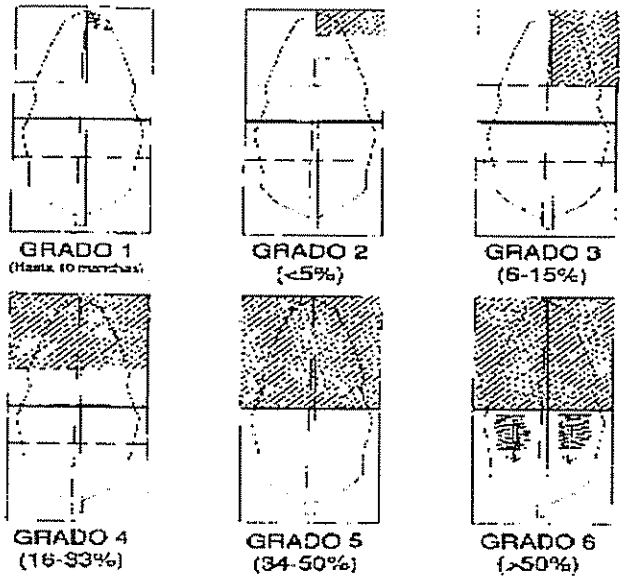


Figura 1 : Escala de Stover modificada por Gaulh (CORBANA 1996).

2.1.5.2. Sistema de preaviso biológico

El sistema incluye un componente climático, dado por la evaporación y un componente biológico dado por el estado de evolución o la velocidad de desarrollo de la enfermedad. El componente biológico del método consiste en la detección temprana de los síntomas de tres de las hojas más jóvenes de la planta (Marín y Romero 1998). Las plantas a evaluar requieren por lo menos iniciar con 5 o 6 hojas verdaderas. Las primeras observaciones deben considerar la emisión floral, las hojas se marcan de abajo hacia arriba y se determina el estado de la hoja candela como lo muestra la Figura 2.

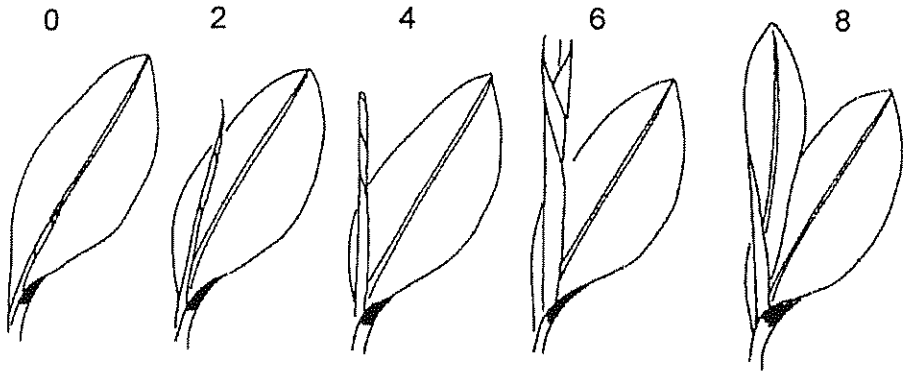


Figura 2: Desarrollo de la hoja candela (CORBANA 1996).

Las evaluaciones deben realizarse en intervalos fijos de siete días, preferiblemente sobre las mismas plantas. El análisis del tiempo de desarrollo de la enfermedad (DDT) no representa un parámetro confiable para determinar los niveles de resistencia debido a las dificultades en la interpretación de los síntomas foliares. Por ejemplo, cuando la presión de la enfermedad es alta, las numerosas lesiones que pueden ocurrir en la etapa 1, pueden unirse en la superficie de la hoja y asemejar una lesión necrótica de la etapa 6. En contraste el índice de infección parece proporcionar un parámetro mas confiable permitiendo una mejor consistencia entre los países (Orjeda *et al.* 1999).

2.1.5.3. Control cultural

Labores que favorecen el buen desarrollo del cultivo directamente y afectan el progreso de la enfermedad indirectamente, al evitar al patógeno expresar su máximo potencial (Marín y Romero 1998).

El deshoje fitosanitario es una de las principales prácticas de manejo, sea éste de manera total (deshoje) o parcial (despunte) de hojas agobiadas y manchadas o necrosadas. En hojas agobiadas la descarga de ascosporas puede prolongar hasta por 20 semanas (Bureau *et al.* 1992). Hojas de banano con manchas en desarrollo depositadas en el suelo bajo condiciones de lenta descomposición en el campo, han

demostrado su capacidad para liberar ascosporas por un periodo hasta de 90 días (Stover 1987). La frecuencia y severidad del deshoje depende del estado de crecimiento de la planta, intensidad de la enfermedad y de las condiciones climáticas (Merchan 1998).

Oluma y Onyezili (1999), durante cuatro años en una región de Nigeria, donde la precipitación se concentraba entre los meses de abril y octubre en tres sistemas de producción de banano: patios traseros (suelos enriquecidos con desperdicios orgánicos caseros), fadamas (suelos aluviales con alto contenido de materia orgánica) y campos distantes (suelos arenosos arcillosos), con variedades para postres y para cocción, evaluaron la severidad de la Sigatoka negra durante la floración y los resultados mostraron que la severidad de la enfermedad fue significativamente más alta en los cultivares distantes, donde el contenido de materia orgánica fue bajo (0.95%), en comparación con la severidad en los patios traseros y en fadamas donde la materia orgánica fue del 2.9 y 2.7% respectivamente.

La disposición de los desechos caseros alrededor de las plantas como fuente constante de materia orgánica en África Occidental es considerada como una de las razones de la productividad sostenible de estos cultivos, así mismo los nutrientes orgánicos son altos en el sistema fadamas como resultado de los depósitos fluviales. Los resultados indicaron la importancia de la fertilidad de los suelos en el manejo de la enfermedad.

2.1.5.4. Control químico

Principal herramientas para el control de la enfermedad, complementando su acción con los aceites agrícolas por sus propiedades de procurar una mejor penetración, distribución y permanencia del fungicida aplicado, además de su efecto fungistático. Se ha detectado el desarrollo de resistencia por parte del patógenos ante la aplicación indiscriminada de fungicidas de acción sistémica, los cuales poseen un solo sitio de acción en el metabolismo del hongo, con un incremento importante en

el número de aplicaciones por ciclo para el control de la enfermedad (Marín y Romero 1998).

La estrategia de aplicar altas dosis de aceite en los períodos de mayor incidencia representa un buen control, disminuyendo el número de aplicaciones de funguicidas (Marín y Romero 1998), además del efecto negativo sobre la germinación de las estructuras reproductivas, el crecimiento del tubo germinativo y la formación de esporas de *Mycosphaerella musicola* bajo condiciones de campo cuando las esporas están sobre la misma superficie de la hoja donde este es aplicado (Stover y Simmond1987).

2.1.5.5. Mejoramiento genético

El mejoramiento genético de las musáceas es difícil por su característica triploide o de esterilidad, aunque los mejoradores han realizado el cruzamiento de diploides resistentes a enfermedades fungosas con triploides susceptibles con frutas y características agronómicas deseables, con la obtención dentro de la progenie de tetraploides evaluados para resistencia a enfermedades. La Fundación Hondureña de Investigación Agrícola –FHIA- en más de 30 años de investigación ha obtenido líneas con potencial comercial y resistencia a Sigatoka negra, mal de Panamá y nemátodos (Perea 1998).

Todas las variedades comerciales de banano (AAA) y plátano (AAB) son susceptibles a la enfermedad. Los cultivares Pelipita (ABB) y Cuadrado (ABB) han mostrado tolerancia. En diploides avanzados se ha logrado incorporar niveles de resistencia de los diploides silvestres *Musa acuminata* subespecie burmannica y subespecie malaccensis para la obtención de nuevas variedades (Stover 1987).

2.2. CONTROL BIOLÓGICO

Definido por Cook y Baker (1983) como "La reducción del inóculo o de la actividad patogénica de un fitopatógeno llevada a cabo por uno o más organismos diferentes al hombre", se ha convertido en una estrategia de manejo de enfermedades en las

plantas, empleado tanto de manera inundativa, como adicionando un substrato a la filósfera o rizósfera que permita la multiplicación de los antagonistas deseados, procedimiento más apropiado por razones económicas y de conservación de la biodiversidad de los antagonistas (Bustamante *et al.* 1995).

Es así como el control biológico es usado para resolver problemas patológicos y entomológicos en plantas, sin embargo, el concepto se maneja de maneja diferente en las dos disciplinas. Los entomólogos definen el control biológico como "La acción de parásitos, predatores o patógenos para mantener la densidad de población de otros más bajas de lo que podría ocurrir en su ausencia", mientras los patólogos hacen énfasis no solo en la reducción de la densidad de población (inóculo) sino también en la protección biológica tanto en la superficie como al interior de la planta hospedera (Cook y Baker 1996).

El control biológico ofrece importantes principios para incrementar la producción mediante mecanismos de supresión o destrucción del inóculo, la protección de las plantas contra la infección o el incremento de la habilidad de estas para resistir al patógeno, sin embargo, uno de los principales obstáculos en la implementación del control biológico de microorganismos fitopatógenos es la producción masiva del antagonistas debido a los altos volúmenes requeridos para su aplicación en condiciones de campo y por los problemas referentes a su formulación y conservación (Cotes 1997b), siendo más exitoso a nivel de la rizósfera debido a las características físicas y químicas del filoplano y por la exposición directa de los antagonistas es a los factores ambientales (Sánchez *et al.* 1998).

La prevención de la formación de propágulos es considerada como el mejor mecanismo de control de patógenos aéreos. El antagonismo en estos casos incluyen microorganismos que colonicen las lesiones sobre el hospedero y supriman la esporulación a través de antibiosis, parasitismo directo, o interferencia con el desarrollo de la hifas. El antagonista puede ser un hiperparásito del patógeno o un

saprófito agresivo adaptado al tejido enfermo con la habilidad para desplazar el patógeno o para retardar su esporulación (Cook y Baker 1996).

La efectividad del control biológico depende tanto de la conveniencia del antagonistas como de los métodos y estrategias para introducirlo y mantener sus niveles de población y actividad en asocio con los cultivos; requiere del entendimiento de factores como: sistema de cultivo, epidemiología de la enfermedad a ser controlada, biología, ecología y dinámica de población del agente antagonistas y la interacción entre ellos (Lo y Harman 1997),

2.2.1. Mecanismos de control biológico

Los principales mecanismos de control biológico son la introducción de microorganismos antagonistas, la manipulación del microambiente físico o nutricional y la inducción de resistencia en las plantas (Bravo y Victoria 1981).

2.2.1.1. Introducción de microorganismos antagonistas

Un microorganismo antagonista, definido como oponente o adversario es aquel que interfiere las actividades de otro, la estrategia de introducción se basa en la capacidad del antagonista de colonizar el nicho ecológico del patógeno, por lo que se emplean microorganismos residentes que presentan antagonismo al patógeno, adaptados para sobrevivir y reproducirse en el filoplano; sin embargo, para incrementar su efecto sobre el patógeno es necesario implementar estrategias que permitan aumentar su población a un nivel tal que afecte en forma eficaz la acción del patógeno (Sánchez *et al.* 1998). Blakeman y Fokkema (1982) recomiendan realizar la selección de antagonistas preferiblemente en lugares donde el combate biológico natural está de manifiesto, sin descartar la posible presencia de antagonistas en otros hábitats extraños al patógeno.

Competencia, antibíosis y depredación o hiperparasitismo son los tipos de antagonismo. Los depredadores e hiperparásitos reducen el daño sin eliminar el patógeno. La competencia se da principalmente por nutrientes, sin embargo, la

competencia por oxígeno y posiblemente por espacio son importantes. La antibiosís es la inhibición de un microorganismo por la acción de un metabolito producido por otro, como los antibióticos gliotoxín y viridín producidos por *Trichoderma viride* antagonista de *Rhizoctonia solani* (Bravo y Victoria 1981). Para Jijakli *et al.* (1997), un antagonista ideal debe presentar estabilidad genética, efectividad a bajas concentraciones, capacidad de sobrevivir en condiciones ambientales adversas, poca exigencia en nutrientes, bajo costo de producción, fácil formulación, larga vida de almacenamiento, resistencia a pesticidas, compatibilidad con las prácticas de manejo comercial y la no producción de metabolitos tóxicos para el consumidor.

Blakeman (1993) menciona también su capacidad competitiva y habilidad para multiplicarse y sugiere que estas pueden mejorarse manipulando las condiciones ambientales del filoplano. Dada la alta competencia por nutrientes entre éstos y los patógenos, los sustratos aplicados al follaje son una alternativa para favorecer el crecimiento de los organismos antagónistas y garantizar su acción sobre los patógenos (Ruiz *et al.* 1997a), existiendo un mayor número de microorganismos como agentes de biocontrol para patógenos que producen enfermedades de postcosecha bajo condiciones controladas, que bajo condiciones de campo, principalmente por el efecto negativo de los factores ambientales (rayos ultravioleta y baja humedad relativa) sobre la supervivencia y efecto de los antagonistas (Jijakli y Lepoivre 1997).

Observaciones microscópicas han revelado los principales efectos del antagonista sobre los propágulos del patógeno, en cuanto a inhibición de la germinación, desarrollo anormal del tubo germinativo e interferencia con el desarrollo de estructuras infecciosas, sin embargo existen algunas evidencias que demuestran que la acción del agente inhibidor in vitro es diferente a su acción sobre la superficie de la hoja (Manners 1891). *Pseudomonas spp* (aislamiento C148) efectivo en laboratorio contra *Phytophthora infestans* en tomate, es incapaz de mantener poblaciones suficientemente altas en la planta a nivel de campo (Jongebloed *et al.* 1993).

2.2.1.2. Manipulación del ambiente

Consiste en la modificación de las condiciones físicas y nutricionales del filoplano para perjudicar la germinación y el establecimiento del patógeno y favorecer al antagonista. El método requiere un mayor estudio para determinar las variables nutricionales que favorecen la actividad tanto del antagonista como del patógeno (Morris y Rouse 1985).

Se ha comprobado que la adición de quitina a suelos infestados por *Fusarium oxysporum* sp *cubensi,* favorece la presencia de bacterias de los géneros *Bacillus sp* y *Pseudomonas sp* , las cuales controlan el patógeno (Mitchell y Alexander, 1962). Así mismo, se encontraron efectos positivos en la supresión de la Sigatoka negra en banano con aplicaciones foliares de quitina coloidal al 5% bajo condiciones de campo.

Aislamientos realizados de la hoja de banano permitieron identificar 130 cepas de microorganismos quitinolíticos; *Serratia marcenses*, cepas R1 y A23, *Bacillus cereus*, cepa A30 y *Serratia entomophyla*, cepa A100 presentaron los mejores resultados a nivel de laboratorio, invernadero y campo para el control de la enfermedad. Este polisacárido actúa como una barrera física contra la germinación de esporas y penetración de tubos germinativos de *Mycosphaerella fijiensis* (González *et al.* 1996).

Kokalis –Burelle *et al.* (1991) también demostraron un cambio altamente significativo en la población de organismos epífitos con la aplicación de una suspensión amorfa de quitina al follaje de cacahuate (*Arachis hypogea*); los quitinolíticos pasaron de 1% a más de 40% de la población total, con una reducción del 60% de las manchas foliares producidas por *Cercospora arachidicola*. Igualmente, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad la aplicación de quitina al follaje de tomate, aumento la población y supervivencia de microorganismos quitinolíticos reduciendo de manera significativa el desarrollo del tizón temprano causado por *Alternaria solani* y de la mancha foliar producida por *Septoria sp* (Ploper *et al.* 1991).

El empleo de B-glucano como sustrato (asociado con genes menores de resistencia horizontal) promueve el crecimiento y desarrollo de poblaciones de microorganismos glucanolíticos presentes en la filósfera, mejorando su actividad antagónica y su habilidad para persistir en la filosfera; adicionalmente se ha reportado como inductor de fitoalexinas en la planta y de resistencia a enfermedades (Lyon *et al.* 1995).

2.2.1.3. Factores ambientales limitantes para el desarrollo de microorganismos epifitos

Los microorganismos a nivel del filoplano están expuestos al efecto del ambiente químico de la superficie y a la influencia de los factores climáticos, especialmente disponibilidad de agua y radiación solar. La humedad relativa es el principal factor que determina el crecimiento y supervivencia de las bacterias antagonistas en este hábitat, a diferencias de las levaduras que resisten condiciones climáticas adversas en la hoja debido a la producción de grandes cantidades de polisacáridos extracelulares que las protegen contra la pérdida de agua, permitiéndoles persistir ciertos períodos de baja humedad (Blakeman 1993).

El crecimiento de organismos epífitos en la superficie foliar sería nulo sin la disponibilidad de nutrientes tanto endógenos, como exógenos. El fluido de gutación tiene disueltos sustancias orgánicas e inorgánicas, incluyendo nitratos, fosfatos, amonio y potasio, además de elementos menores, vitaminas y minerales que afectan tanto microorganismos patógenos, como benéficos; la glucosa azúcar más común en el fluido de la gutación presenta actividad antifungicida (Frossar 1981).

En las plantas la composición en cantidad y calidad de los exudados foliares varia dependiendo de factores que incluyen la planta misma, posición de la hoja, edad de la planta, radiación, temperatura, fertilización, pH del medio y daños sufridos por la hoja (Rodger y Blakeman 1984). En los estados iniciales del desarrollo de las plantas, su principal fuente de nutrientes es el tejido foliar y las cantidades de compuestos de carbono y nitrógeno (azúcares y aminoácidos) presentes como parte

integral de la hoja tanto interna como externamente; las bacterias representan el grupo de microorganismos con mayor capacidad para colonizar el filoplano aun bajo condiciones de escasez de nutrientes (Blakeman 1985).

Los nutrimentos exógenos son partículas de suelo, polvo, iones y solutos del agua lluvia, polen, deposición de áfidos, microorganismos muertos y excrementos de insectos y aves. En el trópico húmedo las precipitaciones intensas y frecuentes lavan los nutrientes, convirtiéndose la competencia por éstos en un factor clave en el tamaño de las poblaciones microbianas para garantizar un efectivo control (Blakeman 1993).

2.2.1.4. La resistencia inducida

Alternativa promisoria dentro del manejo integrado de plagas, definida como la resistencia intensificada o fortalecida en una planta con respecto a un patógeno como resultado de un tratamiento previo con un patógeno, un patógeno atenuado o un producto químico, no plaguicida. La expresión de la resistencia inducida puede ser local cuando la respuesta se da en el sitio donde se aplica el tratamiento inductor y sistémica cuando la respuesta es efectiva en todas o en algunas partes de las plantas, diferentes al sitio de inducción (Deverall y Dann 1995).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para el logro de los objetivos la investigación se dividió en tres fases bien definidas, la inicial donde se evaluó el efecto de la manipulación del ambiente con la aplicación de diferentes sustratos sobre la dinámica poblacional de los microorganismos a nivel de filoplano y su posterior efecto en el desarrollo de la enfermedad. La segunda fase del experimento consistió en la evaluación de desarrollo de la enfermedad a nivel de campo en respuesta a la aplicación de diferentes tratamientos incluidos los dos mejores sustratos obtenidos en la primera fase. Finalmente se determino la viabilidad económica de las alternativas de manejo de la enfermedad mediante el empleo de la técnica de los presupuestos parciales. Cada una de las fases mencionadas contó con su metodología específica como se detalla a continuación.

3.1. FASE I: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SUSTRATOS SOBRE LA DINÁMICA DE POBLACIÓN DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS A (MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS MORELET) Y SOBRE EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD.

3.1.1. Ubicación geográfica

Esta fase de la investigación fue desarrollada tanto a nivel de invernadero, como de campo en la estación experimental " La Montaña", ubicada en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), en el cantón Turrialba, Costa Rica a 590 m.s.n.m con 9° 5' Latitud Norte y 83° 38' Longitud Oeste, 2640 mm de precipitación anual, temperatura promedio de 21.6° C, 87% de humedad relativa y una radiación solar promedio mensual de 17MJm^{-2} día^{-1} (Okumoto 1992). Las condiciones climáticas presentadas durante la parte del ensayo desarrollado en el campo se registran en el Anexo 1.

3.1.2. Diseño experimental

Se empleo un diseño completamente al azar, en arreglo factorial fraccionado, representado por la ecuación $\frac{1}{2}\, 2^{k-1} + 4$ para un total de veinte tratamientos con

tres replicaciones, generando 60 unidades experimentales. Se definieron dos niveles representados en la ausencia o presencia de las fuentes dentro de las posibles combinaciones y cinco factores dados por las diferentes fuentes. Los tratamientos seleccionados corresponden a las diferentes combinaciones ubicadas en el componente positivo del factorial fraccionado (Anexos 2 y 2A), se consideraron además los efectos de cuatro testigos relativos correspondientes al testigo sin lavar, y a las fuentes individuales representadas por glucano, melaza y leche, respectivamente.

Además, fueron mantenidas durante el tiempo del ensayo a nivel del invernadero cuatro plántulas del mismo material, sin recibir ningún tratamiento y con la aplicación del riego dirigido a la maceta, las cuales aportaron información importante con relación al contenido de nutrientes a nivel del filoplano y su efecto sobre el desarrollo de las poblaciones antagonistas en plantas sin exposición directa a las condiciones ambientales, especialmente al efecto del lavado por las altas precipitaciones del trópico.

