



REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGIA

TEMA:

Aislamiento de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) para inoculación *in vitro* de plántulas de banano (*Mussa paradisiaca*), seguido de control con procesos biotecnológicos.

Autor:

**Oscar Mauricio Chenche López
Kenia del Rocío Martínez Espinoza**

Director:

Msc Cesar Stalin Gavin Moyano

Milagro, 2024

Derechos de autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Oscar Mauricio Chenche López** y **Kenia del Rocío Martínez Espinoza** en calidad de autores y titulares de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedemos los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de nuestro Grado, de Magister en Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación Generación de Bioproductos para la mejora del rendimiento agrícola de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizamos a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Los autores declaramos que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 08 de abril de 2024



firmado electrónicamente por:
OSCAR MAURICIO
CHENCHE LOPEZ

Ing. Oscar Mauricio Chenche López

CI 0924679202



firmado electrónicamente por:
KENIA DEL ROCIO
MARTINEZ ESPINOZA

BqF. Kenia del Rocío Martínez Espinoza

CI 0702504895

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Yo, **Gavin Moyano César Stalin** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **Óscar Mauricio Chenche López** y **Kenia del Rocío Martínez Espinoza**, cuyo tema es **Aislamiento de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) para inoculación in vitro de plántulas de banano (*Mussa paradisiaca*), seguido de control con procesos biotecnológicos**, que aporta a la Línea de Investigación **Generación de Bioproductos para la mejora del rendimiento agrícola**, previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 08 de abril de 2024



Firmado electrónicamente por:
**CESAR STALIN GAVIN
MOYANO**

Msc Cesar Stalin Gavin Moyano
C.I 0603575382

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **ING. CHENCHE LOPEZ OSCAR MAURICIO**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "AISLAMIENTO DE SIGATOKA NEGRA (MYCOSPHARELA FIJENSIS) PARA INOCULACIÓN IN VITRO DE PLÁNTULAS DE BANANO (MUSSA PARADISIACA), SEGUIDO DE CONTROL CON PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS. ", las siguientes calificaciones:

| | |
|-----------------|------------------|
| TRABAJO ESCRITO | 60.00 |
| SUSTENTACIÓN | 39.33 |
| PROMEDIO | 99.33 |
| EQUIVALENTE | Excelente |



Escaneado el 14/06/2024 a las 10:00 AM por:
KEVIN XAVIER
HUILCAREMA ENRIQUEZ

Mcimq HUILCAREMA ENRIQUEZ KEVIN XAVIER
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



Escaneado el 14/06/2024 a las 10:00 AM por:
LUIS EDUARDO CAGUA
MONTAÑO

Mgs CAGUA MONTAÑO LUIS EDUARDO
VOCAL



Escaneado el 14/06/2024 a las 10:00 AM por:
KAREN ALEXANDRA
RODAS PAZMIÑO

Mgs RODAS PAZMIÑO KAREN ALEXANDRA
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Queridos, papá Félix Chenche Muñoz y mamá Gladys López Gómez,

A ustedes, quienes han sido la fuente inagotable de apoyo, inspiración y amor a lo largo de mi trayectoria académica, dedico este trabajo de titulación. Su inquebrantable aliento y sacrificio han sido los pilares que me han permitido llegar a este momento. Cada logro es también suyo, y este trabajo es un modesto tributo a la dedicación y amor que han vertido en mi educación.

A mi amada esposa Patricia Wong Larreta, mi compañera incansable en esta travesía académica y en la vida. Tu paciencia, comprensión y estímulo constante han sido la chispa que enciende mi perseverancia. Este logro es tan tuyo como mío, y tu presencia en cada paso del camino ha significado el mundo para mí.

A mis adorados hijos Samantha y Oscar, quienes han compartido este viaje conmigo y han sido la fuente de mi inspiración diaria. Cada esfuerzo ha estado guiado por el deseo de construir un futuro mejor para ustedes. Que este trabajo sea un testimonio de la importancia que tienen en mi vida y en mis logros.

Gracias por ser mi constante fuente de amor, motivación y alegría. Este logro es un reflejo de nuestro esfuerzo y dedicación como familia. Con cariño y gratitud infinita, este trabajo es para ustedes.

Con amor,

Oscar

DEDICATORIA

A mi amada familia:

A mis queridos padres, cuyos sólidos cimientos sostienen mi universo, agradezco su amor infinito y desinteresado que me ha proporcionado las alas necesarias para alcanzar mis sueños. Esta tesis rinde homenaje a la invaluable presencia de ustedes en mi vida, siendo un símbolo de la profunda gratitud que albergo por su amor y apoyo incondicional.

A mis hermanos: ustedes son los compañeros de esta travesía, los confidentes que han compartido risas y lágrimas conmigo. Su apoyo inquebrantable y la conexión que compartimos son tesoros que atesoro profundamente. A cada uno de ustedes, les dedico un espacio especial en esta expresión de gratitud y reconocimiento.

A mi adorada hija, mi musa inspiradora y la brújula que ilumina mi sendero. Agradezco tu contagiosa alegría, tu espíritu libre y tu amor incondicional. Eres la fuente de mi fortaleza y la razón por la cual sigo adelante. Esta tesis refleja tu luz, constituyendo un pequeño tributo a la persona que llena de esperanza mi existencia y me impulsa a ser mejor cada día.

A mis estimados maestros:

A mis profesores y mentores, agradezco profundamente por su inestimable guía y por compartir conmigo su vasto conocimiento y sabiduría. Su dedicación y apasionado compromiso con la enseñanza han encendido una llama en mi interior que me impulsa incansablemente a seguir aprendiendo y creciendo.

A mi compañero de tesis, con quien he compartido momentos de alegría, frustración y aprendizaje, le expreso mi sincero agradecimiento. Su amistad, colaboración y apoyo ha enriquecido enormemente esta experiencia, permitiéndome no solo alcanzar metas académicas, sino también crecer como persona y profesional.

Agradezco a todos ustedes por ser parte de este logro y por contribuir a mi formación personal y profesional.

Con Cariño,

Kenia

AGRADECIMIENTO

A mis padres, Félix Chenche Muñoz y Gladys López Gómez, mi gratitud eterna. Su sacrificio y amor han sido el motor que me impulsa. Cada logro es una manifestación de la educación y valores que me han transmitido. Gracias por ser mi fuente constante de inspiración y por ser la base sólida sobre la cual construir mis sueños.