3.1.3. Modelo lineal aditivo

El modelo matemático lineal que describe el comportamiento de las variables de respuesta es el siguiente; cada uno de las fuentes dentro del arreglo factorial se identificó así: A: Nitrato de calcio, B: Melaza 2%, C: Quitina, D: Glucano y E: Leche.

$$Yijklm = \mu + Ck + (A*B)ij + (A*D)il + (A*E)im + (B*D)jj + (B*E)jm + (D*E)lm + (A*B*C)ijk + (A*C*D)ikl + (B*C*D)jkl + (A*C*E)ikm + (B*C*E)jkm + (C*D*E)klm + (A*B*D*E)ijlm + (A*B*C*D*E)ijklm + Eijklm.$$

Donde:

Yijklm: Variable de respuesta.

μ: Media general

Ck: Efecto del factor C.

(A*B)ij: Efecto interacción A*B.

(A*D)il: Efecto interacción A*D.

(A*E)im: Efecto interacción A*E.

(B*D)jl: Efecto interacción B*D.

(B*E)jm: Efecto interacción B*E.

(D*E)lm: Efecto interacción D*E.

(A*B*C)ijk: Efecto interacción A*B*C.

(A*C*D)ikl: Efecto interacción A*C*D.

(B*C*D)jkl: Efecto interacción B*C*D.

(A*C*E)ikm: Efecto interacción A*C*E.

(B*C*E)jkm: Efecto interacción B*C*E.

(C*D*E)klm: Efecto interacción C*D*E.

(A*B*D*E)ijlm: Efecto interacción A*B*D*E.

(A*B*C*D*E)ijklm: Efecto interacción A*B*C*D*E.

Eijklm: Error experimental.

3.1.4. Unidad experimental

Estuvo representada por 60 plántulas del cultivar "Gran Enano" pertenecientes al subgrupo de los Cavendish, altamente susceptible a Sigatoka negra (Soto 1990).

3.1.5. Selección de sustratos

Los sustratos fueron seleccionados considerando la necesidad de aportar a los antagonistas una fuente de carbono, en este sentido se utilizó melaza, la cual además interfiere en los procesos metabólicos de los hongos y contribuye de manera importante con el estado nutricional de las plantas por sus altos contenidos de potasio y boro (CORBANA 1996b); así mismo se empleo leche como fuente proteíca, quitina y glucano como componentes de la pared celular de las hifas del hongo y finalmente el nitrato de calcio para contribuir con la neutralización del pH de las mezclas y la consiguiente supervivencia de las bacterias en el filoplano (Ruiz *et al.* 1995).

3.1.6. Tratamientos:

T 1: Testigo.

T 2: Glucano + Leche

T3: Quitina.

T 4: Melaza + Leche.

T 5: Melaza + Glucano

T 6: Melaza + Quitina + Leche.

T 7: Melaza +Quitina + Glucano.

T8: Nitrato de calcio + Leche.

T 9: Nitrato de calcio + Glucano.

T10: Nitrato de calcio + Quitina + Leche.

T11: Nitrato de calcio +Quitina + Glucano.

T12: Nitrato de calcio +Melaza

T13: Nitrato de calcio + Melaza + Glucano + Leche.

T14: Nitrato de calcio + Melaza + Quitina

T15: Nitrato de calcio + Melaza + Glucano + Quitina +Leche.

T16: Quitina + Glucano + Leche.

T17: Glucano

T 18: Leche

T19: Melaza

T20: Testigo sin lavar.

3.1.7. Distribución espacial de plántulas durante el ensayo

La disposición de las unidades experimentales en el invernadero se registra en el Anexo 3; mediante una tabla de números aleatorios se realizó la asignación de los tratamientos.

3.1.8. Procedimiento experimental

Las plántulas del material "Gran Enano" provenientes de cultivo in vitro fueron sembradas a finales del mes de octubre de 1999 en macetas de 2 kg empleando una mezcla de suelo: materia orgánica en relación 1:2. La aplicación de los

tratamientos se inicia cuando las plántulas tienen cinco meses de edad. El riego fue dirigido a la maceta a excepción del testigo lavado (T1), el cual 15 días antes de darse inicio a la aplicación de los tratamientos fue sometido a un riego por aspersión de 7 mm^{-1} $día^{-1}$ simulando la precipitación diaria de la zona, mantenido hasta que las plántulas fueron llevadas al campo para ser inoculadas por *Mycosphaerella fijiensis* de manera natural. A partir de esta fecha el manejo del ensayo con relación a esta variable fue igual para todas las plántulas.

El primer lavado se realizó el 10 de febrero sobre la hoja cuatro de cada plántula; esta hoja fue marcada previamente con el fin de cuantificar y determinar la población de microorganismos habitantes naturales del filoplano sobre la misma hoja durante toda la investigación. Posteriormente se procedió a realizar la aplicación los respectivos tratamientos cada ocho días, empleando un atomizador manual y con aplicaciones dirigidas a toda la plántula, correspondiendo la primera al día 15 de marzo, 48 horas después de cada aplicación se realizaron los respectivos lavados, para un total de 4 aplicaciones, dos en invernadero y dos en condiciones de campo y cinco lavados.

Después de la segunda aplicación en el invernadero las plántulas durante 25 días fueron dispuestas de manera aleatoria en la estación experimental "La Montaña", específicamente en una plantación de plátano con una alta incidencia de Sigatoka negra para ser inoculadas de manera natural por *Mycosphaerella fijiensis*. Pasado este tiempo las plántulas regresaron al invernadero y conservaron su distribución espacial inicial.

La caracterización de las poblaciones de microorganismos en el filoplano se hizo mediante la remoción de estos a través del lavado, para su posterior crecimiento en medio artificial, identificación y enumeración. La cuantificación se realizó en términos de proporción o porcentaje de ocurrencia por tipo de colonias (Parbery *et al.* 1981). Para realizar los lavados se utilizaron 50 ml de solución amortiguadora fosfatada pH 7, la cual fue recolectada en un beaker estéril, sellado con papel de aluminio en

similares condiciones y rotulado de manera cuidadosa. De la solución obtenida a partir del lavado de las hojas se tomó un mililitro y se adiciono a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril. Este procedimiento se repitió hasta obtener diluciones de 10^{-3}, finalmente con una micro pipeta se tomaron 20 microlitros (0.02ml) y se sembraron de manera repetida en tres platos con agar nutriente para un total de 180 platos por lectura; posteriormente las platos fueron llevados a una incubadora biológica tipo Percival modelo 1-35 a 30° C durante 48 horas. Pasado este tiempo se procedió a realizar el conteo bajo un contador de colonias Marca Reicheit, modelo 3325. Las unidades formadoras de colonias por plato se obtuvieron con la fórmula ufc /ml = (conteo x dilución) /0.02 ml. El Anexo 4 muestra el formato diseñado para la recolección de la información.

Dada la necesidad de disponer de una mejor caracterización de las colonias aisladas, especialmente de su capacidad para producir glucano, quitina y fluorescencia, aislamientos con características similares fueron sembradas en platos petri con agar nutriente más glucano, agar nutriente más quitina y B de King; de igual forma se efectuó una prueba de KOH para clasificarlas como Gram (+) o Gram (-). La determinación de bacterias del género *Bacillus sp* se realizó sometiendo las diluciones de 10^{-3} al baño María a una temperatura de 80 °C durante diez minutos. La producción de glucano y quitina se detecto por la presencia del halo transparente formado alrededor de las colonias.

Finalmente las cepas glucanolíticas y quitinolíticas fueron seleccionadas y purificadas mediante la realización de cultivos sucesivos hasta obtener colonias relativamente puras, las cuales fueron transferidas a viales con tapa rosca con agar nutriente glucano y agar nutriente quitina en posición inclinada para su posterior conservación. Los medios de cultivo fueron preparados según recomendaciones metodológicas propuestas por French y Hebert 1982.

similares condiciones y rotulado de manera cuidadosa. De la solución obtenida a partir del lavado de las hojas se tomó un mililitro y se adiciono a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril. Este procedimiento se repitió hasta obtener diluciones de 10^{-3}, finalmente con una micro pipeta se tomaron 20 microlitros (0.02ml) y se sembraron de manera repetida en tres platos con agar nutriente para un total de 180 platos por lectura; posteriormente las platos fueron llevados a una incubadora biológica tipo Percival modelo 1-35 a 30° C durante 48 horas. Pasado este tiempo se procedió a realizar el conteo bajo un contador de colonias Marca Reicheit, modelo 3325. Las unidades formadoras de colonias por plato se obtuvieron con la fórmula ufc /ml = (conteo x dilución) /0.02 ml. El Anexo 4 muestra el formato diseñado para la recolección de la información.

Dada la necesidad de disponer de una mejor caracterización de las colonias aisladas, especialmente de su capacidad para producir glucano, quitina y fluorescencia, aislamientos con características similares fueron sembradas en platos petri con agar nutriente más glucano, agar nutriente más quitina y B de King; de igual forma se efectuó una prueba de KOH para clasificarlas como Gram (+) o Gram (-). La determinación de bacterias del género *Bacillus sp* se realizó sometiendo las diluciones de 10^{-3} al baño María a una temperatura de 80 °C durante diez minutos. La producción de glucano y quitina se detecto por la presencia del halo transparente formado alrededor de las colonias.

Finalmente las cepas glucanolíticas y quitinolíticas fueron seleccionadas y purificadas mediante la realización de cultivos sucesivos hasta obtener colonias relativamente puras, las cuales fueron transferidas a viales con tapa rosca con agar nutriente glucano y agar nutriente quitina en posición inclinada para su posterior conservación. Los medios de cultivo fueron preparados según recomendaciones metodológicas propuestas por French y Hebert 1982.

3.1.8.1. Preparación de sustratos

La extracción del glucano se hizo a partir de levadura de cerveza suministrada por la cervecería Costa Rica. El proceso consistió en su dilución en agua destilada, en proporción 1:34, se agitó por tres minutos y se ajustó el pH a 7.0 adicionando NaOH 0.1M. Posteriormente se agregaron 340 ml de alcohol 2- propanol, se agitó nuevamente por tres minutos y se dejó reposar durante otros quince; finalmente se centrífugo veinte minutos a 3000 rpm. El glucano se almaceno en recipientes de vidrio a 4 °C.

La quitina coloidal se obtuvo mediante el procesamiento de 400 g de quitina sigma y 2.5 litros de ácido hidroclorhidrico al 36%, esta mezcla se dejó en reposo durante dos horas, seguidamente se aforo con agua hasta completar ocho litros, se agito fuertemente y se dejó reposar toda la noche; pasado este tiempo se realizaron tres lavados para eliminar la mayor cantidad de ácido, se eliminó el sobrenadante, para posteriormente ser centrifugado a 3000 rpm por veinte minutos; la quitina se almaceno en recipientes de vidrio a 4° C.

El glucano y la quitina se emplearon al 4.0 y 4.5% ; la melaza de tipo comercial a razón del 2% y como fuente proteica se adicionaron 40 mg de proteínas /l de solución, obtenidos de la mezcla de 20 gramos de leche entera en polvo (26 g de proteínas /100 g) con 100 ml de leche descremada (8.3 g de proteína /250 ml) (Ruiz 1995). El nitrato de calcio al 0.3% represento una fuente de minerales y contribuyo con la estabilización del pH; adicionalmente pH de las soluciones en todos los casos fue ajustado a 7, empleando NaOH al 0.1 M. Finalmente se adicionó Wk, adherente de tipo comercial producido en Costa Rica por SERACSA, a razón de 0.09%.

3.1.9. Evaluación de los tratamientos y análisis estadístico

Inicialmente se realizó un ensayo de uniformidad o prueba en blanco para determinar la población natural de micro organismos antagonistas presentes en las plántulas dentro del invernadero; posteriormente se determinó su multiplicación y dinámica

por efecto de los tratamientos y se observó su reacción al ser expuestas a diferentes pruebas biológicas. Adicionalmente se determinó el efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de la enfermedad y el efecto de las condiciones ambientales sobre la población de antagonistas.

3.1.9.1. Variables evaluadas

Con relación a la multiplicación y dinámica de población de los antagonistas la variable a evaluar fue la cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc /ml) presentes en la solución proveniente del lavado de las hojas diluido hasta una concentración de 10^{-3}. Las lecturas se hicieron 48 horas después de ser incubadas en el medio sólido. Para el estudio estadístico del número de aislamientos por cada tipo de colonia se empleo un análisis de varianza con un rango de probabilidad de error al 5% y la aplicación de la prueba de rango múltiple de Duncan para detectar los principales tipos de colonias por tratamiento (Parbery *et al.* 1981).

El efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de la enfermedad tuvo como variable de respuesta el número de lesiones y el estado de desarrollo de las mismas evaluadas sobre las cuatro primeras hojas de las plántulas de acuerdo con los seis estadios del desarrollo de los síntomas descritos por Fouré (1985). La evaluación se inició 27 días después de que las plántulas fueron llevadas nuevamente al invernadero, tiempo mínimo para que una vez ocurrida la germinación de las estructuras reproductivas del hongo aparezcan los primeros síntomas; se realizaron evaluaciones cada ocho días durante tres semanas consecutivas. El formato de recolección de datos se presenta en el Anexo 5. El análisis de la información se realizó mediante un ANDEVA, el mejor tratamiento se obtuvo con la prueba de rango múltiple de Duncan a una probabilidad de error del 5% ($p<0.05$).

Se recolecto Información relacionada con el número de hojas presente al momento de iniciar el ensayo, así como del estado de la hoja candela y su posterior desarrollo (Anexo 6), con el objeto de determinar la frecuencia de emisión foliar tanto para el

tiempo del ensayo desarrollado en el campo durante el proceso de inoculación natural (Anexo 7), como para la totalidad del tiempo (Anexo 8).

La incidencias de las principales variables climatológicas sobre la población de antagonistas se determinó considerando los valores promedios registrados durante el tiempo transcurrido entre la aplicación del tratamiento y el lavado. El efecto sobre la capacidad de multiplicación, estabilidad de las poblaciones en el tiempo, diversidad de colonias y su facultad de producir enzimas glucanolíticas y quitinolíticas, además del efecto sobre el desarrollo de la enfermedad constituyeron los indicadores para seleccionar los dos mejores tratamientos.

El contenido de carbohidratos y proteína a nivel del filoplano se determino mediante el análisis de la solución proveniente del lavado de las hojas de cuatro plántulas mantenidas dentro del invernadero y las hojas de plántulas del T1(testigo lavado). El análisis del contenido de carbohidratos fue realizado en el laboratorio de bioquímica de la universidad Nacional de Costa Rica mediante el método de carbohidratos solubles por HPLC (Lim 1986). El contenido de proteína pura se determino en el laboratorio de nutrición animal del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) mediante el método de micro Kjeldhal (CATIE 1998).

3.2. FASE II: ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA SIGATOKA NEGRA (MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS MORELET) EN EL CULTIVO DEL BANANO (MUSA AAA)

3.2.1. Ubicación geográfica

Esta fase de la investigación fue desarrollada a nivel de campo en la estación experimental " La Montaña", ubicada en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Durante la época de la investigación se presentaron las condiciones climatológicas registradas en el Cuadro 1, para las variables temperaturas máximas, medias y mínimas, precipitación, radiación solar y humedad relativa media y mínima.

Cuadro 1: Datos climáticos registrados en la estación experimental " La Montaña " CATIE, Turrialba, Costa Rica durante la investigación.

Mes	Temp máx (º C)	Temp mín. (º C)	T med (º C)	Pp (mm)	Rad MJ m^{-2}día^{-1}	HR media (%)	HR min (%)
Abril	28.6	17.3	21.6	148.1	17.6	85.2	57.4
Mayo	28.6	18.2	22.3	232.8	18.1	87.4	61.3
Junio	29.4	19.0	22.5	263.5	15.8	87.6	60.6
Julio	28.6	18.4	22.0	364.6	14.3	87.6	62.0
Agosto	29.0	18.3	22.3	170.8	14.7	88.6	63.4
Promedio	28.8	18.2	22.1	236.3	16.1	87.2	60.9

Fuente: Estación meterológica, CATIE

3.2.2. Diseño experimental

La investigación se realizó bajo un diseño de bloques completos al azar con ocho tratamientos y cinco repeticiones, recomendado por INIBAP (1998) para evaluación de Sigatoka negra, con un total de 40 unidades experimentales representadas cada una por seis plantas.

3.2.3. Modelo lineal aditivo

$$Yij = \mu + Ti + Bj + Eij$$

Donde:

Yijkl: Cualquier variable de respuesta

μ: Media General del experimento

Ti: Efecto del tratamiento

Bj: Efecto del bloque

Eijk: Error experimental

3.2.4. Tratamientos

T1: Testigo

T2: Químico.

T3: Sustrato A

T4: Sustrato A + Químico

T5: Sustrato A + Orgánico.

T6: Sustrato B.

T7: Sustrato B + Químico.

T8: Sustrato B + Orgánico.

Los sustratos A y B referidos están dados por los dos mejores tratamientos obtenidos en la primera fase de la investigación, los cuales corresponden a las mezclas leche, melaza y quitina para el sustrato A y glucano (levadura de cerveza), quitina y nitrato de calcio para el sustrato B.

3.2.5. Unidad experimental

La unidades experimentales estuvieron representadas en seis plantas del material "Gran Enano" provenientes de cultivo in vitro, altamente susceptibles a la enfermedad.

3.2.6. Mapa de campo

La disposición de las unidades experimentales a nivel de campo se muestra en el Anexo 9.

3.2.7. Procedimiento experimental

La investigación se desarrollo con plantas del material "Gran enano ", sembradas el día 30 de junio del año 1999, a una distancia de 2.0 metros entre plantas y de 3.0 metros entre surco para una densidad de población de 1333 plantas ha^{-1}. Al momento de la siembra se adicionaron 2 kg de materia orgánica por planta; un mes después de la siembra se realizó una fertilización edáfica con 90 g de 10-30-10;

posteriormente como parte de los tratamientos 5 y 8 se realizaron aplicaciones de lombricompuesto proveniente de Lombritica, Costa Rica a razón de 3 kg por planta en los meses de Diciembre, Marzo y Junio.

El control de la enfermedad antes de iniciar con la aplicación de los tratamientos se realizó mediante la rotación de los fungicidas Tilt, Calixín y Benlate usados tradicionalmente en Costa Rica, adicionalmente se uso aceite agrícola (Agrol) y Nufilm como coadyudante dentro de las mezclas.

En total se realizaron 18 evaluaciones del desarrollo de la enfermedad empleando el método de Stover modificado por Gaulh (CORBANA 1996), estas se hicieron de manera sistemática cada semana iniciando en el mes de mayo. El ensayo presento diferencias significativas en cuanto al desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas, por lo que fue necesario después de la quinta evaluación dividir la población en dos grupos, plantas adultas (hasta inicio de parición) y plantas hijas. Los formatos empleados para recolectar la información de las variables definidas tanto para al desarrollo vegetativo y reproductivo, como para el estado de desarrollo de la enfermedad se presentan en los Anexos 10 y 11 respectivamente.

La información generada en cada una de las evaluaciones se constituyo en la herramienta que permitió tomar la decisión de realizar o no la aplicación de los respectivos tratamientos, las cuales se realizaron según cronograma adjunto. El efecto de bordes se redujo un poco al realizar las aplicaciones en las primeras horas de la mañana y a través de la separación de los tratamientos entre bloques por una barrera física representada por un surco de plantas y entre bloques se mantuvo una separación de cuatro metros, con una barrera doble de plantas.

Cuadro 2: Cronograma de aplicación de los tratamientos

	Fecha de aplicación de los tratamientos									
atamientos	4-May	20-May	26-May	2-Jun	9-Jun	26-Jun	15-Jul	22-Jul	5-Aug	26-Aug
(Químico)	Tilt	Calixin		Benomil			Tilt		Calixin	
(Sustrato A)										
(Sustrato A + Químico)		Calixin		Benomil		Tilt				
(Sustrato A + Orgánico)					Orgánico					
(Sustrato B)										
(Sustrato B + Químico)		Calixin		Benomil		Tilt				
(Sustrato B + Orgánico)					Orgánico					

El deshoje fitosanitario fue un labor importante dentro del manejo integrado de la enfermedad, hojas con más de un tercio del área foliar manchada se removieron una vez por semana; desde el punto de vista fitosanitario la practica resultó muy oportuna dada que la mayor cantidad de inóculo (conidias y ascosporas) se producen durante el tiempo que las hojas manchadas permanecen en la planta verdes y erectas (Merchan 1991). El material enfermo fue sacado del lote para disminuir fuente de inóculo, ya que las ascosporas que permanecen en la hojarasca y en las hojas podridas son expulsadas con la lluvia aumentando la fuente de inóculo (Stover 1980).

El deshije se realizó teniendo en cuenta el desarrollo de los hijos, procurando tres plantas por unidad de producción; no se presentó ningún problema de plagas de importancia, excepto un comedor de hojas (*Colaspis submetalica*) durante la etapa mas seca del ensayo, el cual se controló de manera natural al aparecer las lluvias. La población de malezas se controlo con aplicaciones de Roundup a dosis comerciales.

3.2.8. Preparación de los sustratos

El sustrato A esta dado por la mezcla de leche, melaza y quitina, el cual se preparó según el procedimiento descrito en el numeral 3.1.8.1. El sustrato B lo constituyó la mezcla de quitina al 4.5%, nitrato de calcio al 0.3% para estabilizar el pH, y la levadura de cerveza, suministrada por la cervecería Costa Rica, a una dosis de 80 cc /l, equivalente a la aplicación del glucano a razón del 4%. La levadura fue sometida a una temperatura de 80° C durante cinco minutos para inactivarla. La inclusión de la levadura de cerveza en reemplazo del glucano dentro del sustrato fue una modificación realizada a partir de la tercera aplicación, la cual dada permitió hacer el proceso más eficiente y accesible a cualquier tipo de productor. Con el empleo de la levadura se eliminó el proceso de la extracción del glucano descrito. Se ajusto el pH de la solución a 7.0 y se adicionó WK como adherente y dispersante al 0.9% para todas las aplicaciones. Los sustratos fueron preparados en las horas de la tarde un día antes de su aplicación; en presencia de lluvia al momento de ser aplicados se mantuvieron refrigerados.

Dentro de los tratamientos T4 (sustrato A + químico) y T7(sustrato B + químico) la aplicación del químico se realizó de manera alternada con el sustrato, la aplicación del funguicida se hizo mediante rotación de productos (Cuadro 2). En los tratamientos T5 y T8 en los cuales los sustratos se combinan con el abono orgánico fueron realizadas tres aplicaciones de este como ya se ha referido.

3.2.9. Variables evaluadas

La evaluación de la enfermedad se determinó empleando la escala de Stover modificada por Gaulh (CORBANA 1996), estimando visualmente el área foliar afectada hasta 12 hojas por planta, considerando la hoja uno como la mas cercana a la hoja candela y realizando el conteo en forma de espiral hacia abajo.

La hoja más joven manchada (HMJM) fue un indicador del progreso de la enfermedad, y determino el momento de las aplicaciones de los respectivos tratamientos. Se evaluaron además total de hojas, hojas enfermas, hojas sanas,

estado de la hoja candela, y grado de desarrollo de la enfermedad. Mediante análisis de varianza se determinó si existía deferencia significativa entre tratamientos y mediante la prueba de Duncan se identificaron los mejores tratamientos. El análisis se realizó de manera independiente para plantas adultas y plantas hijas. Con el fin de no subestimar la severidad de la enfermedad; aquellas hojas que al momento de ser evaluadas habían sido retiradas de la planta para reducir fuente de inóculo fueron ingresadas en la base de datos con el mayor grado de desarrollo de la enfermedad (grado 6).

Igual procedimiento estadístico fue realizado para determinar las variables de respuesta hojas funcionales al momento de floración y al momento de la cosecha, indicador de gran relevancia dada su influencia directa tanto sobre el desarrollo del racimo, como en la vida verde del mismo principalmente cuando el objetivo de la producción es la exportación. Para efectos de interpretación de los resultados es importante aclarar que la cuantificación de las hojas funcionales tanto al momento de floración, como de cosecha fue realizada mediante la sumatoria del área fotosintéticamente activa para las doce hojas evaluadas por planta. Se valoraron con grado seis las hojas que ya se habían retirado de la planta y se dieron los máximos valores dentro de la escala a los grados de desarrollo de la enfermedad para las hojas presentes al momento de las respectivas evaluaciones, así por ejemplo, hojas que presentaron grado cuatro dentro de la escala (entre el 16-33% del área foliar afectada) fueron ingresadas a la base de datos como hojas con un 33% del área foliar afectada, correspondiendo de esta manera a plantas con el 77% del área sana, con capacidad de realizar fotosíntesis.

3.3 FASE III: ANÁLISIS ECONÓMICO DE LAS ALTERNATIVAS DE COMBATE DE LA SIGATOKA NEGRA EMPLEADAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1. El presupuesto parcial

Los presupuestos parciales son recomendados cuando se desea evaluar el efecto de un cambio tecnológico a práctica alternativa sobre el comportamiento económico

de un sistema de producción, organizando los datos experimentales con el fin de obtener tanto los costos adicionales en los cuales se incurre y los beneficios netos obtenidos por quienes adopten las respectivas técnicas (French 1989). Dentro del desarrollo de esta fase se consideraron únicamente los factores de costo y beneficio que diferenciaron cada uno de los tratamientos aplicados, valorando los insumos empleados, sin evaluar la rentabilidad total de la actividad, bajo el supuesto de que ésta es económicamente rentable, pero que la adopción de un tratamiento en particular la mejoraría, al disminuir los costos totales de producción del sistema de producción por manejo de la enfermedad (Ramírez 1994).

3.3.2. Procedimiento experimental

La investigación tuvo en cuenta tanto variables de respuesta para el desarrollo vegetativo, como para el desarrollo reproductivo, sin embargo es importante tener en cuenta al analizar los resultados obtenidos la ausencia de varias prácticas de manejo del cultivo, principalmente en la fase reproductiva realizadas a nivel de las plantaciones comerciales (despunte, desflore, desmane, etc) y que sin duda alguna hubieran permitido obtener racimos y frutos individuales de mejor calidad.

3.3.2.1. Variables evaluadas

Altura de la planta y el diámetro del pseudotallo fueron las variables de respuesta para evaluar el desarrollo vegetativo de la planta, el diámetro fue medido a 45 centímetros de la base del tallo. La evaluación se hizo cada cinco semanas por cada grupo de plantas (adultas e hijas). Para el caso de la productividad, fueron evaluadas peso total del racimo en kilogramos, cantidad de manos y cantidad de dedos; la evaluación de los frutos fue realizada tanto para el dedo central de la segunda mano del racimo, como para el dedo central ubicado en la misma posición de la antepenúltima mano. Las variables evaluadas en este caso fueron peso del fruto, longitud de la curvatura exterior del fruto medida desde el extremo distal hasta el extremo proximal y circunferencia del fruto en centímetros medida en su punto más ancho (Dadzie y Orchard 1997).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. FASE I: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SUSTRATOS SOBRE LA DINÁMICA DE POBLACIÓN DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS *A (Mycosphaerella fijiensis* MORELET) Y SU EFECTO SOBRE LA ENFERMEDAD.

4.1.1. Multiplicación y dinámica de población de los antagonistas

La densidad de población de las colonias será expresada en términos del número de unidades formadoras de colonias por mililitro ufc/ ml. El conteo s realizado 48 horas después de la siembra en el medio sólido mostró la presencia de varios tipos, con un incremento en su diversidad a medida que se realizaron las respectivas aplicaciones de los sustratos; en total de identificaron 12 tipos de colonias; su caracterización física de acuerdo con aspectos como color, forma y tipo de crecimiento, entre otras, se registra a continuación.

Cuadro 3: Caracterización física de las colonias

or	Tamaño	Forma	Apariencia	Borde	Crecimiento	Cantidad
nco mate	grande	redonda	seca y compacta	liso	aislado	pocas
nco nacar	mediano	redonda	húmeda y compacta	liso	concentrado	muchas
nco nacar	grande	irregular	húmeda	irregular	aislado	pocas
nco hueso	pequeño	redonda	húmeda	liso	aislado	pocas
nco hueso	mediano	redonda	húmeda	irregular	aislado	medio
nco ostra	grande	irregular	micelio seco	liso	aislado	pocas
rillo	pequeño	redonda	húmeda	liso	concentrado	muchas
rillo	grande	irregular	húmeda	irregular	aislado	medio
rillo radiante	pequeño	redonda	húmeda	liso	concentrado	muchas
rillo rad. Estr*	mediano	cúpula	estriada	regular	aislado	pocas
ada	pequeño	redonda	húmeda	liso	aislado	pocas
nja	grande	redonda	húmeda	liso	aislado	medio

* Amarillo radiante estriado.

La caracterización de las colonias por color se realizó mediante el uso de un catálogo de colores universal; el tipo de crecimiento hace referencia a su disposición espacial sobre el medio (agar nutriente); el crecimiento aislado se asocio generalmente con colonias grandes y de fácil identificación, a excepción de las colonias rosadas y blanco hueso, las cuales a pesar de su reducido tamaño crecieron en forma aislada. Colonias con tendencia a crecer en forma concentrada fueron mas pequeñas, y con mayor capacidad para invadir el medio y desplazar a otros tipos. La mayoría de colonias se observaron como si estuvieran mojadas, definiéndose su apariencia como húmeda, las colonias blanco mate se presentaron secas y compactas. El borde mediante el cual se delimitaron las colonias fue liso o irregular.

Con el fin de ofrecer una mayor claridad sobre el comportamiento de las poblaciones de antagonistas en la filosfera tanto en condiciones de invernadero, como bajo condiciones de campo se ha elaborado el Cuadro 4, y sobre este se realizará toda la interpretación de los datos para las variables de respuesta densidad, diversidad y estabilidad de las mismas.

4.1.1.1. Prueba en blanco o ensayo de uniformidad

El ensayo de uniformidad presentó el menor número de ufc /ml y la más baja diversidad en cuanto a colores y formas. La evaluación para la prueba en blanco mostró el crecimiento de colonias blanco mate, blanco nacar, amarillas y rosadas; aunque todas las plántulas estuvieron expuestas al mismo manejo, a excepción de las correspondientes al tratamiento T1 (testigo lavado), las cuales estuvieron sometidas a 7 mm de riego por aspersión durante los 15 días, previo al inicio de la aplicación de los sustratos, el ANDEVA realizado para cada uno de los tipos de colonias presento diferencias significativas. El mayor número de colonias encontradas fueron las blanco nacar, seguidas por amarillas, blanco mate y rosadas, sin embargo, la densidad de población de los microorganismos contabilizada en número de ufc /ml no fue relevante desde el punto de vista biológico.

Cuadro 4. Multiplicación y dinámica de población de los antagonistas a nivel de invernadero y campo durante la fase de inoculación.

Tratamientos	Colores	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4	Muestreo 5
T1	Blanco mate	1.7E+02	5.6E+03	5.6E+03		5.5E+03
	Blanco nacar	2.1E+02	8.2E+04	1.6E+05	3.1E+05	4.7E+05
	Amarillo	1.3E+02	2.7E+05	2.3E+05	1.1E+05	1.5E+05
	Rosado	3.3E+01		5.5E+03	1.2E+04	5.5E+03
	Amarillo vivo			8.3E+03	1.1E+05	4.7E+04
	Blanco hueso					2.0E+04
	Amarillo radiante				8.3E+03	3.3E+04
T2	Blanco mate	5.9E+03				2.8E+04
	Blanco nacar	2.7E+02	3.6E+05	1.0E+05	1.9E+05	4.2E+04
	Amarillo	1.1E+02	3.5E+05	2.4E+06	2.8E+05	1.2E+06
	Rosado	2.7E+02			5.6E+03	7.4E+03
	Amarillo vivo			1.4E+05	1.4E+05	5.5E+04
	Blanco hueso				3.7E+05	3.9E+04
	Amarillo radiante					4.4E+04
	Amarillo estriado					2.2E+04
T3	Blanco mate	3.5E+01				
	Blanco nacar	2.5E+02	2.4E+05	1.1E+05	5.0E+04	4.2E+05
	Amarillo	4.4E+02	1.7E+05	7.3E+05	2.9E+04	1.6E+05
	Rosado			5.6E+03	1.1E+04	5.6E+03
	Amarillo vivo			1.7E+04	4.4E+04	8.9E+03
	Blanco hueso					1.1E+04
	Amarillo radiante					1.4E+04
	Amarillo estriado					4.4E+04
T4	Blanco mate	3.1E+01				
	Blanco nacar	1.6E+02	7.3E+05	8.2E+04	3.0E+04	2.1E+05
	Amarillo	1.8E+02	4.0E+05	2.3E+06	4.0E+05	9.6E+04
	Rosado	8.0E+00		1.1E+04	1.7E+04	5.6E+03
	Amarillo vivo			5.7E+04	7.5E+04	1.9E+04
	Blanco hueso					5.7E+04
	Amarillo radiante					8.2E+05
	Amarillo estriado					9.0E+04
T5	Blanco mate	1.6E+01				
	Blanco nacar	1.6E+02	2.0E+06	3.2E+05	3.1E+05	9.0E+04
	Amarillo	3.3E+02	2.3E+05	9.7E+05	1.9E+05	1.9E+05
	Rosado	1.1E+01				
	Amarillo vivo			1.4E+05	2.8E+04	3.3E+05
	Blanco hueso				1.9E+05	
	Amarillo radiante				1.3E+04	2.6E+04
	Amarillo estriado					

Cuadro 4. Continuación

T6	Blanco mate	5.2E+01			1.1E+04	
	Blanco nacar	1.6E+02	6.5E+05	2.9E+05	2.2E+04	8.1E+04
	Amarillo	3.2E+02	8.3E+04	1.5E+06	2.3E+05	2.4E+05
	Rosado	1.9E+01		5.6E+03	7.4E+03	8.9E+03
	Amarillo vivo			7.5E+04	1.8E+04	4.4E+04
	Blanco hueso				7.4E+04	3.2E+05
	Amarillo radiante					1.1E+05
	Amarillo estriado					9.7E+05
T7	Blanco mate	1.4E+01	8.3E+03		5.6E+03	
	Blanco nacar	1.8E+02	7.7E+05	7.8E+05	6.9E+04	8.2E+04
	Amarillo	3.2E+02	9.5E+04	5.8E+04	8.1E+04	2.9E+04
	Rosado	6.0E+00		1.5E+04		4.6E+04
	Amarillo vivo			1.8E+05	1.7E+05	3.0E+04
	Blanco hueso				5.6E+03	1.7E+04
	Amarillo radiante					1.0E+05
	Amarillo estriado					9.6E+04
T8	Blanco mate	3.0E+02	8.0E+04		3.9E+04	3.9E+04
	Blanco nacar	5.4E+02	6.2E+05	3.2E+05	1.8E+04	4.3E+05
	Amarillo	3.0E+02	1.4E+05	6.3E+05	5.6E+04	1.2E+05
	Rosado	9.0E+00		1.1E+04	1.1E+04	8.3E+03
	Amarillo vivo			2.3E+04	2.8E+04	9.7E+03
	Blanco hueso					5.0E+04
	Amarillo radiante					
	Amarillo estriado					1.1E+04
T9	Blanco mate	1.7E+01	5.6E+03		2.5E+04	5.6E+03
	Blanco nacar	3.0E+02	1.1E+05	2.7E+05	5.1E+04	5.6E+05
	Amarillo	2.4E+02	5.2E+04	4.2E+05	2.4E+05	7.3E+04
	Rosado	1.2E+01			7.8E+03	5.6E+03
	Amarillo vivo				1.5E+05	5.6E+04
	Blanco hueso					
	Amarillo radiante					3.0E+04
	Amarillo estriado					6.6E+05
T10	Blanco mate	6.9E+01	1.1E+04		5.6E+03	5.6E+03
	Blanco nacar	3.7E+02	3.8E+05	2.1E+05	8.3E+03	9.0E+04
	Amarillo	2.6E+02	1.5E+05	1.4E+06	6.7E+05	1.5E+05
	Rosado	9.0E+00		5.6E+03	5.4E+04	5.6E+03
	Amarillo vivo			3.8E+04	7.0E+04	1.7E+04
	Blanco hueso					2.2E+04
	Amarillo radiante					5.4E+04
	Amarillo estriado					

Cuadro 4. Continuación

T11	Blanco mate	5.9E+01				6.9E+04
	Blanco nacar	4.9E+02	8.0E+05	1.3E+05	1.2E+05	2.7E+05
	Amarillo	2.7E+02	2.4E+04	1.3E+06	5.3E+05	1.2E+05
	Rosado	8.0E+00		5.6E+03		8.3E+03
	Amarillo vivo			5.1E+04	1.4E+05	1.5E+05
	Blanco hueso					9.3E+04
	Amarillo radiante					2.6E+05
	Amarillo estriado					4.4E+05
T12	Blanco mate	3.3E+01				
	Blanco nacar	2.2E+02	1.5E+06	1.3E+05	1.4E+04	2.5E+05
	Amarillo	4.4E+02	5.5E+04	5.4E+05	1.6E+05	1.8E+05
	Rosado	6.0E+00		1.4E+04	8.3E+03	1.1E+04
	Amarillo vivo			2.4E+04	8.6E+04	6.1E+04
	Blanco hueso					3.1E+04
	Amarillo radiante					2.2E+04
	Amarillo estriado					
T13	Blanco mate	1.9E+01			5.6E+03	
	Blanco nacar	2.9E+02	6.4E+05	1.1E+05	5.3E+04	3.3E+05
	Amarillo	1.9E+02	6.2E+05	2.7E+05	5.9E+05	2.8E+05
	Rosado	1.0E+01		1.9E+04	2.4E+04	1.1E+04
	Amarillo vivo			6.3E+05	2.6E+05	1.5E+05
	Blanco mate					
	Amarillo radiante					6.5E+04
	Amarillo estriado					5.0E+04
T14	Blanco mate	4.9E+01	8.3E+03			
	Blanco nacar	3.5E+02	6.0E+05	5.0E+05	2.8E+05	3.7E+05
	Amarillo	3.0E+02	7.8E+04	7.6E+05	3.1E+05	1.0E+05
	Rosado	1.3E+01		1.1E+04		
	Amarillo vivo			3.4E+01	5.4E+04	2.6E+04
	Blanco hueso					
	Amarillo radiante					1.1E+04
	Amarillo estriado					2.4E+04
T15	Blanco mate	2.4E+01				
	Blanco nacar	1.6E+02	5.5E+05	1.6E+05	2.7E+05	2.3E+05
	Amarillo	8.8E+01	2.6E+05	8.1E+05	3.3E+05	8.3E+04
	Rosado	9.0E+00			1.3E+04	2.8E+04
	Amarillo vivo			1.2E+05	1.3E+05	1.5E+05
	Blanco hueso					3.3E+04
	Amarillo radiante					2.0E+05
	Amarillo estriado					2.7E+05

Cuadro 4. Continuación

T16	Blanco mate	2.1E+01	1.1E+04	3.9E+05		
	Blanco nacar	2.1E+02	9.3E+05	1.5E+05	5.6E+04	2.8E+05
	Amarillo	8.1E+01	8.4E+05	5.6E+05	2.5E+05	1.9E+05
	Rosado	9.0E+00		5.6E+03	8.3E+03	1.1E+04
	Amarillo vivo			3.2E+05	5.4E+04	2.1E+05
	Blanco hueso					1.8E+05
	Amarillo radiante					6.7E+04
	Amarillo estriado					7.8E+04
T17	Blanco mate	9.3E+00	1.4E+04	5.6E+03		
	Blanco nacar	1.0E+02	6.0E+02	2.5E+05	3.2E+04	2.3E+05
	Amarillo	7.7E+01	2.2E+05	5.6E+05	8.2E+04	1.3E+05
	Rosado	7.0E+00			9.7E+03	4.6E+04
	Amarillo vivo			1.3E+05	1.3E+05	
	Blanco hueso					
	Amarillo radiante			5.1E+05	5.1E+05	5.6E+03
	Amarillo estriado					
T18	Blanco mate	1.1E+01		7.4E+03	7.8E+03	
	Blanco nacar	7.9E+01	2.7E+05	2.5E+05	7.1E+04	2.2E+05
	Amarillo	4.5E+01	2.0E+05	1.1E+06	1.3E+05	1.6E+05
	Rosado	1.0E+01			9.3E+03	1.9E+04
	Amarillo vivo			1.6E+05	2.5E+04	2.5E+05
	Blanco hueso					
	Amarillo radiante					1.1E+05
	Amarillo estriado					
T19	Blanco mate	8.9E+00		5.6E+03		
	Blanco nacar	2.1E+02	1.5E+05	1.8E+05	3.8E+04	1.0E+05
	Amarillo	1.5E+02	5.5E+04	7.1E+05	7.9E+04	1.8E+05
	Rosado	4.3E+01		8.3E+03	5.6E+03	
	Amarillo vivo			1.5E+04	1.4E+04	4.6E+04
	Blanco hueso					6.5E+04
	Amarillo radiante					8.3E+03
	Amarillo estriado					3.3E+05
T20	Blanco mate	1.8E+01	5.6E+03			
	Blanco nacar	2.5E+02	9.5E+04	1.2E+05	9.1E+05	7.1E+05
	Amarillo	2.3E+02	5.1E+04	4.3E+05	2.7E+05	9.3E+04
	Rosado	1.0E+01		1.4E+04	4.0E+05	
	Amarillo vivo			1.8E+05	2.3E+05	2.1E+05
	Blanco hueso					
	Amarillo radiante				2.0E+04	
	Amarillo estriado					

4.1.1.2. Segunda evaluación

Los resultados fueron similares a los arrojados por el ensayo de uniformidad para la variable de respuesta relacionada con la diversidad, pero presento grandes diferencias en cuanto la densidad de población, la cual se incremento de manera importante. El ANDEVA para las colonias blanco mate no mostró diferencia significativa entre tratamientos, pero el número de ufc /ml paso de 43 a 8.04×10^3 para T8 (nitrato + leche). La menor densidad de población se presento para los tratamientos T1(testigo lavado), T9 (nitrato + glucano) y T20 (testigo sin lavar) con 5.6×10^2 .