A mi amada esposa, Patricia, agradezco sinceramente tu constante aliento, paciencia y comprensión. Tu apoyo incondicional ha sido mi roca en este proceso. Has compartido las alegrías de cada avance y has sido mi consuelo en los momentos más desafiantes. Este logro lleva tu huella, y cada página de este trabajo refleja nuestra colaboración y amor.

Agradezco de corazón al MSc. Cesar Gavin Moyano, mi tutor y guía durante este emocionante viaje académico. Su conocimiento, orientación y paciencia han sido fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo. Más allá de la relación académica, Cesar se ha convertido en un amigo valioso, y sus consejos no solo han enriquecido mi trabajo sino también mi crecimiento personal.

A mis queridos compañeros Técnicos Docentes a mi jefe Msc. Rafael Lazo, a mi compañera de tesis, a quienes considero no solo colegas sino amigos y cómplices en esta aventura científica. Cada experimento, cada desafío, ha sido enfrentado con un espíritu colaborativo que ha fortalecido nuestro vínculo profesional y personal. Gracias por compartir este camino y contribuir al éxito de este proyecto.

A mí, por la dedicación y esfuerzo invertidos en este proyecto. Cada desafío superado ha sido una lección aprendida, y cada éxito ha sido el resultado de la perseverancia y determinación personal.

Este trabajo es el fruto de un esfuerzo colectivo, y cada uno de ustedes ha dejado una marca indeleble en esta travesía. A todos, gracias por ser parte de este capítulo significativo de mi vida.

Con gratitud sincera,
Oscar

AGRADECIMIENTO

Agradezco de corazón a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la culminación de mi tesis para obtener el grado de Magíster en Biotecnología.

Primordialmente, quiero destacar la invaluable guía y el apoyo incondicional de mis asesores y mentores. Su experticia me ha brindado las herramientas necesarias para enfrentar los obstáculos y alcanzar mis metas. Su profunda sabiduría y su constante aliento han sido pilares fundamentales en mi formación como profesional, y les estoy profundamente agradecido por su invaluable tutela.

Asimismo, quiero expresar mi profunda gratitud a mis compañeros de estudio. Compartir este camino con ellos ha sido una experiencia enriquecedora en todos los sentidos. La colaboración, el intercambio de ideas y el apoyo mutuo han sido esenciales para mi crecimiento personal y profesional, y han contribuido de manera significativa al desarrollo de mi proyecto.

No puedo dejar de mencionar el apoyo incondicional de mi familia y amigos. Su paciencia, comprensión y constante aliento han sido un faro de esperanza durante los momentos desafiantes de este proceso. Su amor y confianza en mí han sido una fuerza motriz que me ha impulsado a seguir adelante y alcanzar mis metas.

Este logro no es solo mío, sino de todos aquellos que han creído en mi potencial y me han acompañado en este viaje. Agradezco de corazón a cada uno de ustedes por su invaluable contribución. Su sabiduría, apoyo y generosidad han dejado una huella imborrable en mi formación como profesional en el campo de la biotecnología.

Gracias a todos por ser parte de este sueño hecho realidad.

Con mucho afecto,

Kenia

Resumen

Este estudio se enfocó en explorar enfoques biotecnológicos innovadores para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en cultivos de banano. Se evaluaron medios de cultivo, consorcios microbianos y extractos naturales con el objetivo de ofrecer alternativas sostenibles a los métodos convencionales basados en fungicidas químicos. En primer lugar, se identificó al medio PDA como altamente propicio para el crecimiento de la Sigatoka Negra, superando significativamente al agar nutritivo. Este hallazgo tiene implicaciones clave para futuros estudios in vitro, enfatizando la importancia del sustrato en la investigación de fitopatógenos. En el segundo tratamiento, la aplicación de consorcios microbianos compuestos por *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas fluorescens* demostró un control in vitro efectivo durante más de 30 días. Este resultado sugiere un potencial significativo para la implementación de microorganismos beneficiosos en estrategias de control biológico, alineándose con la tendencia hacia prácticas agrícolas más sostenibles. El tercer tratamiento, que involucró la aplicación de extractos de cúrcuma, reveló una capacidad de control de hasta 15 días. Este descubrimiento resalta el potencial de los compuestos naturales, especialmente los sesquiterpenos presentes en la cúrcuma, para mitigar la propagación de la Sigatoka Negra. Un componente distintivo de la metodología fue el método de captura de microorganismos mediante sedimentación pasiva en espacios específicos dentro de la plantación de banano. Este enfoque estratégico aporta realismo a la investigación, aprovechando la dinámica natural para la distribución eficiente de agentes de control biológico. Los resultados prometedores de los tratamientos 2 y 3 señalan su potencial implementación a gran escala, marcando un avance significativo en el manejo sostenible de la Sigatoka Negra. Se recomienda aplicaciones mejoradas para consorcios microbianos insertando *Pseudomonas fluorescens* a los métodos de control biológico y extractos de cúrcuma. Además, se subraya la importancia de la capacitación de agricultores y la promoción de investigaciones interdisciplinarias para una adopción efectiva de estas estrategias en la práctica agrícola. Este estudio contribuye de manera significativa al desarrollo de enfoques más respetuosos con el medio ambiente en la gestión fitopatológica y la optimización de recursos en los cultivos de banano.

Palabras claves; Banano, Sigatoka Negra, Sesquiterpenos, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus* spp, Sedimentación pasiva, Estrategias biotecnológicas.

Abstract

This study aimed to explore innovative biotechnological approaches for the control of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*) in banana crops. Culturing mediums, microbial consortia, and natural extracts were assessed to provide sustainable alternatives to conventional methods relying on chemical fungicides. Initially, the PDA medium emerged as highly conducive to Black Sigatoka growth, surpassing the nutritive agar significantly. This finding holds crucial implications for future in vitro studies, emphasizing the substrate's importance in phytopathogen research. In the second treatment, the application of microbial consortia comprised of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, and *Pseudomonas fluorescens* demonstrated effective in vitro control for over 30 days. This result suggests substantial potential for the implementation of beneficial microorganisms in biological control strategies, aligning with the trend towards more sustainable agricultural practices. The third treatment, involving the application of turmeric extracts, revealed a control capacity of up to 15 days. This discovery underscores the potential of natural compounds, especially sesquiterpenes present in turmeric, to mitigate the spread of Black Sigatoka. A distinctive component of the methodology was the capture of microorganisms through passive sedimentation in specific spaces within the banana plantation. This strategic approach adds realism to the research, leveraging natural dynamics for the efficient distribution of biological control agents. The promising results of Treatments 2 and 3 indicate their potential for large-scale implementation, marking a significant advancement in sustainable Black Sigatoka management. Enhanced applications for microbial consortia by introducing *Pseudomonas fluorescens* into biological control methods and turmeric extracts are recommended. Furthermore, the importance of farmer training and the promotion of interdisciplinary research is underscored for effective adoption of these strategies in agricultural practice. This study contributes significantly to the development of environmentally friendly approaches in phytopathological management and resource optimization in banana crops.