Se registró diferencia significativa entre tratamientos para colonias blanco nacar (Anexo 12), siendo los más favorables para su multiplicación los T5 (melaza + glucano), T12 (nitrato + melaza), T16 (glucano + quitina + leche), T11 (nitrato + quitina + glucano), y T7 (melaza + quitina + glucano) con 1.95×10^6, 1.47×10^6, 9.28×10^5, 8×10^5 y 7.6×10^5. Los menos favorables para el crecimiento de las colonias blanco nacar fueron los T1, T20, T9, T19 (melaza), T3 (quitina) y el T18 (leche) con 8×10^4, 9.5×10^4, 1×10^5, 4×10^5, 2.4×10^5 y 2.7×10^5 respectivamente. Las colonias amarillas presentaron diferencias significativas entre tratamientos (Anexo 13), correspondiendo T16 al mejor con 8.4×10^5, seguido por T13 (nitrato + melaza + glucano + leche) con 6.2×10^5 y T4 (melaza + leche) con 4×10^5 respectivamente. El menor número de ufc / ml fue para T11 con 2.3×10^4, T20 con 5.1×10^4 y T9 con 5.1×10^4.

La densidad de población para las colonias rosadas fue significativamente menor comparada con las blanco nacar y las amarillas; estas estuvieron presentes solo en seis tratamientos, sin embargo se presentó diferencia significativa entre éstos (Anexo 14); el mejor comportamiento con relación a la multiplicación fue para el T13 con 2.2×10^3; sin embargo, la prueba de Duncan no mostró diferencia estadística significativa entre T12, con 9×10^3 y T11, T14 (nitrato +melaza + quitina), T15(nitrato + melaza + quitina + glucano + leche) y T17 (glucano) con 5.5×10^3 cada uno.

Al comparar los resultados obtenidos para esta evaluación con los resultados del ensayo en blanco, se demuestra el efecto directo de los sustratos sobre la multiplicación de los antagonistas, a pesar de no haberse favorecido el incremento en la diversidad de las colonias, conservándose los cuatro tipos hallados inicialmente. Es importante además referir el efecto de los sustratos sobre la disminución de las colonias blanco mate y rosadas, los cuales favorecieron la multiplicación a nivel del filoplano de las colonias amarillas y blanco nacar, las cuales mostraron una alta capacidad de multiplicación en el filoplano desplazando las colonias blanco mate y rosadas de menor agresividad; este aspecto es de gran importancia dentro de una estrategia de manejo integrado de la enfermedad, ya que es muy importante contar con un sustrato que estimule la capacidad de multiplicación de los antagonistas, siendo esta una de las características referidas por Blakeman 1993, al definir un antagonista ideal.

4.1.1.3. Tercera evaluación

Al analizar la información generada a partir de la tercera evaluación se tuvo en cuenta el efecto de las condiciones ambientales (Anexo1) sobre las variables de respuesta multiplicación y dinámica de la población de los antagonistas, ya que a partir de la segunda aplicación de los sustratos las plántulas fueron trasladadas a la estación experimental "La Montaña" para ser inoculadas de manera natural por *Mycosphaerella fijiensis*.

El análisis de varianza detecto diferencia significativa para las colonias blanco mate (Anexo 15), sin embargo, la población fue menor comparada con la evaluación anterior. El mayor número de ufc /ml fue para T16 con 3.8×10^{4}, no se presentó diferencia significativa entre T18, T1 , T17 y T19 con un promedio de 6.02×10^{3} cada uno.

Condiciones de alta precipitación con un efecto directo sobre el lavado tanto de nutrientes como de microorganismos pudieron haber reducido de manera importante

la población de colonias blanco nacar; el ANDEVA registró diferencias entre tratamientos (Anexo 16), presentándose las mayores poblaciones para T7 con 7.82 x 10^5 y T14 con 4.96 x 10^5. Las menores poblaciones se detectan para T4 con 8.2 x 10^4, T2 con 1.04 x 10^5 y el T13 con 1.06 x 10^5.

El ANDEVA para las colonias amarillas (Anexo 17) mostró diferencias significativas, su densidad de población, a diferencia de las blanco nacar presentó un importante aumento a pesar de la alta precipitación registrada, lo cual permite suponer menor mayor resistencia al lavado y menor susceptibilidad a condiciones de la alta humedad y menor radiación solar. T2 presentó 2.37 x 10^6 ufc /ml, seguido de T4 y T6 con 2.26 x 10^6 y 1.54 x 10^6. Mostraron un buen comportamiento T10, T11 y T18. La menor densidad fue para T7 con 5.8 x 10^4, T1 con 2.3 x 10^5 y T 13 con 2.6 x 10^5. Las colonias rosadas no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, su número se redujo bajo condiciones de campo y continuaron T13 y T12 favoreciendo su multiplicación, al igual que T7.

Aparece un nuevo tipo de colonia de color amarillo vivo, presentando diferencias significativas entre tratamientos (Anexo 18), correspondiendo T3 al mejor tratamiento con 6.3 x 10^5, seguido por T16 con 3.18 x 10^5. Se comportaron estadísticamente igual T20, T7, T18, T9, T2 y T5 con 1.56 x 10^5 en promedio. La menor población se dio para T1 con 8.3 x 10^3 y T19, T3, T8 , T12, T14 y T10 con valores menores a 3.7 x 10^4. Una colonia de color amarillo radiante aparece en T17 con una densidad de 5.1 x 10^5.

Los resultados registrados para la tercera evaluación permiten concluir que la exposición de las plántulas a nivel de campo ciertamente tiene un efecto positivo sobre el incremento en la diversidad de colonias, favoreciendo la presencia de colonias que no fueron encontradas a nivel del invernadero, aun bajo el efecto de los diferentes sustratos. De igual forma se presentó una gran variabilidad en cuanto a su dinámica de población tanto entre tratamientos como dentro de estos.

4.1.1.4. Cuarta evaluación

Las colonias blanco mate solo estuvieron presentes en siete tratamientos con diferencia significativa entre estos (Anexo 19); los tratamientos más favorables para su desarrollo fueron diferentes a aquellos que las favorecieron en la tercera evaluación, siendo común en ambos T18, el cual además presentó un comportamiento estable en cuanto al número de colonias. El mayor número de ufc / ml fue para T8 con 3.8×10^4 y T9 con 2.5×10^5. Con un promedio de 6.1×10^3 aparecen T18, T7, T13 y T10. Para las colonias blanco nacar se presentó diferencia significativa (Anexo 20) solo entre T20 con 9×10^5 y el resto de los tratamientos. T1 aparece con una población de 3.1×10^5. mientras los tratamientos T10, T12 y T6, T10 disminuyen su población de manera drástica.

Nuevamente se presento diferencia significativa entre tratamientos para las colonias amarillas (Anexo 21), a pesar de haberse detectado una importante disminución en su densidad en relación a la tercera evaluación, pasando de $2,37 \times 10^6$ para T2 a 6.7×10^5 \para T10. Los tratamientos T13 y T11 tuvieron un comportamiento similar con 5.9×10^5 y 5.2×10^5. La menor población se presentó para T3, T8 y T19 con 2.8×10^4, 5.5×10^5 y 7.9×10^5 respectivamente. T20 y T1 encontrados como los más favorables para la multiplicación de las colonias blanco nacar, no favorecieron la multiplicación de las amarillas, pasando T20 de 9.0×10^5 a 2.6×10^5 y T1 de 3.1×10^5 a 1.0×10^5, ubicándose este ultimo como el peor tratamiento después del T7.

El ANDEVA para las colonias rosadas mostró diferencia significativa (Anexo 22); T20 incrementa el número de ufc / ml de 1.1×10^5 a 3.9×10^5. El resto no presentaron diferencias estadísticas; los mayores niveles fueron para T10, T13, T4, T15, T1, T3 y T8 con 2×10^4. La población más baja la presentaron T2 y T19 con 5.6×10^4 cada uno.

Las colonias amarillas vivo se reducen drásticamente aunque el ANDEVA mostró diferencia entre tratamientos (Anexo 23); T13 se presenta nuevamente con la mayor

densidad de población, a pesar de haberse disminuido de 6.25×10^5 a 2.56×10^5. Los tratamientos T7, T2, T15, T17 presentaron un comportamiento estable, mientras T19 continua presentando una de las densidades más bajos, seguido de T6 y T18.

Las colonias de color amarillo radiante aparecen en cuatro de los tratamientos con diferencia significativa entre éstos (Anexo 24), siendo T17 con 5.1×10^5 el más favorable para su desarrollo, manteniendo su población estable comparada con la tercera evaluación y desplazando los otros tipos de colonias, los cuales disminuyeron su población significativamente. Aparece un nuevo tipo de colonia de color blanco hueso en T11, T8, T2, T1, T10 y T9, sin presentarse diferencia significativa entre éstos, sin embargo, T11 presentó la mayor densidad de población con 6.9×10^4 ufc / ml, seguido de T8 con 3.8×10^4 y T2 con 2.7×10^4

4.1.1.5. Quinta evaluación

No se presentó diferencia significativa entre tratamientos para las colonias blanco mate las cuales aparecen solo en seis de la totalidad de los tratamientos, sin embargo, T11 presenta la mayor población con 6.9×10^4, T8 y T10 continúan estables con relación a la evaluación anterior con 5.6×10^3. Según el Anexo 25 hay diferencia significativa entre tratamientos para las colonias blanco nacar, T20 aparece una vez más con el mayor número de colonias, aunque reduce su población con relación a la cuarta evaluación, seguido en orden de importancia los tratamientos T9, T1, T8 y T3. En este muestreo se da un incremento significativo del número de colonias blanco nacar para todos los tratamientos, excepto para T20 y T2.

Las colonias amarillas presentaron poca variabilidad entre tratamientos (Anexo 26), T2 presento un incremento importante en su densidad, pasando de 2.79×10^5 a 1.15×10^6 ; presentaron un comportamiento estable T5 y T6, sin embargo, es importante resaltar como a diferencia de las colonias blanco nacar , las cuales se incrementaron de manera significativa las colonias amarillas sufrieron una disminución de su población bastante fuerte. El menor número de colonias fue para T7 con 2.9×10^4, seguido de T9, T15, T20 y T4.

No existió diferencia significativa para las rosadas, desaparecen en T20 y la mayor población se presento para T17 y T15 con 4.5×10^4 y 2.7×10^4 respectivamente; igualmente se presento un incremento T18, T12 y T16. El menor número de colonias fue para T9, T3, T4 y T10 con 5.5×10^4 cada uno .

Se presento diferencia significativa entre tratamientos para las colonias amarillo vivo (Anexo 27), se comportan de manera estable el T20, T15, T11, desapareciendo en T7 y T17; el mayor número de colonias aparece en T5 con 3.29×10^5, seguido del T18, T20 y T16 con 2.2×10^5 en promedio; se comportan de manera similar T15, T11 y T13 con 1.4×10^5. Incrementan su población T18, T16 y T6. Los mas bajos valores los presentan T3, T8 y T4.

El Anexo 28 registra diferencia para las colonias amarillo radiante; aparecen en 17 de los tratamientos y en mayor densidad comparadas con la evaluación cuarta, desaparecen en T20 y T17 presenta el menor número con 5.5×10^4. T4 corresponde al mejor con 8.2×10^5 ,seguido por T11 con 2.5×10^5. También fueron registrados como favorables para su crecimiento T15, T6, T18 y T7.

No se registra diferencia significativa entre tratamientos para las blanco hueso, presentes en trece de ellos, siendo T6 el que presentó el mayor número de ufc / ml con 3.2×10^5, seguido de T16 y T11 con 1.8×10^5 y 9.2×10^4 Los tratamientos menos favorables T3, T7 y T1 con poblaciones inferiores a 2×10^4.

Una nueva colonia amarilla, con apariencia de cúpula y estrías bien definidas aparece para la mayoría los tratamientos presentando diferencias significativas entre éstos (Anexo 29). T6, T9 y T11 presentaron las mayores poblaciones con 9.7×10^5, 6.6×10^5 y 4.4×10^5 respectivamente. T8, T2, T14 y T13 con rangos desde 5×10^4 a 1.1×10^4 presentaron las poblaciones mas bajas.

4.1.2. Reacción de los tipos de colonias a las diferentes pruebas químico biológicas.

La reacción de las colonias a las diversas pruebas químico biológicas se presenta a continuación; su habilidad para producir enzimas quitinolíticas y glucanolíticas para cada tipo se detecto a través de la presencia del halo trasparente alrededor de las mismas.

Cuadro 5: Reacción de las colonias a las diferentes pruebas químico biológicas.

	Consumo		Reacción		Supervivencia
Tipo de colonia	Glucano	Quitina	KOH	B de KING	80ºC
Amarilla*	**	**	-	-	-
Blanca mate	*	-	+	-	-
Blanco nacar	*	*	-	-	+
Rosada	*	-	-	-	-
Amarillo vivo*	**	-	-	-	-
Blanco hueso	-	-	-	-	-
Amarillo radiante	**	-	-	+	-
Amarillo estriado	**	*	-	-	-
Naranja	*	-	-	-	-

* Consumo regular ** Alto consumo a las 48 horas

Los resultados anteriores muestran a la mayoría de las colonias reaccionando de manera negativa a la prueba del KOH, excepto las colonias blancas mate clasificadas como Gram negativas y como *Bacillus spp* al sobrevivir a 80 ºC durante 10 minutos; solo las colonias amarillo radiante presentaron fluorescencia y todas presentaron algún nivel de actividad glucanolítica a excepción de las blanco hueso; tres de ellas presentaron habilidad para producir quitinasas; las colonias amarillas y las amarillo vivo registraron la mayor capacidad para consumir el medio en presencia de glucano; las colonias amarillas también consumieron el medio de manera eficiente en presencia de quitina, siendo la capacidad de los sustratos para favorecer la multiplicación de este tipo de colonias uno de los principales indicadores al momento de seleccionar los dos que serían empleados en la fase de campo, dada

la importancia de contar con a nivel del filoplano con antagonistas con habilidad para producir enzimas tanto glucanolíticas, como quitinolíticas que digieran la pared celular de las hifas de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.

4.1.3. Efecto de los sustratos sobre el desarrollo de la enfermedad

El Análisis de varianza realizado para evaluar tanto la cantidad de lesiones, como el estado de desarrollo de los síntomas según la escala de Fouré 1985, mostró diferencia altamente significativa entre tratamientos a una probabilidad de error menor al 5% (Anexo 30); al realizar el análisis de comparación de medias T6 registró el menor número de lesiones presentando en promedio menos de 50 estrías, seguido por T10, T20, T2, T11 y T7 los cuales presentaron un número mayor sin coalescer.

El tratamiento con el estado más avanzado de los síntomas correspondió a T17 con mas de 50 estrías coalescentes, seguido por T8, T5 y T16 los cuales presentaron un menor número. Para el resto de los tratamientos se detecto un comportamiento intermedio.

Durante el tiempo de permanencia de las plántulas en el campo (25 días), se desarrollaron en promedio 2.13 hojas, con una frecuencia de emisión foliar de una hoja por cada 10.86 días, lo cual significa que estas estuvieron expuestas todo el tiempo al efecto de los sustratos, los cuales de hecho le proporcionaron protección contra la enfermedad dado el estado inicial de los síntomas encontrados para la totalidad de los tratamientos al realizar las evaluaciones; es importante tener en cuenta que entre el traslado de las plántulas al campo para ser inoculadas de manera natural y el inicio de la evaluación transcurrieron 52 días, 68 días al final de la misma, tiempo más que suficiente para que se hubiesen presentado síntomas en grado 6, según Fouré 1985.

4.1.4. Efecto de las condiciones climáticas sobre el comportamiento de los antagonistas durante la fase de campo

Para el análisis del efecto de las condiciones ambientales sobre los antagonistas fueron considerados los valores promedios registrados entre la aplicación y el lavado de las hojas para las principales variables climatológicas, registrándose los siguientes valores.

Cuadro 6: Condiciones climáticas promedio registradas entre aplicación del sustrato y el lavado de la hoja bajo condiciones de campo

				Humedad relativa (%)	
Evaluación	T max °C	Precipitación (mm)	Radiación	Media	Mínima
3	21.9	69.5	8.28	90.2	70.3
4	27.1	3.4	13.6	83.7	57
5	26.5	13.8	11.2	88.2	65

Con base en la información registrada en los Cuadros 4 y 6 se analizó el comportamiento de los diferentes tipos de colonias, detectándose una mayor sensibilidad de las colonias de color amarillo a condiciones de alta temperatura y radiación solar, lo cual se reflejó en el menor número de ufc / ml presentes para la gran mayoría de los tratamientos para la cuarta evaluación en comparación con la población registrada para la tercera evaluación.

Las colonias blanco nacar, clasificadas como *Bacillus spp* presentaron mayor tolerancia a condiciones de alta temperatura y radiación solar, presentando una disminución menos drástica de su población comparadas con las colonias amarillas; igualmente colonias de tonalidades oscuras como son las rosadas y las amarillo vivo presentan los mayores niveles de resistencia a condiciones de alta temperaturas y radiación solar.

Se detectó claramente la disminución del número de colonias blanco nacar para la mayoría de los tratamientos al presentarse un incremento en la precipitación, mientras las amarillas incrementaron su población de manera significativa, demostrando ser mas resistentes a condiciones de alta precipitación y alta humedad relativa.

Con relación a la precipitación es importante tener en cuenta que esta variable climática en condiciones del trópico húmedo se convierte en una de las principales limitantes para el desarrollo de una estrategia de control biológico a nivel del filoplano debido a que las altas precipitaciones tienen un efecto directo sobre el lavado de los nutrientes, generando competencia por éstos tanto entre antagonistas, como entre antagonistas y patógenos. El efecto del lavado por causa de la precipitación se redujo a través de la aplicación del adherente WK al 0.3%.

La alta variabilidad y dinámica de la población de los microorganismos antagonistas cuando las plántulas son expuestas a las condiciones de campo, para la totalidad de los tratamientos evaluados supone una relación directa de las condiciones climáticas sobre su comportamiento, además de corroborar la existencia de una cantidad de nutrientes endógenos, ausentes bajo condiciones de invernadero, que son altamente favorables para variar la ecología microbíal a nivel del filoplano, aún sin la aplicación de los sustratos como se pudo comprobar con los resultados obtenidos al evaluar los tratamientos T1 y T20 los cuales no estuvieron bajo el efecto de ningún tratamiento.

Los resultados anteriores demuestran la importancia de implementar estrategias que favorezcan la mayor diversidad de colonias a nivel del filoplano, dada las diferentes respuestas de las mismas frente a las variadas condiciones climáticas registradas en el trópico; lo anterior permitiría obtener una mayor efectividad del control biológico de la enfermedad dado el efecto de complementariedad de las mismas.

4.1.5. Efecto de la fuentes individuales sobre la densidad y dinámica de población de los microorganismos.

Las fuentes individuales estuvieron dadas dentro del diseño por los tratamientos T3 (quitina), T17(glucano), T18 (leche) y T19 (melaza) y aunque el objetivo de la investigación no consideró su posible selección como uno o dos de los mejores tratamientos y su posterior aplicación el campo, independiente de su respuesta con relación a las variables analizadas, se considero el análisis individual de su comportamiento.

Las aplicación de quitina presento poca estabilidad en cuanto a su densidad de población entre una evaluación y otra, sin embargo favoreció el crecimiento de las colonias amarillas, blanco nacar y amarillo estriado clasificadas como quitinolíticas. Es importante anotar el incremento en la diversidad de colonias a medida que se realizaron las aplicaciones; aunque desaparecieron las colonias blanco mate se paso de cuatro tipos en la primera evaluación a siete al finalizar el ensayo. Al evaluar su efecto sobre el desarrollo de la enfermedad presento menos de 50 estrías coalescentes, según la escala de Fouré (1985).

El glucano fue menos eficiente que la quitina para todas las variables de respuesta evaluadas, favoreció la estabilidad de las colonias amarillas; así mismo, fue la fuente más favorable para el desarrollo de una bacteria de tipo fluorescente con alta capacidad de consumir el medio. Represento el sustrato con menor diversidad de colonias al final del ensayo con solo cuatro tipos y registró el peor comportamiento al ser evaluado su efecto sobre el desarrollo de la enfermedad.

La leche mostró un comportamiento mas estable con respecto a la densidad población de las colonias blanco nacar y amarillas, aún en presencia de condiciones de alta precipitación; registró al final del ensayo un incremento en la diversidad de colonias con una densidad de población importante para cada una de ellas. Con base en el desarrollo de los síntomas de la Sigatoka negra se ubica en el puesto 7 entre los 20 sustratos evaluados, lugar asignado en orden descendente a partir de

T17 evaluado como el peor de los tratamientos. La efectividad de la leche se atribuyó posiblemente a una mayor persistencia de esta a nivel de la hoja, y a la presencia de una mayor cantidad de elementos nutricionales que estimularon la multiplicación de los antagonistas: así mismo, se observo una especie de película sobre las hojas de las plantas que fueron tratadas con leche, la cual actuó posiblemente como una barrera física que impidió la penetración del patógeno (Ruiz *et al.* 1997b).

Aplicaciones repetidas de melaza al follaje de las plántulas favorecieron la diversidad de colonias; se presentó un incremento importante en el tipo y número en el momento de la máxima precipitación; al igual que la leche la melaza al ser aplicada sobre la hoja produjo ó una especie de película, la cual complementada con la acción adherente del WK disminuyó tanto el lavado de nutrientes como de microorganismos. Al ser evaluada por su efecto con relación a la enfermedad tuvo un mejor comportamiento comparado con las otras fuentes individuales; tanto la leche como la melaza presentaron un efecto positivo sobre la multiplicación y supervivencia en condicones in vitro de antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* (Ruiz *et al.*1997b).

4.1.6. Selección de los dos mejores sustratos

Los tratamientos T6 (quitina + melaza + leche) y el T11 (quitina + glucano + nitrato de calcio) aún bajo la alta variabilidad de respuestas encontradas tanto dentro, como entre tratamientos fueron seleccionados como los dos mejores sustratos; la selección se realizó considerando el efecto de los diferentes sustratos sobre las variables de respuesta densidad de población, estabilidad, diversidad, y habilidad de los antagonistas para producir enzimas glucanolíticas y quitinolíticas durante la fase del experimento desarrollada a nivel de campo. El efecto de los sustrato sobre el desarrollo de la enfermedad represento otro indicador tenido en cuenta al momento de hacer la selección.

Es así, como a pesar de la alta variabilidad en la densidad de las poblaciones de antagonistas en el tiempo como respuesta a su gran sensibilidad a cambios, aun

mínimos, en las condiciones ambientales, se detecto un mejor comportamiento para T6 y T11. Así mismo, aunque T6 y T11 no presentaron los mayores niveles de población por tipo de colonias, fueron muy importantes al estimular su diversidad en el tiempo, considerada esta como una característica de gran importancia dado el efecto de complementariedad entre antagonistas al momento de presentarse condiciones ambientales y nutricionales adversas para determinado grupo.

Adicionalmente T6 y T11 presentaron una gran capacidad de multiplicar y mantener las poblaciones de colonias amarillas, importantes dentro de un programa de control biológico de Sigatoka negra por su gran habilidad para favorecer la multiplicación de antagonistas con capacidad de producir tanto enzimas glucanolíticas, como quitinolíticas.

Adicionalmente, como un mecanismo que ayudará a aclarar e ilustrar de una mejor manera el efecto de las condiciones ambientales sobre el comportamiento de los antagonistas, aún sin estar bajo el efecto de los sustratos se presenta la Figura 3 en la cual se comparan las respuestas de los tratamientos T6 y T11 frente a los tratamientos T1 y T20 para las variables densidad de población, diversidad de antagonistas y estabilidad de los mismos través de las diferentes evaluaciones.

Es importante resaltar como la densidad de población general, sin clasificarlas por tipo, no presentó diferencias biológicas significativas, encontrándose un número importante de colonias en todos los tratamientos, aun para T1 y T20 que nunca estuvieron expuestos al efecto de los sustratos. Igualmente se encontró un numero importante de tipos de colonias, aunque favorecieron mas la presencia de colonias blanco nacar, a diferencia de los tratamientos T6 y T11 que fueron muy favorables para el desarrollo delas colonias amarillas.

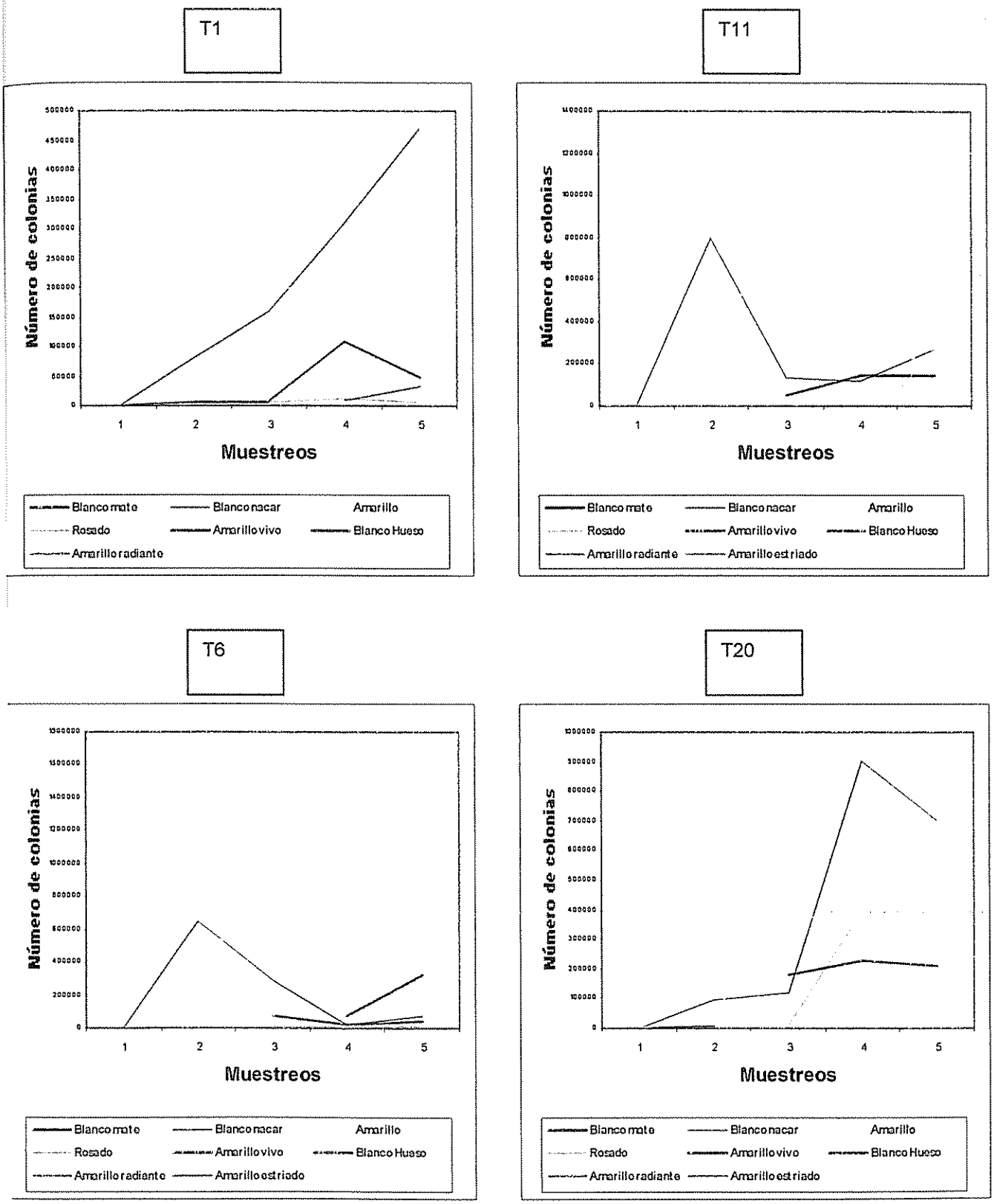


Figura 3: Efecto de T1, T6, T11 y T20 sobre la densidad, diversidad y estabilidad de los antagonistas

4.1.7. Efecto del lavado sobre la dinámica de población de los microorganismos.

Los resultados obtenidos del producto del lavado de las hojas las plántulas mantenidas bajo condiciones de invernadero durante todo el tiempo del ensayo demostraron la importancia de la manipulación del ambiente a nivel del filoplano, sea a través de la adición de diferentes sustratos o exponiendo las plantas al efecto de los nutrientes exógenos presentes bajo condiciones de campo (Anexo 31).

Se determinó una baja densidad de población de microorganismos, y no se presento un incremento en el tipo de colonias a medida que se realizaron las diferentes evaluaciones; al comparar estos resultados con los obtenidos para el tratamiento T20, al cual tampoco se le aplicó ningún sustrato, pero que fue mantenido bajo condiciones de campo por 25 días, se detectó una mayor dinámica y su densidad de población de los antagonistas para T20, igual situación se registró para T1, aunque su comportamiento con relación a las mismas variables de respuesta se considero menor comparado con el tratamiento T20.

4.1.8. Análisis de carbohidratos y proteínas.

El análisis realizado del producto del lavado de las hojas de las plántulas mantenidas dentro del invernadero mostró la no existencia de carbohidratos a nivel del filoplano, tanto para plántulas bajo condiciones de invernadero, como para las del tratamiento T1, que estuvieron en el campo durante un periodo de 25 días; con relación a la concentración de proteínas se encontró un contenido promedio de 4.55% para plántulas expuestas a condiciones de invernadero, mientras que para las plántulas de T1 se registró un 4.9 %.

Los datos obtenidos de la solución proveniente del lavado difieren significativamente de los datos obtenidos al analizar las mismas variables pero con base al peso seco de la muestra, encontrándose un promedio de proteína 15.8% para las plántulas bajo condiciones de invernadero y de 18.1% para aquellas expuestas a condiciones de campo. Así mismo, se encuentran niveles de fructuosa, glucosa y sacarosa de 45.5, 34.4 y 26.3 mg /g para plántulas expuestas a condiciones de campo y de 59.3, 21.37

y 21.22 mg /g sin exposición. La información generada a partir de este análisis es contraria a lo reportado por (Chet *et al.* 1973) quienes afirman que los contenidos de azucares para algunos cultivos son de 1.2 a 1.5 veces mayores que los contenidos de aminoácidos a nivel del filoplano.

4.2. FASE II: ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis* MORELET) EN EL CULTIVO DEL BANANO *(Musa* AAA)

4.2.1. Desarrollo de la enfermedad

Previo al inicio de la aplicación de los tratamientos el manejo de la enfermedad se realizó mediante el deshoje sanitario y las aplicaciones alternadas de fungicidas de tipo comercial como ya se refirió, las cuales se suspendieron 30 día antes de iniciar las aplicaciones de los tratamientos.

Al evaluar la severidad de la enfermedad en el ensayo de uniformidad el análisis de varianza no mostró diferencia estadística significativa entre tratamientos (p= 0.2332), comprobándose de está manera la homogeneidad en cuanto al desarrollo de la enfermedad en cada una de las unidades experimentales.

Así mismo al analizar las variables hojas limpias (p= 0.1473) y hojas enfermas (p= 0.2905) no se detecto diferencia estadística significativa entre tratamientos; sin embargo, al analizar hoja mas joven manchada (HMJM) se determinó diferencia significativa entre ellos, correspondiendo al inicio del ensayo los tratamientos T1(testigo) al grupo de plantas más sanas y T7 (sustrato B + químico) al grupo de plantas más enfermas.

Las evaluaciones para conocer el desarrollo de la enfermedad se realizaron de manera sistemática cada ocho días, realizando en total 18 evaluaciones, la HMJM fue un indicador importante para tomar la decisión de aplicar o no los respectivos

tratamientos. A partir de la cuarta evaluación se observó superioridad estadística del tratamiento T2 (químico) con relación a los demás.

A partir de la séptima evaluación se obtienen datos suficientes para analizar de manera independiente los dos grupos de plantas identificados. Se presentaron diferencias significativas entre tratamientos para el grupo de plantas adultas con respecto a todas las variables de respuesta evaluadas. Continuó el tratamiento T2 con el mejor comportamiento en cuanto al control de la enfermedad , seguido de T7 y T4 (sustrato A + químico). Presentaron el peor comportamiento para las variables de respuesta evaluadas T5 (Sustrato A + orgánico) y T8 (sustrato B + orgánico). En esta evaluación solo cinco tratamientos presentaron plantas hijas; el efecto de T2 y T5 en cuanto al desarrollo de la enfermedad fue similar al registrado para las plantas adultas.

La octava evaluación registró diferencias significativas para todas las variables en los dos grupos; para las plantas adultas T5 presenta la mayor severidad de la enfermedad seguida de T6 (sustrato B) y T1, las plantas más sanas corresponden a T2, T7 y T4. Para las hijas continúan T2, T7 y T4 los mejores, sin embargo, es importante resaltar en este grupo de plantas un mejor comportamiento con relación a las todas las variables de respuesta evaluadas en comparación con las plantas adultas.

El tratamiento T2 después de la décima evaluación varía su comportamiento en relación a la variable HMJM, presentándose un mejor comportamiento para los tratamientos T4 y T7 respectivamente. El comportamiento para las hijas sigue siendo similar al referido anteriormente, con T7, T4 y T2 como los mejores y T8, T5 y T3 (sustrato A) registrando los mayores índices de la enfermedad. El efecto de los tratamientos sobre la enfermedad continuó siendo estable, las adultas registraron sistemáticamente a T2, T4 y T7 como los mejores y T1, T5 y T8 presentaron los peores indicadores con respecto al desarrollo de la enfermedad. Así mismo, para las plantas hijas aunque no existieron diferencias significativas T4, T2 y T7 fueron los

que mejor se comportaron; T4 presentó superioridad en relación a T2 para todas las variables evaluadas. La última evaluación para las plantas adultas mostró diferencia significativa entre tratamientos con relación al grado de desarrollo de la enfermedad siendo T2, T4 y T7 los cuales presentaron los mejores índices comparados con el testigo T1 el cual registró el mayor grado de severidad de la enfermedad seguido de los tratamientos T3 y T6. Los resultados obtenidos para las variables de respuesta hojas limpias, enfermas y HMJM no presentaron diferencia significativa entre tratamientos (Figura 4)

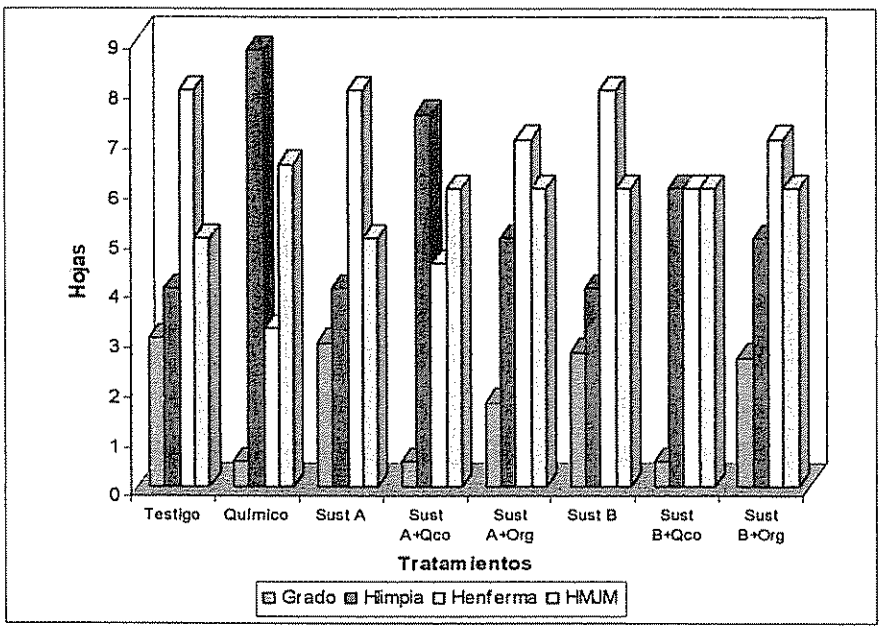


Figura 4. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad en la última evaluación para plantas adultas

Los datos obtenidos para las plantas hijas mostraron diferencias estadística significativa entre tratamientos para las variables grado de desarrollo de la enfermedad, hojas limpias, hojas enfermas y HMJM a una probabilidad de error de 1% ($p<0.01$). Al someter los datos a comparación de medias mediante la prueba de Duncan se constató la superioridad de los tratamientos T2, T4 y T7 para el control de la enfermedad (Figura 5).

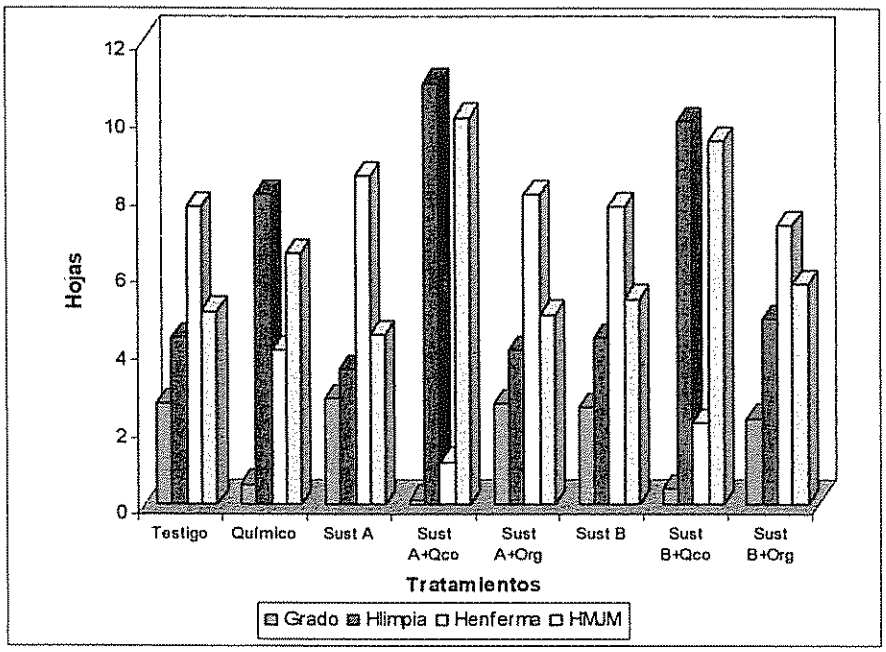


Figura 5: Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad en la última evaluación para plantas hijas.

El análisis realizado para evaluar el comportamiento general del efecto de los diferentes tratamientos sobre el desarrollo de la enfermedad para los dos grupos de plantas definidos en la investigación demostró diferencias significativa entre tratamientos para el grupo de la plantas hijas con relación a las variables hojas limpias y HMJM a una probabilidad de error de 1% ($p<0.01$); así mismo al realizar la prueba de Duncan se detecto la superioridad estadística de los tratamientos T2, T4 y T7 comparados con los tratamientos T1 (Testigo) y T5 (Sustrato A + abono orgánico) (Figura 6).

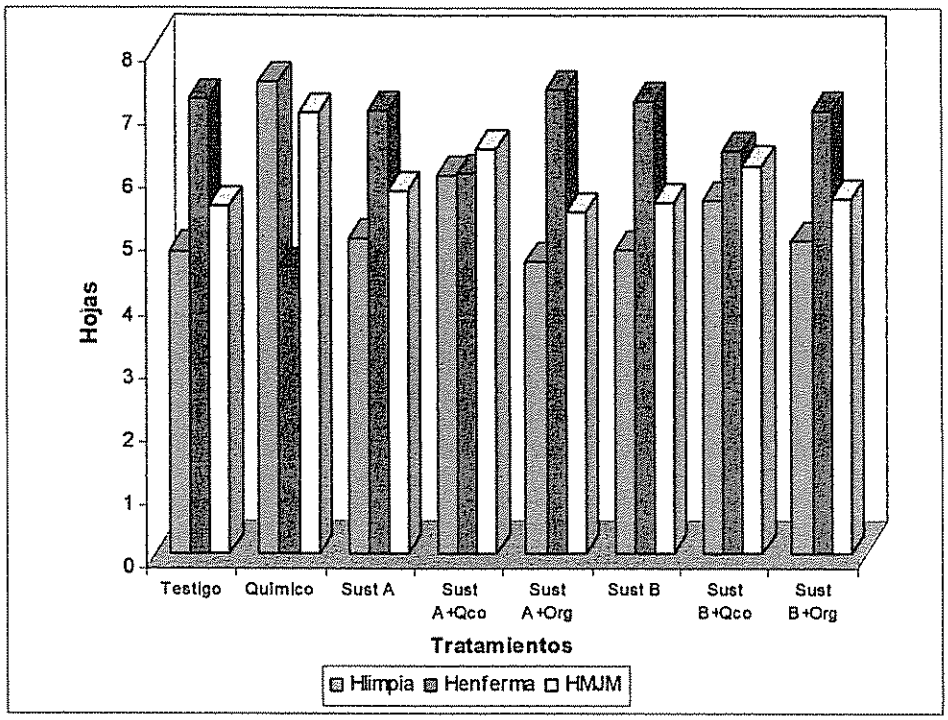


Figura 6. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad para plantas hijas durante el desarrollo de la investigación

Los resultados obtenidos en el grupo de plantas adultas como se refirió en el parágrafo anterior presentan una tendencia similar la grupo de las plantas hijas, aunque se observó una mayor severidad de la enfermedad para éste grupo de plantas. El ANDEVA mostró a T2, T4 y T7 con superioridad estadística tanto para la variable hoja limpia, como la variable HMJM. Los tratamientos T1, T5 y T3 se ubican dentro de los peores evaluados con relación al control de la enfermedad .