Keywords: Banana, Black Sigatoka, Sesquiterpenes, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus spp*, Passive sedimentation, Biotechnological strategies.

Lista de Tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Mycosphaerella fijiensis crecimiento diario (mm ²) PDA | 36 |
| Tabla 2 Promedio de invasión mycelial PDA | 36 |
| Tabla 3 Mycosphaerella fijiensis crecimiento diario (mm ²) AGAR NUTRIENTE..... | 37 |
| Tabla 4 Promedio de invasión mycelial AGAR NUTRIENTE..... | 37 |
| Tabla 5 Datos de inhibición de crecimiento con Curcuma..... | 40 |
| Tabla 6 Porcentajes de infección de inicio previo aplicación de productos..... | 42 |
| Tabla 7 Análisis descriptivos de la data recolectada | 42 |
| Tabla 8 Anova para análisis de un FACTOR..... | 43 |
| Tabla 9 Grupos homogéneos Infección..... | 43 |
| Tabla 10 Grupos homogéneos Promedio ponderado de infección PPI | 43 |

Índice / Sumario

| | |
|--|--------------------------------------|
| Derechos de autor | II |
| Aprobación del director del Trabajo de Titulación | III |
| Aprobación del tribunal calificador..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| DEDICATORIA..... | V |
| DEDICATORIA..... | VI |
| AGRADECIMIENTO..... | VII |
| AGRADECIMIENTO..... | VIII |
| Resumen | IX |
| Abstract..... | X |
| Introducción..... | 1 |
| CAPÍTULO I: El problema de la investigación | 3 |
| 15.1 Planteamiento del problema..... | 3 |
| 15.2 Delimitación del problema..... | 4 |
| 15.3 Formulación del problema | 5 |
| 15.4 Determinación del tema | 5 |
| 15.5 Objetivo general..... | 5 |
| 15.6 Objetivos específicos | 5 |
| 15.7 Hipótesis | 6 |
| 15.8 Declaración de las variables..... | 6 |
| 15.8.1 Variable Independiente..... | 6 |
| 15.8.2 Variable Dependiente | 6 |
| 15.9 Justificación | 7 |
| 15.10 Alcance y limitaciones | 8 |
| 15.10.1 Alcance | 8 |
| 15.10.2 Limitaciones | 9 |
| CAPÍTULO II: Marco teórico referencial..... | 10 |
| 2.1 Antecedentes..... | 10 |
| 2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación..... | 11 |

| | | |
|---|--|----|
| 2.2.1 | Sigatoka Negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>)..... | 11 |
| 2.2.2 | Características de la Sigatoka Negra | 12 |
| 2.2.3 | Ciclo de vida de la Sigatoka Negra..... | 14 |
| 2.2.4 | Impacto de Sigatoka Negra en el rendimiento del banano | 15 |
| 2.2.5 | Métodos tradicionales de control y limitaciones | 17 |
| 2.2.6 | Agricultura orgánica en el cultivo del banano | 18 |
| 2.2.7 | Principios de la agricultura orgánica | 20 |
| 2.2.8 | Prácticas de la agricultura orgánica | 22 |
| 2.2.9 | Beneficios de la agricultura orgánica en la producción de banano..... | 23 |
| 2.2.10 | Desafíos y oportunidades en la implementación de prácticas orgánicas | 24 |
| 2.2.11 | Importancia del control de Sigatoka Negra en el cultivo de banano | 25 |
| 2.2.12 | Biotecnología en la agricultura..... | 25 |
| CAPÍTULO III: Diseño metodológico | | 28 |
| 3.1 | Tipo y diseño de investigación | 28 |
| 3.1.1 | Tipo | 28 |
| 3.1.2 | Diseño de Investigación | 28 |
| 3.2 | La población y la muestra | 29 |
| 3.2.1 | Características de la población..... | 29 |
| 3.2.2 | Delimitación de la población..... | 30 |
| 3.2.3 | Tipo de muestra..... | 30 |
| 3.2.4 | Tamaño de la muestra | 30 |
| 3.2.5 | Proceso de selección de la muestra | 30 |
| 3.3 | Los métodos y las técnicas..... | 30 |
| 3.3.1 | Fase de campo | 30 |
| 3.3.2 | Fase de laboratorio | 31 |
| 3.3.2.1 | Aislamiento de los microorganismos en estudio | 31 |
| 3.3.2.2 | Obtención de extractos | 32 |
| 3.3.2.3 | Control in vitro | 33 |
| 3.3.2.4 | Fase de cultivo controlado..... | 34 |
| 3.3.2.5 | Secuenciación de los productos de interés | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.4 | Procesamiento estadístico de la información..... | 35 |
| 4 | CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados | 36 |
| 4.1 | Análisis de los resultados..... | 36 |
| 4.1.1 | Determinación del medio para aislamiento..... | 36 |
| 4.1.2 | Productos biotecnológicos | 39 |
| 4.1.3 | Ensayo con plántulas..... | 42 |
| 4.2 | Interpretación de los resultados | 44 |
| | CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones..... | 46 |
| 5.1 | Conclusiones..... | 46 |
| 5.2 | Recomendaciones | 47 |

Introducción

La Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, ha sido una preocupación constante en la industria bananera en el Ecuador. El impacto de la Sigatoka negra en la producción de banano es sustancial, con pérdidas potenciales de hasta el 100% según Martins et al., (2016), exacerbadas por la dependencia histórica de pesticidas para su control. Este abuso de químicos, junto con los ciclos de fumigación frecuentes, no solo ha demostrado ser insostenible, sino que también ha generado preocupaciones ambientales y de salud pública (Cuevas-Gutiérrez et al., 2015).