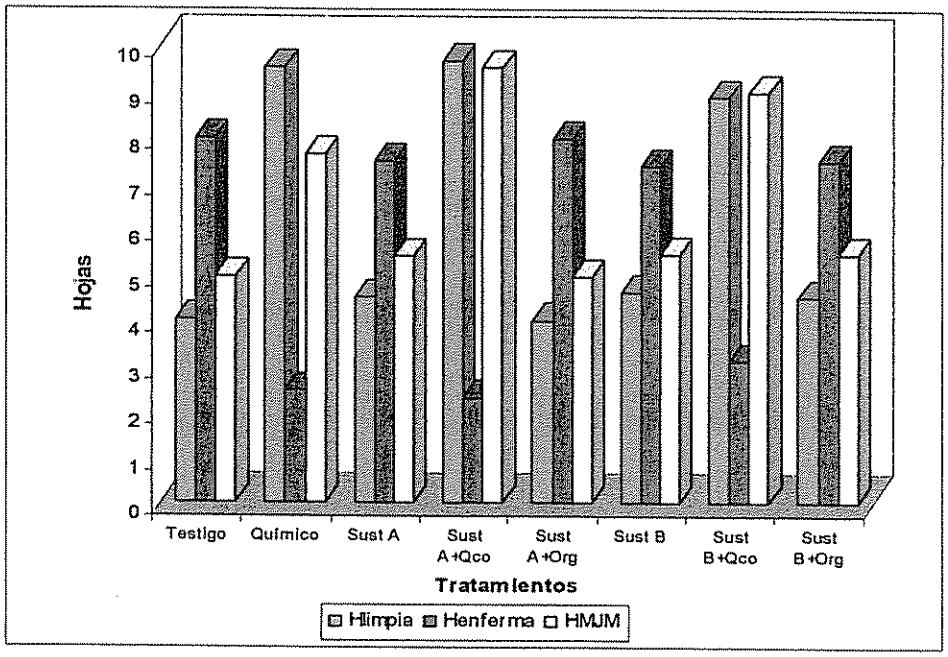


Figura 7. Efecto de los tratamientos sobre el comportamiento de la enfermedad para plantas adultas durante el desarrollo de la investigación

A pesar de que el comportamiento con respecto al desarrollo de la enfermedad tuvo la misma tendencia para los dos grupos de plantas, es importante resaltar una menor severidad de la Sigatoka negra en términos generales para el grupo de plantas hijas bajo el efecto de los tratamientos T4 y T7, atribuible posiblemente a su exposición a estos durante todo su ciclo de vida, mientras que las plantas adultas iniciaron su exposición dos meses antes del belloteo para la mayoría de las plantas. Las plantas hijas presentaron 9.7 hojas limpias y su HMJM correspondió a la 9.54 para el tratamiento T4, mientras las plantas adultas registraron 7.47 hojas limpias y su HMJM fue la 6.2 para el tratamiento químico.

También es importante resaltar la baja efectividad de los tratamientos T5 y T8, correspondientes a los sustratos A y B más la aplicación de materia orgánica al evaluar la diferentes variables; los resultados obtenidos en la investigación no coinciden con lo reportado en la literatura en relación al efecto de las enmiendas orgánicas sobre el fomento de la multiplicación y la diversidad de microorganismos antagonistas.

4.2.2. Efecto de las condiciones climáticas en el desarrollo de la enfermedad

Las variables climatológicas presentadas durante el tiempo de la investigación mostraron un comportamiento estable y favorable para el desarrollo de la enfermedad con temperaturas máxima, mínima y media promedio de 28.84, 18.24 y 22.14 °C, precipitación promedio de 236.23 mm mensuales y una humedad relativa media y mínima de 87.28 y 60.94% (Cuadro 1).

4.2.3. Efecto de los tratamientos sobre el número de hojas funcionales a cosecha y a floración.

Se detecto diferencia significativa en el análisis de varianza para las variables de respuesta hojas funcionales al momento de floración y de cosecha (Anexos 32 y 33); mediante una prueba de Duncan se determinaron los mejores tratamientos. La Figura 8 muestra una gran superioridad de los tratamientos T7, T2 y T4 para las dos variables analizadas con respecto a los demás tratamientos.

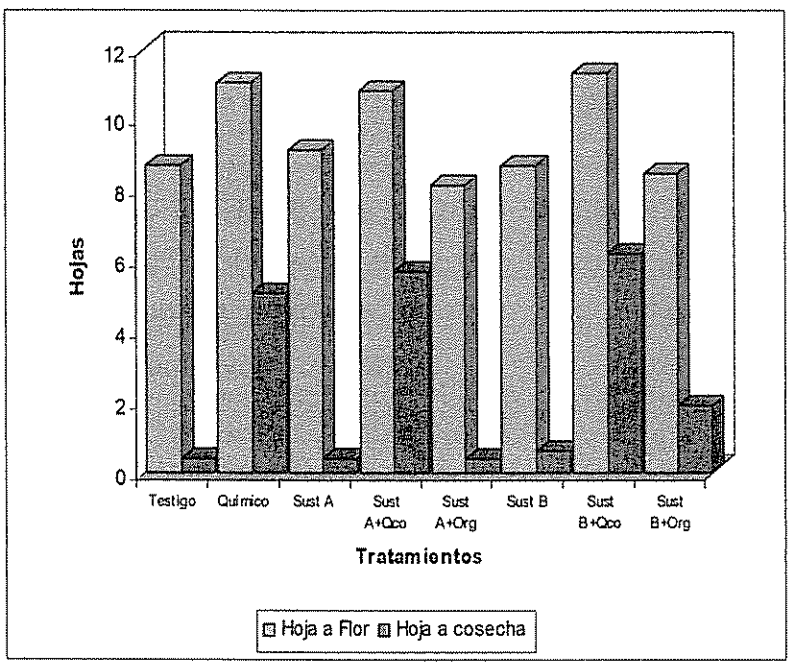


Figura 8 : Efecto de los tratamientos sobre el número de hojas funcionales a floración y cosecha.

los tratamientos T7, T2 y T4 muestran 11.3 , 11.04 y 10.8 hojas funcionales al momento de floración frente a los tratamientos T5, T8 y T1 con 8.1, 8.4 y 8.6 hojas funcionales respectivamente. Para el número de hojas funcionales al momento de cosecha también se registraron diferencias significativas entre tratamientos, correspondiendo nuevamente los mejor evaluados al T7, T4 y T2 con 6.17, 5.72 y 5.07 hojas funcionales respectivamente.

Para el resto de los tratamientos no se observó diferencia significativa llegando al momento de la cosecha prácticamente sin hojas, produciendo un racimo que en condiciones de una plantación destinada para la exportación perdería todo su valor comercial, ya que plantas con menos de cuatro hojas al momento de la cosecha presentan maduración prematura en tránsito (Serrano y Marín 1998).

4.2.4. Población de microorganismos antagonistas a nivel de campo.

La información registrada en el Anexo 34 y en la Figura 9 muestran el comportamiento de las variables densidad y diversidad de colonias obtenidas del lavado de la hoja cuatro de las plantas de banano expuestas durante todo el ensayo a las condiciones de campo y al efecto de los diferentes tratamientos.

El análisis de varianza para las colonias blanco mate presentó diferencias significativas (Anexo 35), T4 registro el mayor número de ufc /ml con 1.6×10^5 y T3, T5, T7, T1 y T6 con un promedio de 2.1×10^4 . Este tipo de colonia no fue favorecida por los tratamientos T2 y T8.

Las colonias blanco mate registraron diferencia entre tratamientos, T4 presentó el mayor número, y los tratamientos T5, T6 y T7 no presentaron diferencia estadística entre ellos (Anexo 35). Al realizar análisis de varianza para las colonias amarillas se encontró diferencias entre tratamientos (Anexo 36) siendo el T5 el tratamiento que presento el mayor número de colonias.

Las colonias amarillo vivo no registraron diferencia significativa entre tratamientos, con rangos desde 7. x 10^4 para T4 hasta 1.6 x 10^4 para T1 y T2; Igual situación se presentó para las colonias rosadas, sin embargo, T7 presentó el mayor número de ufc / ml con 5 x 10^5, mientras la menor población se registró para el T8 con 2.5 x 10^4 y T5 con 2.7 x 10^4.

Las colonias naranja, no significativas en la fase II de la investigación, aparecieron en el campo aunque sin diferencia significativa entre tratamientos, T4 presento la mayor población con 2 x 10^5 , seguido de los tratamientos T5 y T6 con 6.6 x 10^4 cada uno. Las colonias amarillas con estrías no mostraron diferencias estadísticas significativas aunque estuvieron presentes en todos los tratamientos.

Con base en los resultados anteriores T4 aparece como el tratamiento con la mayor capacidad de favorecer tanto la multiplicación, como la diversidad de colonias a nivel del filoplano, siendo importante resaltar además la compatibilidad de las colonias favorecidas con los diferentes productos químicos utilizados para el control de la Sigatoka negra en el cultivo del banano. Está característica mide la capacidad del microorganismo para resistir aplicaciones de fungicidas en el campo, sin disminuir su población, especialmente cuando las condiciones favorecen la enfermedad e impiden la acción antagónica (González *et al.* 1996). La baja o casi nula población de antagonistas registrada en las plantas correspondientes al tratamiento T2 demuestra el efecto detrimental que tiene la aplicación de químicos sobre la ecología microbial a nivel del filoplano.

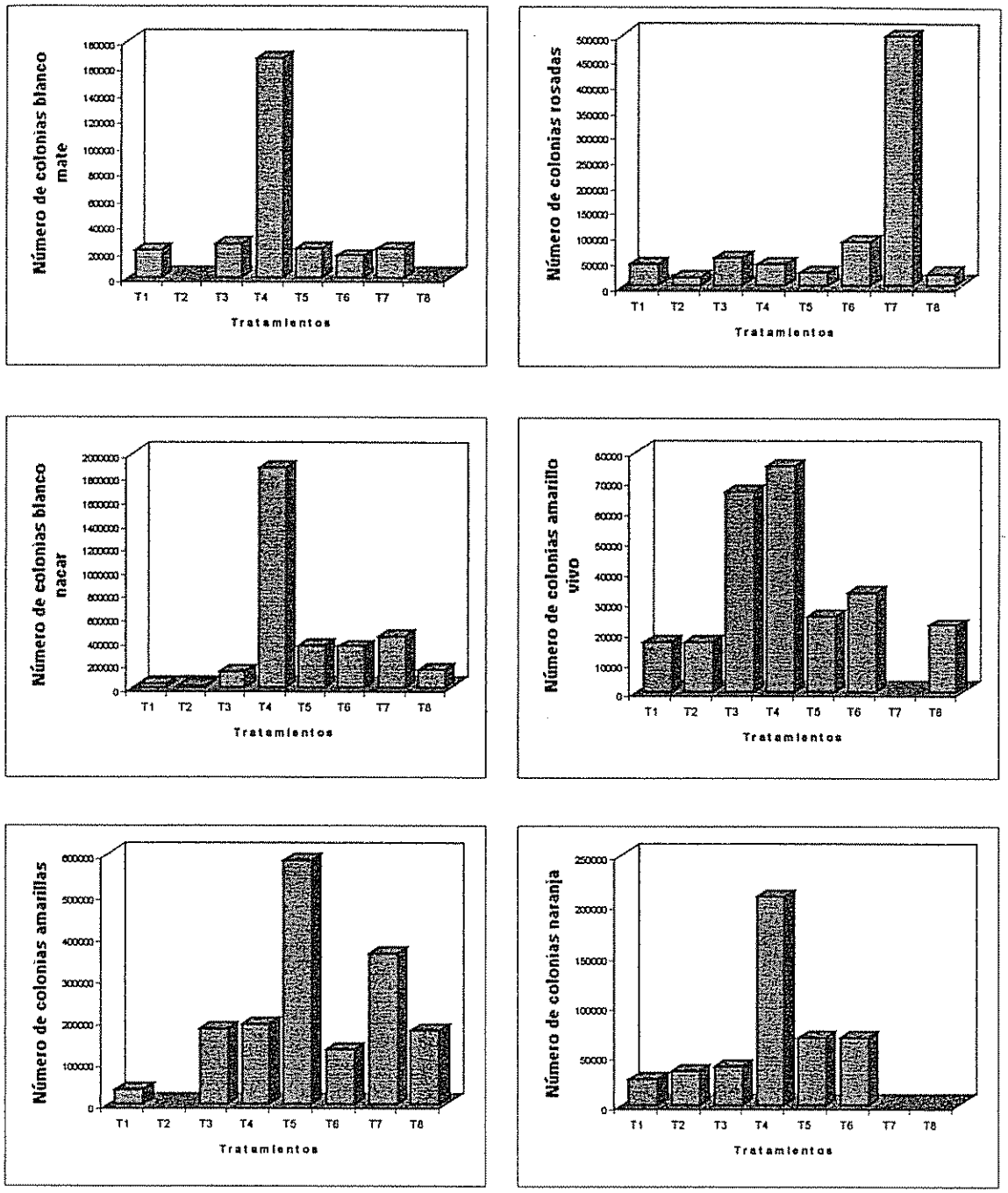


Figura 9. Efecto de los tratamientos sobre las variables densidad y diversidad de colonias a nivel de campo.

4.3. FASE III : ANÁLISIS ECONÓMICO DE LAS ALTERNATIVAS DE COMBATE DE LA SIGATOKA NEGRA

4.3.1. Desarrollo vegetativo de la planta

El análisis de varianza para las plantas adultas mostró diferencias significativas entre tratamientos (Anexo 37) para la variable diámetro del pseudotallo. El tratamiento T1 tuvo el mayor grosor con 55.15 cm, seguido de T2 con 53.76 y T8 con 53.02 cm respectivamente; el menor valor es reportado para T6 con 48.71 y T3 con 48.97; T7, T5, T4 se comportan de manera intermedia con un promedio de 51.18 cm cada uno.

Las plantas hijas no registraron diferencia significativa entre tratamientos; los mayores valores para esta variable fueron registrados para T3 con 44.11, T8 con 44.27 y T4 con 42.27 cm respectivamente; se comportaron de manera intermedia T5, T1 y T6 con 41,53 cm en promedio y los menores valores los presentaron T7, T2 con 39.30 y 40.52 cm. La altura de las plantas para ninguno de los grupos de plantas definidos dentro de la investigación; los rangos fueron de 2.26 para T7 hasta 2.14 m para T3 en el grupo de plantas adultas y entre 44.50 para T3 a 39.3 m para T7 en el grupo de las plantas hijas.

4.3.2. Desarrollo reproductivo de la planta

Al evaluar productividad se encontró diferencia significativa entre tratamientos para la variable peso del racimo (Anexo 38). Los tratamientos T2, T4 y T7 presentan los racimos de mayor peso con 21.68, 19.75 y 18.66 kg respectivamente. T6, T1 y T3 reportaron los menores pesos 14.46, 15.23 y 15.3 kg respectivamente; presentaron un comportamiento intermedio T8 con 17.43, T5 con 17.12 y T3 con 15.3 kg.

No se registró diferencia significativa entre tratamientos para el número de manos, ni para el número de dedos, presentándose un promedio de ocho manos por planta y un rango de número de dedos entre 143.3 para T5 y 124 para T1. El fruto central de la antepenúltima mano presentó diferencia significativa para las variables peso, longitud, y circunferencia del fruto (Anexos 39, 40 y 41). Los tratamientos T2, T7 y

T4 mostraron los mayores valores en cuanto al peso con 129.54, 120.32 y 118 g cada uno; los menores pesos los registran T5, T6 y T3 respectivamente con 86.2, 89.25 y 90.18 g. El testigo T1 presentó un peso de 92.1 g.

Para la variables longitud del fruto T2, T7 con 21.25 cm y T4 con 20.68 presentan los valores mas altos; se comportaron de manera similar el resto de los tratamientos presentando en promedio una circunferencia de 19.7 cm. En cuanto a la circunferencia del fruto T2 con 11.89, T7 con 11.58 y T4 con 11,46 presentan los máximos valores, correspondiendo a T5 y T1 los menores con 10.59 y 10.75 cm cada uno.

La evaluación del fruto central de la segunda mano mostró diferencias significativas para las variables de respuesta peso y circunferencia del fruto (Anexos 42 y 43); T2, T7 y T4 presentaron nuevamente los mayores valores para peso del fruto con 144.75, 132 y 121.37 g respectivamente; los menores pesos del fruto los presentaron T6, T5 y T3 con 97.15, 101.54 y 105.93 g. respectivamente. Para la variable circunferencia del fruto aparecen nuevamente T7, T4 y T2 registrando los mayores valores con 13.19, 13.06 y 12.5 cm; T5, T6 y T1 aparecen como los peor evaluados con 11, 11,17 y 11.37 cm respectivamente.

La superioridad de los tratamientos T2, T4 y T7 con relación a los indicadores de producción, se refleja en la obtención de los mejores rendimientos (Cuadro 7) y en los mejores indicadores de cosecha; el cálculo de los rendimientos se hizo teniendo en cuenta las características del fruto evaluadas, bajo el supuesto que frutos provenientes del T1 por presentar una menor calidad presentarán un 30 % de fruto de desecho, así mismo para los tratamientos T3, T5, T6 y T8 tuvieran un 25% y que para los tratamientos T2,T4 y T7 por presentar las mejores características del fruto

solo se rechazara un 17% del fruto que es en promedio el porcentaje de fruta descartado por las compañías bananeras.*

Consecuente con lo anterior se detecto a T2 con 1620 cajas por ha como el tratamiento de mayor productividad , seguido por T4 y T7 con 1463 y 1394, frente al testigo con 959. Así mismo los tratamientos T5 y T8 a pesar de haber presentado una mayor severidad de la enfermedad presentaron un buen comportamiento para la variable de respuesta rendimiento con 11156 y 1177 cajas respectivamente presumiblemente por efecto de la materia orgánica dentro del tratamiento, aunque las dosis aplicadas fueron relativamente bajas; así mismo, la melaza tuvo un efecto favorable sobre la nutrición de las plantas expuestas a ésta por sus altos niveles de potasio y zinc, lo cual se refleja además en la diferencia existente entre el rendimiento de T3 (sustrato A) con 1033 cajas, frente a 976 caja por ha obtenidas para el T6 (sustrato B).

El comportamiento de T1 se debe sin duda al subsidio recibido de los otros tratamientos por efecto de deriva; igual situación se presenta para el resto de los tratamientos siendo mas evidente para el tratamiento químico en el cual se logró una reducción importante en el número de aplicaciones.

Cuadro 7. Análisis económico para las diferentes alternativas del control de la Sigatoka negra utilizando la técnica de los presupuestos parciales.

Concepto	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Rend kg ha^{-1}	959	1620	1033	1463	1156	976	1394	1177
Precio kg^{-1}	6,60	5,50	6,60	6,05	6,60	6,60	6,05	6,60
Beneficios brutos	6329	8910	6818	8851	7630	6442	8434	7768
Costos variables		279	1747	691	2365	1403	582	2003
Beneficios netos	6329	8631	5071	8160	5265	5038	7852	5765

* Marin, D. 2000. Productividad del cultivo de banano. DEL MONTE. Comunicación Personal

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La manipulación del ambiente a nivel del filoplano mediante la aplicación de sustratos estimula la multiplicación, el establecimiento y la diversidad de poblaciones de antagonistas las cuales se ven altamente favorecidas al ser expuestas las plántulas a condiciones de campo, aun sin la aplicación de estos sustratos como ocurrió para T1 y T20.

A medida que se realizan las diferentes aplicaciones de los sustratos en el tiempo se presenta un mejor comportamiento de los antagonistas frente a las diferentes variables evaluadas, lo cual supone en alguna forma un efecto acumulativo de los mismos, siendo las colonias amarillas y blanco nacar las que presentaron la mejor respuesta.

El mejor comportamiento de los antagonistas para las variables de respuesta capacidad de multiplicación, diversidad de colonias, habilidad para producir enzimas quitinolíticas y glucanolíticas y efecto sobre el desarrollo de la enfermedad fue para los suatratos correspondientes a los tratamientos T6 (melaza + quitina + leche) y T11 (quitina +gucano + nitrato de calcio).

La manipulación del ambiente a nivel del filoplano como estrategia de control biológico requiere de la disponibilidad de un sustrato que permita la mayor estabilidad de las poblaciones de antagonistas en el tiempo, aun bajo condiciones adversas y que promueva la presencia de una mayor diversidad de colonias para que ejerzan una función de complementariedad.

La utilización de los sustratos (melaza + quitina + leche) y (quitina +gucano + nitrato de calcio) alternados con la aplicación de los funguicidas usados de manera tradicional para el control de la enfermedad a nivel de la investigación permitieron

una reducción del 40% en la aplicación de estos, convirtiéndose en una alternativa de gran potencial para el combate de la enfermedad.

La exposición del grupo de las plantas hijas al efecto de los sustratos desde sus etapas iniciales permitió un mejor comportamiento con relación a las variables de respuesta HMJM, grado de desarrollo de la enfermedad y total de hojas limpias, en comparación con el grupo de las plantas adultas.

Los resultados obtenidos para los tratamientos T5(sustrato A + orgánico) y T8 (sustrato B + orgánico) suponen un manejo inadecuado en cuanto a dosis y época de aplicación dado el efecto positivo que tienen las enmiendas orgánicas en la disminución y regulación de las poblaciones de patógenos.

Existe compatibilidad entre los diferentes tipos de antagonistas favorecidos con la aplicación de los sustratos y los fungicidas empleados en el control de la sigatoka negra empleados a dosis comerciales.

5.2. RECOMENDACIONES

Realizar ensayos de validación a nivel comercial donde sea posible eliminar los subsidios de un tratamiento a otro por efecto de la deriva dada la proximidad entre parcelas y así poder generar información de mayor confiabilidad con relación al efecto individual de cada uno de ellos.

Realizar investigación mas detallada para determinar la cantidad y tipo de nutrientes presentes en la filosfera y su efecto real sobre la multiplicación de los antagonistas.

Evaluar a nivel de campo la multiplicación y dinámica de población de los microorganismos antagonistas utilizando diferentes intervalos de tiempo entre las aplicaciones de estos y el lavado de la hoja.

Realizar caracterización más profunda de los antagonistas aislados y pruebas a nivel de laboratorio para determinar su efecto sobre el desarrollo de la enfermedad.

Incluir el control biológico de la enfermedad mediante la aplicación de los sustratos dentro de un paquete tecnológico a nivel comercial que incluya todas las prácticas agrícolas recomendadas para el óptimo desarrollo del cultivo.

Realizar ensayos utilizando diferentes fuentes, dosis y épocas de aplicación de enmiendas orgánicas, aplicadas conjuntamente con los sustratos referidos para evaluar sus efectos sobre el desarrollo de la enfermedad.

Investigar sobre fuentes mas baratas de quitina y equipos de aspersión adecuados para su aplicación buscando que la alternativa además de ser viable ecológicamente, lo sea también desde el punto de vista económico.

Gran aversión al riesgo por parte de los productores y una gran seguridad conferida por los funguicidas frente al manejo de la enfermedad requieren el desarrollo de proyectos con la participación de ellos para la transferencia de la tecnología limpia .

Realizar trabajos sobre formulación de los sustratos para darles mayor estabilidad en condiciones de campo.

6. BIBLIOGRAFIA

Alexopulus, C.; Mins, C. 1979. Introductory micology. John wiley & sons, New York. P 250-257.

Blakeman, J.P. 1985. Ecological succession of leaf surface microorganisms in relation to biological control. *In* CE Windels an S.E. Lindow, eds. Biological control of the philloplane. St Paul, Minnesota, APS. p. 6-31.

Blakeman, J. 1993. Pathogens in the foliar environment . Plant pathology. 42: 479-493.

Bravo, N.; Victoria, J. 1981. Posibilidades del control biológico de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Evans) del cacao. Acta agronómica. Colombia. 31(1-4). 133-134.

Bureau, E. ;Marin, D.; Guzmán, J.A. 1992. el sistema de preaviso para el combate de la Sigatoca negra en banano y plátano. Unión de países exportadores de banano (UPEB), Panamá. 41p.

Buritica, A.; Montes, V.1997. Aproximaciones económicas en el control de la Sigatoka negra en el cultivo del banano de Urabá. In: Bananos y plátanos con el mejor entorno ambiental. Bogota.COMINPU S.A. 145 p.

Bustamante, E.; González, R.; Sánchez, V.; Rodríguez, L.; Danielsen, S.; Miranda, J.; Ruiz, C.; González, H.; Shannon, P.; Gamboa, A.; Cervantes, M.; Bermúdez, W. 1995. Avances en el control biológico de patógenos en banano, maíz, plátano y tomate. In: resúmenes II semana científica. 4, 5 y 7 de diciembre. Turrialba . Costa Rica Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. p. 44-45.

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) 1998. Manula de laboratorio de nutrición animal.

Cook, J.; Baker, K. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American phytopathological society. 1Ed. St. Paul, Minnesota. 539 p.

_____1996. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American phytopathological society. 3Ed. St. Paul, Minnesota. 539 p.

Corporación Bananera Nacional – CORBANA-. 1996. Sigatoka negra: un grave problema en los bananales de Costa Rica. Carta informativa. CORBANA. Costa Rica.

Cotes, A. 1997. Producción masiva de microorganismos biocontroladores de fitopatógenos. In: Seminario internacional control biológico de fitopatógenos. Corpoica. Tibaitata. Colombia. p 18-23.

Dadzie, B.; Orchard, J. 1997. Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananas y plátanos : criterios y métodos. INIBAP. 63 p.

Deverall, B.; Dann, E. 1995. Induced resistance in legumes. In: R. Hammerschmidt y J. Kuc, eds. Induced resistance to disease in plants. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers. p 152-168.

Fouré, E. 1992. Leaf spot diseases of banana and plantain caused by *Mycosphaerella musicola* y *Mycosphaerella fijiensis*. p 37-46.

Fouré, E. 1985. Black leaf streak disease of bananas and plantains (*Micosphaerella fijiencis* Morelet), study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. IRFA Páris.

French, E.; Hebert, T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 289 p.

Friedhelm, G. 1992. Epidemiología y ecología de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* , Morelet) en plátano (*Musa spp.)* En Costa Rica. Unión de Países Exportadores de Banano-UPEB-. Panamá. 114 p.

Frossar, D. 1981. Effect of guttation fluids on growth of micro-organisms on leaves. In: microbial ecology of the phylloplane. London. 502 p.

González, R.; Bustamante, E.; Shannon, P.; Okumoto, S.; Leandro, G. 1996. Selección de microorganismos quitinoliticos en el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano. Manejo integrado de plagas. Costa Rica. N° 40. 6-11.

Lim, C.K, 1986. HPLC of small molecules, a practica, approach. Irl Press, Chapter 4.

INIBAP, 1998. Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka y marchitamiento por fusarium. 63 p.

Jijakli, M.; Lepoivre, P.; Grevesse, C.1997. Microbiological control of apple postharvest diseases: a case study. In: Seminario internacional control biológico de fitopatógenos. CORPOICA. Tibaitata. Colombia. p 9-12.

Jijakli, M.; Lepoivre, P. 1997. Development of control agents: opportunities and challenges for their practical application. In: seminario internacional control biológico de fitopatógenos. CORPOICA. Tibaitata . Colombia. p 5-8.

Jongebloed, P.; Kessel,G.; Van Der Plans ,C.; Molhoek, W.; Fokkeman, N.;1993. Biological control of *Phytophthora inffestans* with selectd bacteril antagonists. In: proceedings ICPP 6 Montreal(abstract).

Kokalis-Burelle, N. Backman, D. A.; Rodriguez-Kabana, R. Ploper, L.D. 1992. Chitin as foliar amendment to modify microbial ecology and control disease. *In* 1991 APS Annual Meeting. August 17-21, 1991. St Louis Missouri. APS.

Lo, C.T.N.; Harman, G. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harziatum* 1295-22 for foliar phases of turf disease by use of spray applications. Plant disease. 81:1132-1138.

Lyon, G.D.; Reglinski, T. Mewton, A.C. 1995. Novel disease control compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. Plant Pathology (U.K) 44:p 407-427.

Maciel, C, Z. 1998. Black sigatoka confirmed in brazil. In: Infomusa. The international magazine on banana and plantain. Vol 7 (1): 31.

Manners, J. 1981. Biology of rusts on leaf surfaces. In: Microbial ecology of the phylloplane. London. 502 p.

Marín, D.; Romero, R. 1993. El combate de la Sigatoka negra. Boletín n°4. San José. Costa Rica. CORBANA. 22 p.

Marín, D.; Romero, R. 1998. El combate de la Sigatoka negra. In: Divulgación científica al servicio del productor bananero nacional. CORBANA. San José. Costa Rica. P 104-129.

Martinez, G.; Pargas, R.; Manzanilla Eduard.; Mu , Du. 1998. Report on Sigatoka status in Venezuela in 1997. In : Infomusa. The international magazine on banana and plantain. Vol 7 (1): 31- 32.

Merchan, V. 1991. Epidemiología y manejo de Sigatoka negra en musáceas (AAA-AAB-ABB) In: Seminario de actualización sobre el cultivo del plátano. Memorias, Manizales. P 125-137.

Merchan, V. 1998. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera. In : memorias: seminario internacional sobre producción de plátano. Corporación colombiana de investigación agropecuaria – corpoica-. Universidad del Quindío. Servicio nacional de aprendizaje –SENA- Quindío. Comité departamental de cafeteros del Quindío. Armenia. Colombia. p 63-70.

Mitchell, R. M.; Alexander, M. 1962. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. Proc Soil. Sci. Soc. Amer. 26: p 556-558

Morris,C,; Rouse,D. 1985. Role of nutrients in regiulating ephiphytic bacterial populations. In: biological control of the phylloplane.c.e. windels and c.e. lindow, eds. Minessota,aps. P 63-82.

Okumoto, S. 1992. Efecto de enmiendas sobre bacterias antagónicas a *alternaria solani* en tomate (*lycopersicom escul*entum mill). Tesis m.sc. Turrialba. Costa rica. 114 p.

Oluma, H.O.A. ; Onyezili. 1999. Efecto del sistema de cultivo sobre la severidad de la Sigatoka negra en nigeria. In :Infomusa. La revista internacional sobre banano y plátano. 8(1) :37-38.

Orjeda, G. ; Escalante, J-V. ; Moore, N.1999. Programa internacional de evaluación de Musa (imtp) fase II Sinopsis del informe final y resumen de los resultados. In :Infomusa. La revista internacional sobre banano y plátano. 8(1) :3-10.

Parbery, I.; Browm,J.; Bofinger,V. 1981. Statistical methods in the analysis of phylloplane populations. In: microbial ecology of the phylloplane. Blakeman, j. London. 502 p.

Perea, M. 1998. Consideraciones biotecnológicas para el mejoramiento de las musáceas. In : memorias: seminario internacional sobre producción de plátano. . Corporación colombiana de investigación agropecuaria – CORPOICA-. Universidad del Quindío. Servicio Nacional de Aprendizaje –SENA- Quindío. Comité departamental de cafeteros del Quindío. Armenia. Colombia p 63-70.

Pérez, V, L. 1998. Black Sigatoka disease control in banana and plantain in plantations in cuba. In : infomusa. The international magazine on banana and plantain. Vol 7 (1): 27-30.

Ploper, I.; Backman, P.; Cunningham, S.; Martin, M.1991. Effect of chitin amendments and added chitinolytic microorganisms an foliar disease of tomato. In: APS Annual Meeting. St. Luis. Missouri.

Plotz, R. 1999. La más importante enfermedad en la fruta más importante. Florida, u.s.a. tropical research and education center, University of Florida, IFAS. [en línea]. [consultado el 17 de noviembre de 1998].

Porras, A. ; Pérez, L. 1997. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de los tubos germinativos de las ascosporas de *Mycosphaerella spp.* Causantes de Sigatoka en banano. In :infomusa. 6(2) :27-32.

Ramirez, O.1994. El uso de presupuestos parciales en el manejo integrado de plagas. Hoja técnica mip. Nº 11. p i-iv.

Riveros, A.; Lepoivre, P. 1998. Mecanismos de defensa asociados con la resistencia total en la interacción *M. Fijiensis* —Musa. In: memorias: seminario internacional sobre producción de plátano.. Corporación colombiana de investigación agropecuaria – CORPOICA-. Universidad del Quindío. Servicio Nacional de Aprendizaje –SENA- Quindío. Comité departamental de cafeteros del Quindío. Armenia. Colombia. p 59-62.

Romero, R.; Marín, D. 1998. Estrategias para el combate de la Sigatoka negra *(Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y el impacto sobre la resistencia a los benzimidazoles. In : divulgación científica al servicio del productor bananero nacional. Corbana. San José. Costa Rica. CORBANA. p 61-67.

Ruiz, C.1995. Efecto de sustratos sobre bacterias antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis* en banano. Tesis M.Sc. . Turrialba. Costa Rica. 115 p.

Ruiz, C.; Bustamante, E.; Jiménez, F.; Saunders, J.; Okumoto, S.; González, R. 1997. Efecto de sustratos sobre el crecimiento y supervivencia de bacterias antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*. Manejo integrado de plagas. Costa Rica. N° 45. 1-8.

Rodger,G.; Blakeman,J. P.1984. Microbila colonization and uptake of 14c label on leaf of sycanore. Transactions of the British Mycological Society. 82:45-51.

Sanchez, V.; Bustamante, E.; Shattock, R. 1998. Selección de antagonistas para el control biológico de *Phytophthora infestans* en tomate. Manejo integrado de plagas. Costa Rica. N° 48. 24-30.

Serrano, E.; Marín, D. 1998. Disminución de la productividad bananera en Costa Rica. CORBANA. 23(49):85-96.

Soto, M. 1990. Bananos: cultivo y comercialización. 2Ed. San José, Costa Rica. 627p.

Stover, R. H. 1980. Diseminación del agente causal, epidemiología y control de la sigatoka negra . In: Sigatoka negra. Memoria de la reunión técnica internacional, San José. Costa Rica. Unión de Países Exportadores de Banano- UPEB- p 14-15.

Stover, R.; Simmonds, N. 1987. Bananas. Longman scientifc & technical. Third edition. England. 467 p.

Stover, R.H. 1987. Producción de plátano en presencia de la sigatoca negra. In: plagas y enfermedades de carácter epidémico en cultivos frutales de la región centro americana. Proyecto de manejo integrado de plagas. Panamá. p 27-36.

Talavera, M. 1996. Determinación de glucano en subproductos agrícolas y evaluación del efecto de microorganismos glucanolíticos sobre *Mycosphaerella fijiensis* en banano. Tesis M.Sc. Turrialba. Costa rica. 80 p.

Talavera, M.; Bustamante, E.; González, R.; Sánchez, V. 1998. Selección y evaluación en laboratorio y campo de microorganismos glucanolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*. Manejo integrado de plagas. Costa Rica. N° 47. 24-30.

7. ANEXOS

Anexo 1. Datos climáticos diarios registrados en la estación experimental "La Montaña", CATIE, Turrialba, Costa Rica, durante la fase I de la investigación.

Año	Mes	Dia	Temp. Máxima (°C)	Temp. Mínima (°C)	Temp. Media (°C)	Precip. (mm)	Radiación Solar (MJ/m2)	Humedad Relativa	
								Media (%)	Mínima (%)
2000	2	22	20.4	16.3	18.1	43.9	5.48	97.5	91
2000	2	23	22.7	16.3	18.1	25.6	4.65	90	64
2000	2	24	27.7	14.9	19.7	0	14.73	83.3	54
2000	2	25	26.2	16.7	19.7	1.2	9.31	85.8	59
2000	2	26	26.1	15.2	19.3	3.9	14.23	88.1	60
2000	2	27	25.3	16.9	19.3	0.3	9.21	86.5	64
2000	2	28	26.6	16	19.7	1.5	11.98	84	51
2000	2	29	26.1	15.3	19.9	3.4	13.85	84.5	59
2000	3	1	27.2	15.2	20.2	0	13.56	83.4	56
2000	3	2	26.7	15.7	19.6	0	13.37	83.3	55
2000	3	3	28	16.7	20.5	0	15.23	82.2	53
2000	3	4	27.2	16.6	20.4	0	15.81	86.8	64
2000	3	5	28.1	17	20.4	0.3	14.6	87.6	61
2000	3	6	27.8	15.4	21	10.6	15.6	88.4	57
2000	3	7	26.9	18.7	21.2	2.2	14.09	88	61
2000	3	8	26.6	17.8	20	7.6	11.67	89.6	69
2000	3	9	25.7	17.6	20	4	8.03	87	64
2000	3	10	28.6	16.3	21.2	0	19.75	80.1	52
2000	3	11	28.2	13.4	20.7	0	23.94	81.6	49
2000	3	12	28.7	15.8	21.7	0	21.86	81.3	58
2000	3	13	30.2	17.4	21.2	0.1	11.8	84.1	50
2000	3	14	25.6	16.9	19.8	4.8	8.51	89.8	65
2000	3	15	29.1	18	22.2	0.2	19.25	82.3	55
2000	3	16	28	18.2	21.5	1.2	16.07	86	65
2000	3	17	28.6	18.4	21.3	0.8	11.51	84.8	56

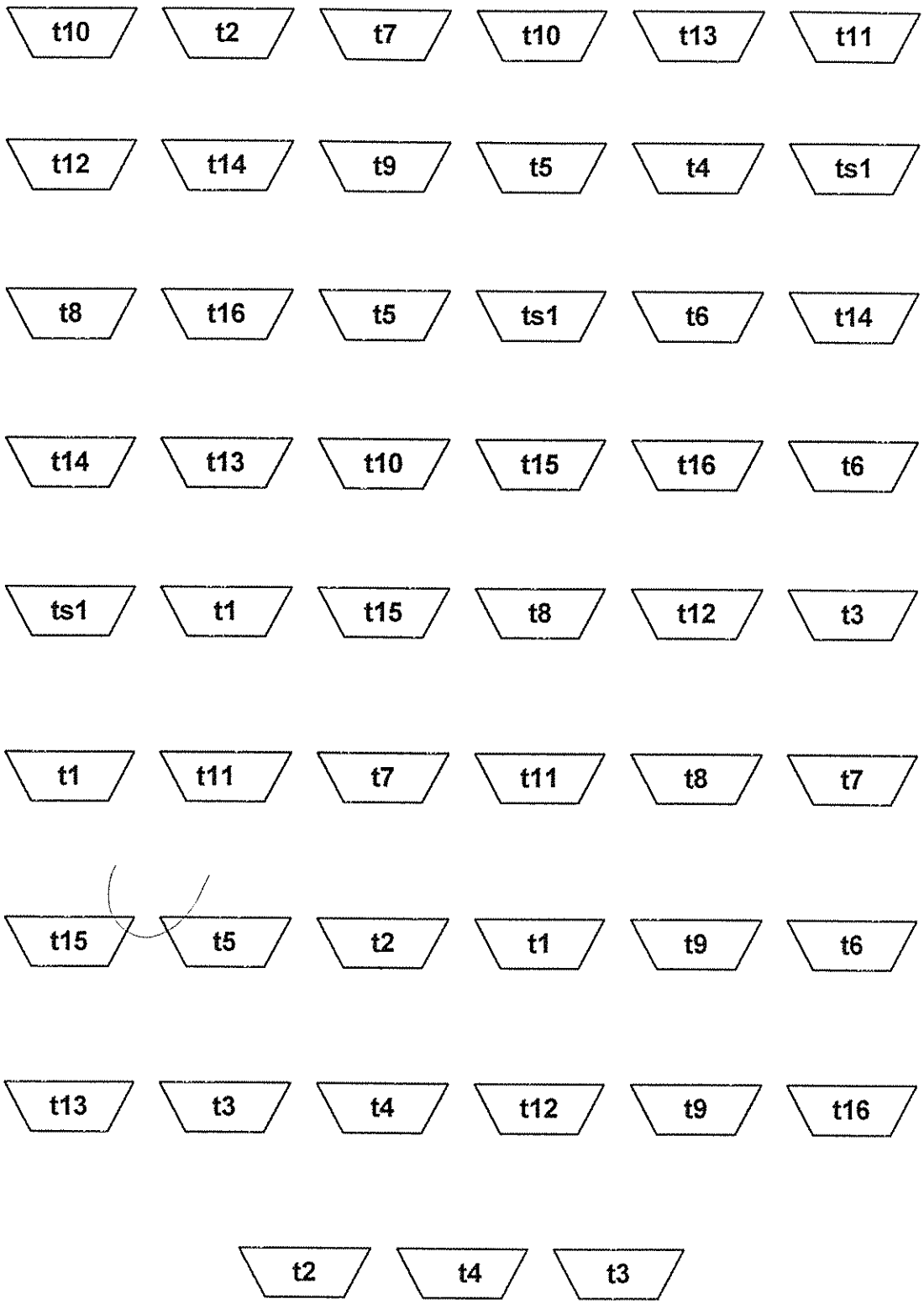
Anexo 2. Tratamientos incluidos dentro de la fracción positiva.

TAMIENTOS	1	A	B	C	D	E	AB	AC	AD	AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE	ABC	ABD	ABE	ACD	ADE	ACE	BCD	BCE	BDE	CDE	ABCD	ABCE	ABDE	ACDE	BCDE	ABCDE
codoeo	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1
codiei	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
cidoeo	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1
cidiei	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1
odoei	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1
odieo	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1
idoei	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1
idieo	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1
odoei	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1
odieo	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	-1
idoei	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1
idieo	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1
odoeo	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	0
idiei	1	1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1
doeo	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1
diei	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Anexo 2-A. Tratamientos incluidos dentro de la fracción negativa

AMIENTOS	1	A	B	C	D	E	AB	AC	AD	AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE	ABC	ABD	ABE	ACD	ADE	ACE	BCD	BCE	BDE	CDE	ABCD	ABCE	ABDE	ACDE	BCDE	ABCDE
odoei	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1
odieo	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1
idoei	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1
idieo	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1
odoeo	1	-1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1
odiei	1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	1
doeo	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1
diei	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1
odoeo	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1
idiei	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1
doeo	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1
diei	1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1
doei	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1
dieo	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1
oei	1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1
ieo	1	1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1

Anexo 3. Distribución espacial de las plántulas en el invernadero



Anexo 4. Formato para evaluar el número de colonias por muestreo.

Fecha: _____

	RI						RII						RIII					
	plato 1		plato 2		plato 3		plato 1		plato2		plato 3		plato 1		plato 2		plato 3	
Trat	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color	# Col.	Color

Col: Número de colonias R: Repetición

Anexo 5. Formato para evaluar la enfermedad negra según la escala de Foure 1985.

	Fecha									Fecha									Fecha								
	Repeticion I			Repeticion II			Repeticion III			Repeticion I			Repeticion II			Repeticion III			Repetición I			Repetición II			Repetición III		
	No	G	V	No	G	V	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl	No	Gr	Vl

No= Número de hoja Gr= Grado Vl= Valor

Anexo 6. Formato para registrar información relacionada con numero de hoja y estado de hoja candela.