En este contexto, el presente plan de tesis se centra en abordar la Sigatoka Negra mediante enfoques biotecnológicos, proponiendo una estrategia integral que abarca desde la recolección de hojas afectadas hasta la implementación de procesos de control utilizando agentes antagonistas y productos naturales. Este enfoque no solo busca una solución efectiva, sino que también se alinea con la creciente demanda de prácticas agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

Antes de profundizar en los aspectos técnicos de la investigación, es crucial comprender la magnitud del problema. La Sigatoka Negra ha demostrado ser altamente persistente en los cultivos de banano en este país, causando daños significativos a los rendimientos y afectando negativamente la calidad de las frutas. Los métodos tradicionales de control, basados en el uso intensivo de pesticidas, han mostrado limitaciones, contribuyendo a la resistencia del hongo y generando gastos considerables para el control del mismo (Correa et al., 2017).

Este proceso iniciara en campo con la identificación de signos y síntomas donde se establecerán parámetros claros para la selección de las hojas, considerando su grado de afectación y la variabilidad de la infección. Este proceso, fundamental para entender la presencia y distribución del hongo en el campo según García et al., (2017), se llevará a cabo con cuidado y precisión, asegurando la representatividad de las muestras.

Las muestras recolectadas se someterán a procesos de aislamiento en laboratorio, seguidos de ensayos con medios de cultivo específicos para *Mycosphaerella fijiensis*. Posteriormente, se procederá a la purificación y secuenciación del genoma del hongo. Estos pasos son esenciales para comprender la variabilidad genética y las posibles rutas de evolución del patógeno Ortega-Bonilla et al., (2022), proporcionando información valiosa para el desarrollo de estrategias de control específicas.

Este enfoque molecular permitirá una caracterización detallada del hongo, identificando posibles puntos vulnerables para intervenciones biotecnológicas. La secuenciación del genoma proporcionará información clave sobre la resistencia a los agentes anti fúngicos tradicionales, orientando el diseño de estrategias de control efectivas.

Una vez caracterizado el hongo, se procederá a evaluar su susceptibilidad a agentes antagonistas y productos naturales con propiedades anti fúngicas. Este paso, crucial para determinar la viabilidad de enfoques biotecnológicos, implicará ensayos meticulosos en condiciones de laboratorio.

La elección de agentes antagonistas se basará en su capacidad para competir eficazmente con *Mycosphaerella fijiensis*. Además, se evaluarán productos naturales conocidos por sus propiedades anti fúngicas, asegurando la seguridad y eficacia de los métodos de control propuestos.

La validación de los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio se llevará a cabo mediante la inoculación y control en hojas de plantas de banano en condiciones controladas. Este paso permitirá evaluar la eficacia de los métodos propuestos en un entorno más cercano a las condiciones de campo.

La replicación de condiciones ambientales específicas, incluidos factores climáticos y de suelo, será esencial para garantizar la relevancia de los resultados. La monitorización detallada de la respuesta de las plantas y la persistencia del hongo será clave para evaluar el éxito de las estrategias implementadas.

Este plan de tesis aborda la problemática de la Sigatoka Negra en los cultivos de banano en Ecuador mediante un enfoque integral que combina la investigación molecular con estrategias de control biotecnológicas.

CAPÍTULO I: El problema de la investigación

1.1 Planteamiento del problema

La producción bananera en Ecuador enfrenta una amenaza constante, la Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*. Esta enfermedad ha generado importantes pérdidas económicas y ha llevado a la adopción de prácticas agrícolas intensivas basadas en el uso excesivo de pesticidas. El problema se agrava al considerar el sector de la producción bananera orgánica, el cual se ve notablemente limitado por la falta de alternativas efectivas y sostenibles para el control de la Sigatoka Negra (García et al., 2017).

El abuso histórico de pesticidas en los cultivos de banano en Ecuador ha demostrado ser una estrategia insostenible. La Sigatoka Negra ha desarrollado resistencia a muchos de estos productos químicos, obligando a ciclos de fumigación más frecuentes y a la búsqueda constante de nuevas moléculas para su control. Esta dependencia crónica no solo eleva los costos de producción, sino que también genera preocupaciones ambientales (Echeverri, 2014).

Las consecuencias del uso intensivo de pesticidas son evidentes en la contaminación del suelo y del agua, afectando no solo a las plantaciones de banano sino también a los ecosistemas circundantes. Además, se ha observado la presencia de residuos de pesticidas en las frutas, planteando preocupaciones sobre la seguridad alimentaria y la aceptación del banano ecuatoriano en los mercados internacionales, donde las normas de calidad son cada vez más rigurosas (Aguilera et al., 2021).

La situación se agrava para el sector de la producción bananera orgánica, que se enfrenta a restricciones significativas debido a la falta de opciones de control de la Sigatoka Negra compatibles con los principios de la agricultura orgánica enuncia Jiménez et al., (2007). La imposibilidad de utilizar pesticidas químicos convencionales deja a los productores orgánicos en una posición vulnerable, con rendimientos amenazados por la proliferación no controlada de la enfermedad.

La producción bananera orgánica, que busca satisfacer la creciente demanda de alimentos más saludables y respetuosos con el medio ambiente, se ve obstaculizada en su capacidad para ofrecer una alternativa sostenible frente al modelo convencional. La falta de opciones efectivas para el control de la Sigatoka Negra limita el crecimiento de este sector, impidiendo que los

productores cumplan con las expectativas de los consumidores y los estándares de certificación orgánica.

Esta problemática no solo afecta a los productores individuales, sino que tiene un impacto a nivel nacional. Ecuador, siendo uno de los principales exportadores de banano a nivel mundial, Hidalgo & Oliva (2019), se enfrenta a desafíos significativos para mantener su posición en el mercado global. La necesidad urgente de una solución integral que aborde el uso excesivo de pesticidas y proporcione alternativas efectivas para el sector de la producción bananera orgánica es crucial para mantener la sostenibilidad y la competitividad de la industria bananera ecuatoriana.

En este contexto, surge la necesidad de investigaciones que busquen enfoques biotecnológicos para el control de la Sigatoka Negra, superando las limitaciones asociadas con el uso indiscriminado de pesticidas y ofreciendo soluciones viables para el sector bananero, incluyendo la producción orgánica. El presente estudio propone abordar este desafío, reconociendo la importancia de una estrategia que no solo proteja los cultivos de banano, sino que también fomente prácticas agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. (Nadal-Medina et al., 2009)

1.2 Delimitación del problema

A pesar de la relevancia y la urgencia de abordar el problema del uso excesivo de pesticidas en la producción bananera ecuatoriana, es necesario establecer ciertas delimitaciones que orienten y focalicen el alcance de la presente investigación

La investigación se centra específicamente en la problemática generada por la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en los cultivos de banano en Ecuador, otros problemas fitosanitarios que afecten al banano, aunque importantes, quedan fuera del alcance de esta investigación.

El trabajo se desarrolla en el contexto geográfico de Ecuador, considerando las condiciones climáticas y ambientales específicas de este país. Las soluciones propuestas estarán adaptadas a la realidad ecuatoriana y pueden no ser directamente aplicables a otras regiones con condiciones distintas.

La presente investigación se concentra en las limitaciones específicas que enfrenta el sector de la producción bananera orgánica en Ecuador. Si bien se reconoce la importancia de la

producción convencional, las soluciones propuestas priorizarán la compatibilidad con los principios de la agricultura orgánica.

La investigación se orienta hacia enfoques biotecnológicos para el control de la Sigatoka Negra, excluyendo consideraciones detalladas sobre métodos químicos convencionales. La justificación radica en la necesidad de encontrar alternativas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente, alineadas con la demanda actual de prácticas agrícolas más saludables.

Este estudio prioriza soluciones que no solo aborden la problemática fitopatológica, sino que también promuevan la sostenibilidad ambiental y económica de la industria bananera en Ecuador. Se dará especial atención a la evaluación del impacto ambiental de las soluciones propuestas, considerando los aspectos relacionados con la contaminación del suelo y del agua.

El desarrollo se circunscribe a la situación y las condiciones existentes hasta la fecha de corte de conocimiento en enero de 2024. Los avances científicos y cambios en la situación fitopatológica mutaciones después de esa fecha no serán considerados en este estudio.

1.3 Formulación del problema

¿Cómo la aplicación de soluciones biotecnológicas proporcionaría respuestas efectivas y sostenibles para el control de la Sigatoka Negra en la producción bananera ecuatoriana, especialmente en sector de la producción orgánica?

1.4 Determinación del tema

Aislamiento de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) para inoculación *in vitro* de plántulas de banano (*Mussa paradisiaca*), seguido de control con procesos biotecnológicos.

1.5 Objetivo general

Determinar un proceso biotecnológico que permita el control eficaz de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*).

1.6 Objetivos específicos

- ❖ Establecer un protocolo de aislamiento de Sigatoka Negra seguido de su caracterización
- ❖ Determinar un proceso eficaz de inoculación de Sigatoka Negra *in vitro* en plántulas de banano.

- ❖ Evaluar la eficacia de los productos originarios de los procesos biotecnológicos con metodología *in vitro*.
- ❖ Diseñar estrategias de control biotecnológico en plántulas de banano en condiciones controladas.
- ❖ Monitorear la respuesta de las plantas de banano, así como la persistencia y desarrollo de *Mycosphaerella fijiensis*.

1.7 Hipótesis

El uso de agentes antagonistas y productos naturales, permitirá no solo una eficaz reducción de la incidencia de la enfermedad, sino también la promoción de prácticas agrícolas sostenibles.

1.8 Declaración de las variables

1.8.1 Variable Independiente

- Soluciones Biotecnológicas

1.8.2 Variable Dependiente

- Incidencia de la Sigatoka Negra
- Eficiencia de los agentes antagonistas y productos de control

Tabla 1

Operacionalización de variables

| Variable | Tipo | Descripción | Indicadores | Método de Medición |
|--|---------------|--|---|--|
| Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i>) | Dependiente | Presencia y severidad de la enfermedad en plántulas de banano | - Crecimiento diario de micelio en mm ² (Tablas 1, 3) - Promedio de invasión micelial (Tablas 2, 4) - Porcentaje de infección y eficacia del control (Tabla 6) | - Observación directa y medición con regla o micrómetro bajo microscopio - Cálculo de promedios y porcentajes basados en mediciones experimentales |
| Medios de cultivo (PDA, Agar Nutriente) | Independiente | Sustratos utilizados para el crecimiento in vitro de la Sigatoka Negra | - Crecimiento en mm ² en PDA vs. Agar Nutriente | - Cultivo in vitro y medición de la expansión del micelio en placas Petri |
| Consortios microbiano: (<i>Bacillus spp.</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>) | Independiente | Aplicación de microorganismos beneficiosos para el control de Sigatoka Negra | - Inhibición de crecimiento de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> - Duración de efectividad del control in vitro | - Ensayos de antagonismo in vitro - Evaluación de la duración del efecto controlador |

| | | | | |
|-----------------------------|---------------|---|---|--|
| Extractos de cúrcuma | Independiente | Uso de extractos naturales como método de control biológico | - Capacidad de control de Sigatoka Negra - Duración de efectividad del control in vitro | - Aplicación de extractos en ensayos in vitro - Medición de inhibición del crecimiento del hongo |
| Control | Independiente | Control negativo para monitorear el avance de la enfermedad | - Avance de la enfermedad | - Medición del crecimiento del hongo |

Nota; Esta tabla se enfoca en las variables principales discutidas en el documento y proporciona un marco para entender cómo se aborda el estudio de la Sigatoka Negra

1.9 Justificación.

La justificación de este ensayo radica en la necesidad crítica de abordar la problemática de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en la producción bananera ecuatoriana mediante un enfoque innovador y sostenible.

El manejo de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en la industria bananera del Ecuador a través de procesos biotecnológicos es un área crítica de investigación e intervención. La Sigatoka negra ha sido una amenaza persistente para la producción de banano en Ecuador, provocando pérdidas económicas sustanciales. La implementación de soluciones biotecnológicas ofrece el potencial de reducir la carga económica asociada con el uso excesivo de pesticidas y mitigar los impactos adversos en la industria bananera (Palacios et al., 2019).

Además, el sector de producción de banano orgánico enfrenta limitaciones debido a la falta de alternativas efectivas de control de la Sigatoka Negra. Por lo tanto, existe la necesidad de soluciones específicas adaptadas a los principios de la agricultura orgánica para permitir a este sector abordar los desafíos fitopatológicos sin comprometer sus estándares de producción (Castillo-Arévalo, 2022).