Trat	Rep	Plan	M 1 No	Cigarro	M 2 No	Cigarro	M 3 No	Cigarro	M 4 No	Cigarro	total

M: Muestreo No: Número de hoja

Anexo 7. Frecuencia de emisión foliar durante el periodo de inoculación natural

Tratamientos	Datos	Total	Prom	Hoj nuev
1	Lectura 1	21	7.0	**2.3**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	27	9.0	
	Lectura 4	28	9.3	
2	Lectura 1	21	7.0	**2.7**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	27	9.0	
	Lectura 4	29	9.7	
3	Lectura 1	20	6.7	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	26	8.7	
4	Lectura 1	22	7.3	**2.3**
	Lectura 2	25	8.3	
	Lectura 3	27	9.0	
	Lectura 4	29	9.7	
5	Lectura 1	21	7.0	**2.3**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	27	9.0	
	Lectura 4	28	9.3	
6	Lectura 1	22	7.3	**2.0**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	25	8.3	
	Lectura 4	28	9.3	
7	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	26	8.7	
	Lectura 4	27	9.0	
8	Lectura 1	22	7.3	**2.0**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	25	8.3	
	Lectura 4	28	9.3	
9	Lectura 1	20	6.7	**2.0**
	Lectura 2	22	7.3	
	Lectura 3	23	7.7	
	Lectura 4	26	8.7	
10	Lectura 1	21	7.0	**2.3**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	25	8.3	
	Lectura 4	28	9.3	
11	Lectura 1	20	6.7	**2.0**
	Lectura 2	22	7.3	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	26	8.7	
12	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	26	8.7	
	Lectura 4	27	9.0	

Prom: Promedio Hoj nuev: Hojas nuevas

Anexo 7. Continuación

Tratamientos	Datos	Total	Prom.	Hoj nuev
13	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	22	7.3	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	27	9.0	
14	Lectura 1	22	7.3	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	25	8.3	
	Lectura 4	28	9.3	
15	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	22	7.3	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	27	9.0	
16	Lectura 1	21	7.0	**2.3**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	26	8.7	
	Lectura 4	28	9.3	
17	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	24	8.0	
	Lectura 3	26	8.7	
	Lectura 4	27	9.0	
18	Lectura 1	20	6.7	**2.0**
	Lectura 2	21	7.0	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	26	8.7	
19	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	24	8.0	
	Lectura 4	27	9.0	
20	Lectura 1	21	7.0	**2.0**
	Lectura 2	23	7.7	
	Lectura 3	26	8.7	
	Lectura 4	27	9.0	
Total Lectura 1		420	7.0	**2.1**
Total Lectura 2		462	7.7	
Total Lectura 3		505	8.4	
Total Lectura 4		547	9.1	

Anexo 8. Frecuencia de emisión foliar durante el tiempo del ensayo.

Tratamiento	Datos	Total	Prom	Hnuev
1	Lectura 1	17	5.7	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	27	9.0	
	Lectura 6	28	9.3	
2	Lectura 1	18	6.0	**3.7**
	Lectura 2	20	6.7	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	27	9.0	
	Lectura 6	29	9.7	
3	Lectura 1	15	5.0	**3.7**
	Lectura 2	17	5.7	
	Lectura 3	20	6.7	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	26	8.7	
4	Lectura 1	19	6.3	**3.3**
	Lectura 2	21	7.0	
	Lectura 3	22	7.3	
	Lectura 4	25	8.3	
	Lectura 5	27	9.0	
	Lectura 6	29	9.7	
5	Lectura 1	17	5.7	**3.7**
	Lectura 2	19	6.3	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	27	9.0	
	Lectura 6	28	9.3	
6	Lectura 1	18	6.0	**3.3**
	Lectura 2	19	6.3	
	Lectura 3	22	7.3	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	25	8.3	
	Lectura 6	28	9.3	
7	Lectura 1	16	5.3	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	26	8.7	
	Lectura 6	27	9.0	
8	Lectura 1	17	5.7	**3.7**
	Lectura 2	19	6.3	
	Lectura 3	22	7.3	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	25	8.3	
	Lectura 6	28	9.3	

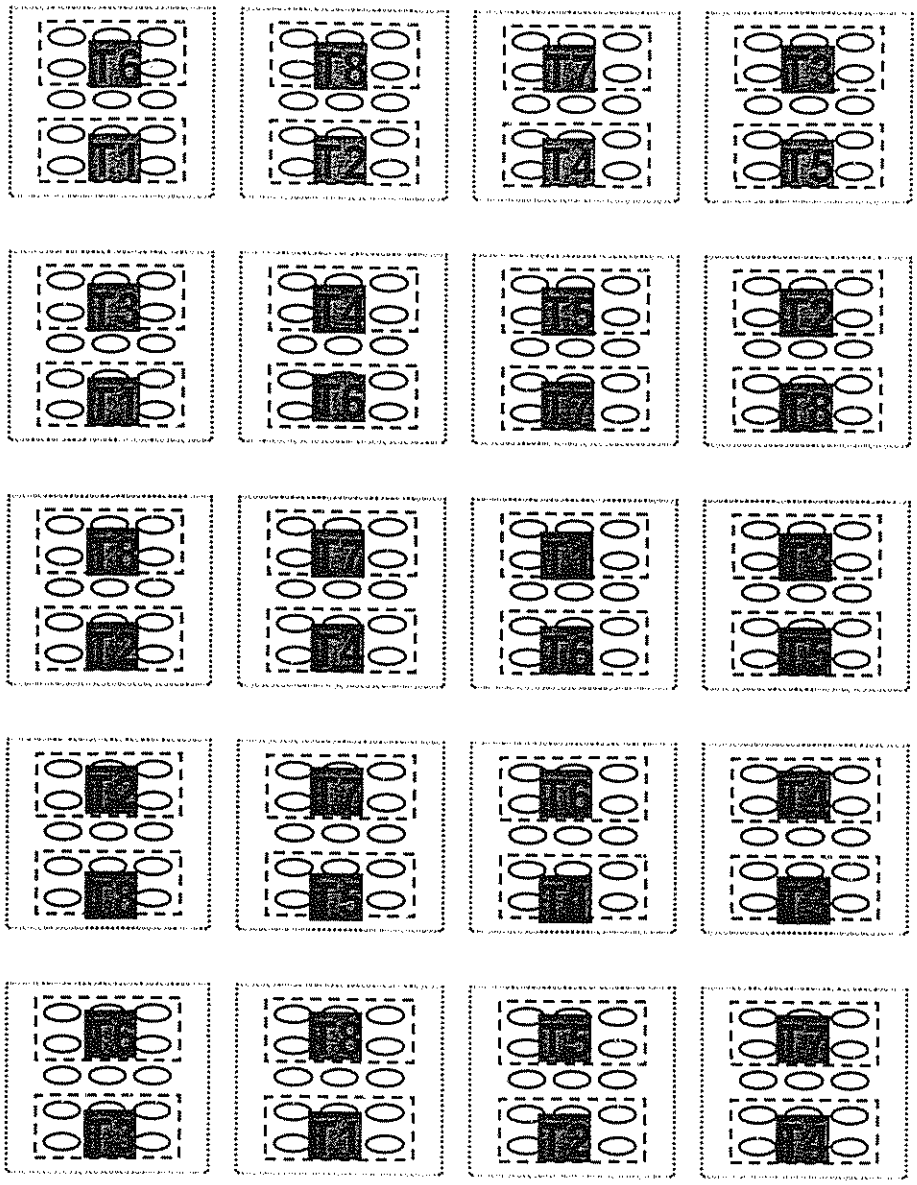
Anexo 8. Continuación

9	Lectura 1	16	5.3	**3.3**
	Lectura 2	17	5.7	
	Lectura 3	20	6.7	
	Lectura 4	22	7.3	
	Lectura 5	23	7.7	
	Lectura 6	26	8.7	
10	Lectura 1	18	6.0	**3.3**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	25	8.3	
	Lectura 6	28	9.3	
11	Lectura 1	16	5.3	**3.3**
	Lectura 2	17	5.7	
	Lectura 3	20	6.7	
	Lectura 4	22	7.3	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	26	8.7	
12	Lectura 1	16	5.3	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	26	8.7	
	Lectura 6	27	9.0	
13	Lectura 1	16	5.3	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	22	7.3	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	27	9.0	
14	Lectura 1	16	5.3	**4.0**
	Lectura 2	19	6.3	
	Lectura 3	22	7.3	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	25	8.3	
	Lectura 6	28	9.3	
15	Lectura 1	16	5.3	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	22	7.3	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	27	9.0	
16	Lectura 1	17	5.7	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	26	8.7	
	Lectura 6	28	9.3	

Anexo 8. Continuación

17	Lectura 1	18	6.0	**3.0**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	24	8.0	
	Lectura 5	26	8.7	
	Lectura 6	27	9.0	
18	Lectura 1	16	5.3	**3.3**
	Lectura 2	17	5.7	
	Lectura 3	20	6.7	
	Lectura 4	21	7.0	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	26	8.7	
19	Lectura 1	16	5.3	**3.7**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	24	8.0	
	Lectura 6	27	9.0	
20	Lectura 1	18	6.0	**3.0**
	Lectura 2	18	6.0	
	Lectura 3	21	7.0	
	Lectura 4	23	7.7	
	Lectura 5	26	8.7	
	Lectura 6	27	9.0	
Total Lectura 1		336	5.6	**3.5**
Total Lectura 2		365	6.1	
Total Lectura 3		420	7.0	
Total Lectura 4		462	7.7	
Total Lectura 5		505	8.4	
Total Lectura 6		547	9.1	

Anexo 9. Disposición espacial de las unidades experimentales en el campo



Anexo 10. Formato para evaluación de Sigatoka negra a nivel de campo

Fecha: Finca: Estación experimental "La Montaña".

B	T	P	# hoja 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	C	HMJM	TH	HL	THE	0	1	2	3	4	5	6

B: Bloque T: Tratamiento P: Planta
C: Cigarro TH: Total de hojas HL: Hojas limpias
THE: Total hojas enfermas HMJM: Hoja mas joven manchada

Anexo 11: Formato para registrar datos relacionados con el desarrollo de la planta

B	T	P	may-02 D	H	E	may-30 D	H	E	jun-25 D	H	E	jul-25 D	H	E	ago-22 D	H	E	Ifecha de inicio floración	# hojas a floración	Fecha de cosecha	# hojaa a cosecha

B: Bloque T: Tratamiento P: Planta
D: Diámetro H: Altura E: * Planta adulta
** Planta hija

Anexo 12. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (segundo muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	3.39×10^{13}	1.78×10^{12}	8.29	0.0001
Error	148	3.18×10^{13}	2.15×10^{11}		
Total	167	6.57×10^{13}			

Anexo 13. Análisis de varianza para las colonia amarillas (segundo muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	5.14×10^{12}	2.70×10^{11}	5.02	0.0001
Error	120	6.48×10^{12}	5.39×10^{10}		
Total	139	1.16×10^{13}			

Anexo 14. Análisis de varianza para las colonias rosadas (segundo muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	5	4.85×10^{8}	9.70×10^{8}	8.24	0.0008
Error	14	1.65×10^{8}	1.2×10^{10}		
Total	9	6.5×10^{8}			

Anexo 15. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (tercer muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	4	9×10^{8}	2.26×10^{8}	22.14	0.0437
Error	2	2×10^{7}	1.02×10^{7}		
Total	6	9.26×10^{8}			

Anexo 16. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (tercer muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	4.36×10^{12}	2.29×10^{11}	2.02	0.0104
Error	156	1.77×10^{13}	$1.14 \times 10\ 1^{11}$		
Total	175	2.21×10^{13}			

Anexo 17. Análisis de varianza para las colonias amarillas (tercer muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	6.62×10^{13}	3.48×10^{12}	4.74	0.0001
Error	156	1.14×10^{14}	7.35×10^{11}		
Total	175	1.81×10^{14}			

Anexo 18. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (tercer muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob >F
Tratamiento	19	2.94×10^{12}	1.5×10^{11}	8.33	0.0001
Error	113	2.1×10^{12}	1.86×10^{10}		
Total	132	5×10^{12}			

Anexo 19. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	6	1.26×10^{9}	2.1×10^{8}	20.07	0.0024
Error	5	5.25×10^{7}	1×10^{7}		
Total	11	1.3×10^{9}			

Anexo 20. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	6.1×10^{12}	3.2×10^{11}	6.06	0.0001
Error	112	5.9×10^{12}	5.3×10^{10}		
Total	131	1.2×10^{13}			

Anexo 21. Análisis de varianza para las colonias amarillas (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob >F
Tratamiento	19	4.89×10^{12}	2.57×10^{11}	3.18	0.0001
Error	134	1×10^{13}	8.1×10^{10}		
Total	153	1.57×10^{13}			

Anexo 22. Análisis de varianza para las colonias rosadas (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	15	4.2×10^{11}	2.81×10^{10}	3.53	0.0008
Error	38	3.02×10^{11}	7.95×10^{9}		
Total	53	7.23×10^{11}			

Anexo 23. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	6.69×10^{11}	3.52×10^{10}	2.64	0.0007
Error	118	1.57×10^{12}	1.33×10^{70}		
Total	137	2.24×10^{11}			

Anexo 24. Análisis de varianza para las colonias amarillo radiante (cuarto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob >F
Tratamiento	3	2.19×10^{11}	7.3×10^{10}	8.58.7	0.0001
Error	5	4.25×10^{8}	8.51×10^{7}		
Total	8	2.19×10^{11}			

Anexo 25. Análisis de varianza para las colonias blanco nacar (quinto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob >F
Tratamiento	19	4.71×10^{12}	2.48×10^{11}	2.73	0.0004
Error	147	1.33×10^{13}	9.08×10^{10}		
Total	166	1.8×10^{13}			

Anexo 26. Análisis de varianza para las colonias amarillas (quinto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	7.33×10^{11}	3.86×10^{111}	2.22	0.0046
Error	133	2.31×10^{13}	1.73×10^{11}		
Total	152	3.04×10^{13}			

Anexo 27. Análisis de varianza para las colonias amarillo vivo (quinto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob >F
Tratamiento	18	1.18×10^{12}	6.5×10^{10}	3.44	0.0001
Error	112	2.13×10^{12}	1.9×10^{10}		
Total	130	3.32×10^{12}			

Anexo 28. Análisis de varianza para las colonias amarillo radiante (quinto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	17	1.34×10^{12}	7.88×10^{10}	2.36	0.01041
Error	47	1.57×10^{12}	3.34×10^{10}		
Total	64	2.91×10^{12}			

Anexo 29. Análisis de varianza para las colonias amarillo estriado (quinto muestreo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	13	2.64×10^{12}	2.04×10^{11}	2.37	0.0357
Error	22	1.88×10^{12}	8.56×10^{10}		
Total	35	4.5×10^{12}			

Anexo 30. Análisis de varianza para la evaluación del desarrollo de la enfermedad a nivel de invernadero.

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Tratamiento	19	43321.7	2280.09	3.56	0.0001
Hoja	3	1841517.2	613839.07	957.46	0.0001
Muestreo	2	191623.3	95811.65	149.45	0.0001
Tratamiento*hoja	57	72827.2	1277.67	1.99	0.0001
Tratamiento*muestreo	38	15576.7	409.91	0.64	0.9546
Hoja*muestreo	6	57274.4	9545.73	14.89	0.0001
Tratamiento*hoja*muestreo	114	38281.1	335.80	0.52	1.0000
Error	480	307733.33	641.11		
Total	719	2568154.93			

Anexo 31. Comportamiento y dinámica de población de los microorganismos bajo condiciones de invernadero.

Evaluación	Planta 1		Planta 2		Planta 3		Planta 4	
	#	color	#	color	#	color	#	color
1	4400	b	5650	b	3900	b	6800	b
	8650	c	5650	c	3350	c	2850	c
	1650	a	2200	a	900	a	2700	a
	50	r	200	r	.	.	.	.
2	1600	b	2850	b	2200	b	3900	b
	1550	c	700	c	2600	c	1700	c
	50	a	250	a	400	a	650	a
	250	r	.	.	200	r	.	.
3	1150	b	550	b	2150	b	350	b
	1850	c	1700	c	2050	c	1150	c
	800	a	600	a	1150	a	650	a
	100	r	100	r	.	.	.	.
4	3700	b	2150	b	1600	b	150	b
	2100	c	950	c	800	c	300	c
	400	a	150	a	650	a	350	a
	150	r	250	r	100	r	50	r
5	1200	b	1150	b	2200	b	500	b
	700	c	750	c	350	c	400	c
	700	a	550	a	250	a	450	a-
	50	r	.	.	150	r	.	.

b: blanco mate c: blanco nacar a: amarillo r: rosado

Anexo 32. Análisis de varianza para hojas funcionales al momento de la floración

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	4	1.2885	0.3221	0.5116	0.7277
Tratamiento	7	57.6760	8.2394	13.0848	0.0001
Error	28	17.6315	0.6297		
Total	39	76.5960			

exo 33. Análisis de varianza para hojas funcionales al momento de la cosecha

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	8.5475	2.8492	1.7594	0.1857
Tratamiento	7	188.9250	26.9893	16.6662	0.0001
Error	21	34.0075	1.6194		
Total	31	231.4800			

exo 34. Población y diversidad de colonias a nivel de campo.

Tratamientos	Colonias	Campo
T1	Blanco mate	2,E+04
	Blanco nacar	3,E+04
	Amarillo	3,E+04
	Rosado	4,E+04
	Amarillo vivo	2,E+04
	Naranja	3,E+04
T2	Blanco nacar	2,E+04
	Amarillo vivo	2,E+04
	Naranja	3,E+04
T3	Blanco mate	3,E+04
	Blanco nacar	1,E+05
	Amarillo	2,E+05
	Rosado	6,E+04
	Amarillo vivo	7,E+04
	Naranja	4,E+04
T4	Blanco mate	2,E+05
	Blanco nacar	2,E+06
	Amarillo	2,E+05
	Rosado	4,E+04
	Amarillo vivo	8,E+04
	Naranja	2,E+05
T5	Blanco mate	2,E+04
	Blanco nacar	4,E+05
	Amarillo	6,E+05
	Rosado	3,E+04
	Amarillo vivo	3,E+04
	Naranja	7,E+04

Anexo 34. Continuación

T6	Blanco mate	2,E+04
	Blanco nacar	4,E+05
	Amarillo	1,E+05
	Rosado	9,E+04
	Amarillo vivo	3,E+04
	Naranja	7,E+04
T7	Blanco mate	2,E+04
	Blanco nacar	4,E+05
	Amarillo	4,E+05
	Rosado	5,E+05
T8	Blanco nacar	2,E+05
	Amarillo	2,E+05
	Rosado	3,E+04
	Amarillo vivo	2,E+04

Anexo 35. Análisis de varianza para las colonias blanco mate (muestreo a nivel de campo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	4	2.24E+08	5.59E+07	0.29	0.8793
Tratamiento	5	1.71E+10	3.42E+09	17.63	0.0001
Error	10	1.94E+09	1.94E+08		
Total	19	1.93E+10			

Anexo 36. Análisis de varianza para las colonias amarillas (muestreo a nivel de campo)

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	4	5.60E+11	1.40E+11	1.72	0.1688
Tratamiento	6	1.34E+12	2.23E+11	2.74	0.0274
Error	35	2.85E+12	8.14E+10		
Total	45	4.75E+12			

BIBLIOTECA

Anexo 37. Análisis de varianza para la variable diámetro del pseudotallo en las plantas adultas

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	4	359.2300	89.8075	8.5797	0.0001
Tratamiento	7	175.4000	25.0571	2.3938	0.0472
Error	28	293.0880	10.4674		
Total	39	827.7180			

Anexo 38. Análisis de varianza para la variable peso total del racimo

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	72.8846	24.2949	1.1386	0.3391
Tratamiento	7	494.1681	70.5954	3.3085	0.0040
Error	75	1600.3343	21.3378		
Total	85	2167.3870			

Anexo 39. Análisis de varianza para la variable peso del fruto medio de la antepenúltima mano

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	2827.2463	942.4154	1.9108	0.1351
Tratamiento	7	21796.7352	3113.8193	6.3134	0.0001
Error	75	36990.6106	493.2081		
Total	85	61614.5921			

Anexo 40. Análisis de varianza para la variable longitud del fruto central de la antepenúltima mano

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	2.6454	0.8818	0.5370	0.6584
Tratamiento	7	44.6262	6.3752	3.8826	0.0012
Error	75	123.1504	1.6420		
Total	85	170.4220			

Anexo 41. Análisis de varianza para la variable circunferencia del fruto central de la antepenúltima mano

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	0.1106	0.0369	0.0646	0.9784
Tratamiento	7	16.0870	2.2981	4.0266	0.0009
Error	75	42.8061	0.5707		
Total	85	59.0037			

Anexo 42. Análisis de varianza para la variable peso del fruto central de la segunda mano

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	3148.8618	1049.6206	1.4274	0.2415
Tratamiento	7	19849.2652	2835.6093	3.8562	0.0012
Error	75	55150.4526	735.3394		
Total	85	78148.5796			

Anexo 43. Análisis de varianza para la variable circunferencia del fruto central de la segunda mano

FV	GL	SC	CM	F	Prob>F
Repetición	3	4.5121	1.5040	0.4130	0.7442
Tratamiento	7	54.6435	7.8062	2.1434	0.0491
Error	75	273.1530	3.6420		
Total	85	332.3086			