La aplicación de técnicas biotecnológicas, como el aislamiento y la secuenciación del genoma, presenta un enfoque innovador y específico para comprender y controlar *Mycosphaerella fijiensis*. Explorar estas tecnologías representa un avance científico con el potencial de transformar las prácticas agrícolas tradicionales y mejorar las estrategias de manejo de enfermedades (García et al., 2017).

La implementación exitosa de soluciones biotecnológicas no solo beneficia a los productores locales, sino que también fortalece la posición competitiva de Ecuador en el mercado mundial del banano. A medida que crece la demanda de los consumidores por prácticas agrícolas

sostenibles, la adopción de estos métodos puede contribuir a la diferenciación y aceptación de los productos bananeros ecuatorianos en el mercado internacional (Brenes-Gamboa, 2017).

La eficacia de los resultados de la investigación tendrá un impacto significativo en el control de la Sigatoka negra. La información generada puede servir como base para futuras investigaciones y desarrollos en los campos de la fitopatología y la agricultura sostenible, contribuyendo al manejo a largo plazo de la Sigatoka Negra en la industria productora de banano del Ecuador.

En conclusión, abordar el desafío de la Sigatoka Negra en la industria bananera del Ecuador a través de soluciones biotecnológicas innovadoras y sostenibles es crucial para mitigar las pérdidas económicas y asegurar la competitividad del Ecuador en el mercado mundial del banano.

1.10 Alcance y limitaciones

1.10.1 Alcance

El alcance de esta investigación abarcará todas las etapas del protocolo integral propuesto para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en la producción bananera ecuatoriana, con un enfoque específico en la implementación de soluciones biotecnológicas, orientadas al sector orgánico.

Se detallan los aspectos que estarán comprendidos dentro del alcance de este estudio.

Aislamiento del fitopatógeno, incluye la recolección de muestras de hojas afectadas, el aislamiento del hongo en condiciones de laboratorio, y la caracterización de las cepas aisladas mediante técnicas moleculares.

La inoculación, comprende la realización de ensayos de inoculación *in vitro* en plántulas de banano con las cepas aisladas de *Mycosphaerella fijiensis*, evaluando el desarrollo de la enfermedad.

Control *in vitro*, se centra en la evaluación de la eficacia de agentes antagonistas y productos naturales en el control *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*, implementando estrategias específicas

Control en condiciones controladas, considera la inoculación y control de *Mycosphaerella fijiensis* en hojas de plantas de banano en condiciones controladas, analizando la respuesta de las plantas y la persistencia del hongo.

Análisis y recomendaciones prácticas, incluye la comparación de resultados en términos de eficacia de control, impacto ambiental, viabilidad económica y aplicabilidad en la producción bananera orgánica.

1.10.2 Limitaciones

A pesar del enfoque integral de esta investigación, es importante reconocer ciertas limitaciones que podrían influir en la interpretación de los resultados y en la aplicabilidad de las conclusiones

Ubicación geográfica, la investigación se llevará a cabo en el contexto geográfico de Ecuador, lo que implica que las condiciones climáticas y ambientales específicas del país pueden limitar la generalización de los resultados a otras regiones

Posibles mutaciones posterior a la publicación, la investigación se basará en información disponible hasta enero de 2024. Cambios significativos en la comprensión de la Sigatoka Negra, la variabilidad genética intrínseca de *Mycosphaerella fijiensis* podría presentar desafíos adicionales en términos de diseño de estrategias de control y respuesta de las plantas de banano.

Duración del estudio, el estudio tendrá una duración limitada, y las observaciones se realizarán en un marco temporal específico. La evolución a largo plazo de las estrategias de control y su efectividad a lo largo de múltiples ciclos de cultivo podrían requerir investigaciones adicionales.

CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

2.1 Antecedentes

La lucha contra la Sigatoka Negra, causada por *Mycosphaerella fijiensis*, ha representado un reto significativo para la industria bananera. Tradicionalmente, el control de esta enfermedad se ha basado en el uso intensivo de químicos, lo cual ha generado preocupaciones ambientales y la necesidad de buscar alternativas sostenibles. En este contexto, la investigación se ha orientado hacia el control biológico como una estrategia prometedora para combatir esta enfermedad de manera más amigable con el ambiente.

La investigación de Carr et al. (2017), vinculada al Instituto Tecnológico de Costa Rica, CORBANA S.A., y la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA), se centra en el desarrollo de una metodología efectiva para aislar hongos quitinolíticos con potencial para combatir la *Pseudocercospora fijiensis*, el agente causal de la Sigatoka Negra. Este estudio resalta la importancia de integrar prácticas sostenibles en la industria bananera y se enfoca en la identificación de microorganismos con alta capacidad antagonista contra este patógeno. La metodología propuesta abarca desde la recolección de hojas de banano con lesiones maduras hasta la evaluación in vitro de los metabolitos secundarios producidos por los hongos aislados, lo cual ha permitido el aislamiento de hongos con un elevado potencial para el control biológico de la enfermedad (Carr et al., 2017).

Por otro lado, Rodríguez (2019) en su tesis "Aislamiento y selección de hongos antagonistas en plantaciones de banano (*Musa AAA*) para el combate biológico de la Sigatoka negra" aborda la necesidad de desarrollar controles biológicos efectivos contra la Sigatoka Negra, complementando las prácticas tradicionales con métodos menos perjudiciales para el medio ambiente. Moscoso et al. (2019), cita una amplia variedad de hongos candidatos a agentes de combate biológico, con un notable porcentaje presentando actividad quitinolítica. La investigación avanzó hacia la evaluación in vitro e invernadero de los metabolitos secundarios, demostrando la eficacia de ciertos tratamientos en la inhibición de la germinación de ascosporas y confirmado su eficacia biológica contra la enfermedad, lo que subraya la viabilidad de esta estrategia de control biológico (Rodríguez, 2019).

Estos estudios contribuyen significativamente al avance del conocimiento científico y tienen implicaciones prácticas importantes para la sostenibilidad de la industria bananera. La adopción de prácticas de control biológico podría conducir a una reducción notable en el uso

de agroquímicos, mitigando los impactos negativos asociados como la contaminación ambiental y la resistencia de patógenos. Este enfoque, basado en la ecología microbiana y la bioquímica de las interacciones planta-patógeno, representa un paso adelante hacia la gestión sostenible de enfermedades en cultivos agrícolas a nivel mundial.

2.2 Contenido teórico que fundamenta la investigación

2.2.1 Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*)

La Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, es una de las enfermedades más devastadoras que afecta los cultivos de banano a nivel mundial, originaria del sudeste asiático, esta enfermedad ha logrado propagarse a diversas regiones tropicales y subtropicales, amenazando la estabilidad de la industria bananera. La rápida propagación de la Sigatoka Negra se atribuye a su capacidad para sobrevivir y reproducirse en condiciones climáticas diversas. Las esporas del hongo pueden transportarse a largas distancias a través del viento y el agua, facilitando su dispersión a nuevas áreas de cultivo, esta alta capacidad de diseminación ha llevado a que la Sigatoka Negra se convierta en una preocupación constante para los productores de banano (OMC, 2020).

El impacto económico de la Sigatoka Negra en la industria bananera es significativo. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la pérdida de rendimiento en plantaciones afectadas puede alcanzar hasta un 50%., esta disminución en la producción no solo afecta a los productores, sino que también tiene repercusiones en la cadena de suministro y en los precios para los consumidores finales (Ortíz, 2021).

Además de la pérdida de rendimiento, los costos asociados con el control y manejo de la Sigatoka Negra representan una carga financiera adicional para los agricultores, la necesidad de aplicar fungicidas y llevar a cabo prácticas culturales específicas para combatir la enfermedad incrementa los costos de producción y afecta la rentabilidad de las plantaciones (Carazo, 2021).

A decir de Benavides (2019) la Sigatoka Negra, una enfermedad que afecta las plantaciones de banano, es causada por el hongo ascomicete *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, con *Pseudocercospora fijiensis* como su estado anamorfo. Clasificada en el filo Ascomycota, clase Dothideomycetes, orden Capnodiales, familia Mycosphaerellaceae, y género *Mycosphaerella*, la enfermedad presenta también su estado anamorfo en la clase Hyphomycetae. Su ciclo patológico en las plantaciones de banano requiere la presencia de ambos estados, anamorfo y

teleomorfo, para completarse, además las células sexuales llamadas ascosporas se producen en los pseudotecios (peritecios) durante la fertilización de las ascas por las espermacias, estas ascosporas, incoloras, bicelulares, ligeramente constrictas en el septo y fusiformes clavadas, miden de 11,5 a 20 μm de longitud y de 2,5 a 5,0 μm de ancho, consideradas el principal agente de diseminación de la enfermedad a largas distancias entre plantaciones, las ascosporas desempeñan un papel crucial en la propagación de la Sigatoka Negra. Adicionalmente, los conidios, células asexuales formadas sobre los conidióforos, son importantes para la diseminación local o de corta distancia en las plantaciones, estos conidios, largos y con tres o más septos de color pálido y lisos, miden de 30 a 132 μm de longitud y de 2,5 a 5 μm en su parte más ancha. La lluvia y el viento contribuyen a la dispersión de los conidios en menor magnitud.

2.2.2 Características de la Sigatoka Negra

Figura 1

Características morfológicas de la Sigatoka Negra



Fuente: (Guzmán & Paladines, 2022)

La identificación precisa de las características de la Sigatoka Negra es esencial para su diagnóstico y control efectivo, esta enfermedad afecta principalmente a las hojas de las plantas de banano, siendo sus síntomas más notorios la aparición de manchas necróticas de forma elíptica que se expanden a lo largo de las láminas foliares, estas manchas, inicialmente de color verde oscuro, evolucionan hacia un tono negro, lo que da origen al nombre de Sigatoka Negra,

el hongo *Mycosphaerella fijiensis* tiene una alta especificidad hacia el banano, lo que significa que su hospedero principal es esta planta, la infección se produce a través de la liberación de esporas que germinan en las hojas, dando lugar al crecimiento del micelio y, posteriormente, a la formación de nuevas esporas, este ciclo de vida del hongo se repite rápidamente, acelerando la propagación de la enfermedad (Quiroz, 2022).

A decir de Orozco et al., (2023) la proliferación de la Sigatoka Negra se ve favorecida por condiciones climáticas cálidas y húmedas, creando un ambiente propicio para el desarrollo del hongo., la humedad en las plantaciones, especialmente durante la temporada de lluvias, proporciona las condiciones ideales para la reproducción y dispersión de la enfermedad.

Para Manzo et al. (2005) las características morfológicas de la Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, son fundamentales para comprender su ciclo de vida y su interacción con las plantas de banano y plátano, en su estado asexual, conocido como *Pseudocercospora fijiensis*, se destacan los conidios hialinos, obclavados a cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, con 6 a 9 septos y una cicatriz en el hilum basal, los conidióforos, que emergen directamente por el estoma de manera individual o en grupos, son septados y pueden formar hasta cuatro conidios maduros. La interacción entre *Mycosphaerella fijiensis* y *Musa* spp. revela que los genotipos de las plantas muestran diferentes niveles de resistencia a la enfermedad, en donde su clasificación se basa en la respuesta a la infección, dividiendo los cultivares en altamente resistentes, parcialmente resistentes y susceptibles, se destaca que la resistencia de algunas especies de *Musa* parece estar relacionada con mecanismos de defensa postinfección, como la producción de proteínas relacionadas a la patogénesis y fitoalexinas.

En cuanto a las estrategias de control, se evidencia que el uso de fungicidas es la medida más común, pero se señala la pérdida de sensibilidad del hongo a ciertos fungicidas, se exploran alternativas como el control biológico con hongos como *Trichoderma* spp. y el desarrollo de híbridos resistentes mediante mejoramiento genético y biotecnología.

Por otra parte, La característica distintiva del banano es su tonalidad amarilla, ya que inicialmente presenta un color verde que evoluciona a medida que madura ya que este fruto presenta diversas formas, contando con hasta 1000 variedades diferentes. Como planta perenne, el banano se cultiva y cosecha a lo largo de todo el año y su capacidad para regenerarse se manifiesta mediante la sustitución de partes externas muertas por nuevos hijos que crecen desde su base, la cosecha puede realizarse aproximadamente entre 8 a 10 meses después de la siembra, la planta posee un bulbo (falso tallo) con capacidad de rebrote anual y hojas de gran tamaño, la inflorescencia da origen al racimo de banano, compuesto por manos que a su vez contienen dedos o frutos. De esta manera, esta enfermedad foliar, causada por el hongo

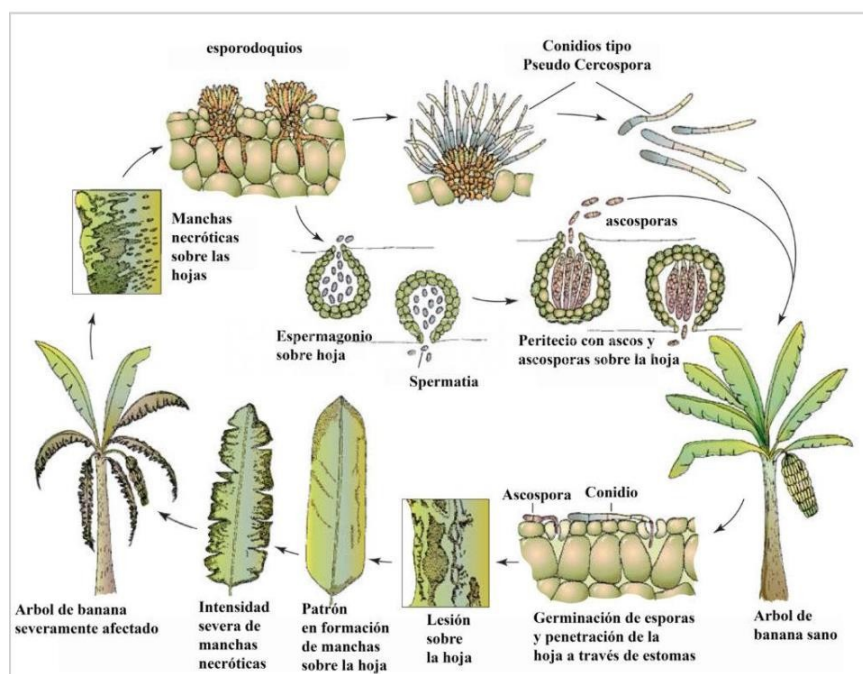
Mycosphaerella fijiensis, afecta el área foliar fotosintética, resultando en frutos más ligeros y de menor calidad, en donde la maduración de las frutas se ve comprometida, impactando negativamente en la producción (Velez, 2021).

2.2.3 Ciclo de vida de la Sigatoka Negra

La Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, representa uno de los mayores desafíos fitosanitarios en la producción bananera a nivel mundial, el comprender su ciclo de vida es esencial para desarrollar estrategias efectivas de control y mitigar su impacto devastador en los cultivos de banano (Anna, 2019).

Figura 2

Ciclo de vida de la Sigatoka negra



Fuente: (FAUBA, 2022)

- El ciclo de vida

El ciclo de vida de la Sigatoka Negra consta de varias etapas cruciales que afectan directamente al banano, comienza con la liberación de esporas en el ambiente, las cuales son fácilmente transportadas por el viento y la lluvia, estas esporas, al entrar en contacto con las hojas de banano, germinan y penetran los tejidos, dando inicio a la infección.

Las etapas subsiguientes incluyen la colonización y multiplicación del hongo en el interior de las hojas, generando nuevas esporas que perpetúan el ciclo. Este proceso se repite de manera continua, llevando a la rápida propagación de la enfermedad en plantaciones enteras. La rapidez

con la que la Sigatoka Negra puede desarrollarse y esparcirse la convierte en una amenaza constante para la producción bananera (Gómez, 2020).

- Factores ambientales que afectan el ciclo

El ciclo de vida de la Sigatoka Negra se ve fuertemente influenciado por factores ambientales. La temperatura y la humedad son condiciones propicias para su desarrollo, en regiones tropicales y subtropicales, donde estas condiciones son ideales, la enfermedad puede alcanzar niveles epidémicos, causando pérdidas significativas en la producción.

Además, la falta de variabilidad genética en las plantaciones de banano, comúnmente compuestas por clones susceptibles, contribuye a la vulnerabilidad de los cultivos ante la Sigatoka Negra, la monocultura facilita la adaptación del hongo a las condiciones locales, exacerbando la gravedad de la enfermedad (CENIBANANO, 2023).

2.2.4 Impacto de Sigatoka Negra en el rendimiento del banano

El impacto económico y alimentario de la Sigatoka Negra en los cultivos de banano es profundo y multifacético, esta enfermedad no solo reduce la cantidad de frutas disponibles para el consumo, sino que también afecta la calidad y el valor comercial del producto final (García, Marcillo, & Palacios, 2019).

- Reducción de rendimiento y pérdida de calidad

La Sigatoka Negra ataca directamente las hojas de banano, disminuyendo la capacidad de fotosíntesis de la planta. Como resultado, se reduce la producción de carbohidratos esenciales para el desarrollo de los racimos de frutas, la consecuencia más evidente es la disminución del rendimiento del banano, lo que impacta negativamente en la oferta y la demanda del mercado. Además de la reducción en la cantidad de frutas, la calidad de los racimos también se ve comprometida, las hojas afectadas presentan manchas necróticas que afectan la presentación estética del racimo. Esto no solo disminuye el valor comercial del producto, sino que también puede resultar en rechazo por parte de los consumidores y compradores internacionales, afectando la competitividad de las exportaciones (Castillo & Rodríguez, 2019).

- Costos asociados al control y manejo

El control de la Sigatoka Negra implica la aplicación regular de fungicidas, lo que representa un aumento significativo en los costos de producción, los agricultores se ven obligados a invertir en agroquímicos y métodos de manejo, elevando sus gastos operativos. Este aspecto

no solo impacta la rentabilidad de los productores, sino que también plantea preocupaciones ambientales y de salud asociadas al uso intensivo de productos químicos (Cedeño, y otros, 2021).

- Desafíos en la seguridad alimentaria

Dada la importancia global del banano como fuente alimentaria, la amenaza de la Sigatoka Negra tiene implicaciones directas en la seguridad alimentaria, la disminución en la producción de banano afecta la disponibilidad de esta fruta en mercados locales e internacionales, generando desequilibrios en la oferta y demanda de alimentos (Carr, Villalta, Rodríguez, & Guzmán, 2017).

- Estudios y estadísticas relevantes

Datos recopilados por organizaciones internacionales, como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), destacan la magnitud del impacto económico de la Sigatoka Negra en la industria bananera. Pérdidas anuales millonarias y reducciones significativas en la producción global de banano han sido reportadas en regiones clave productoras.

- Perspectivas futuras y estrategias de manejo sostenible

Ante el persistente desafío de la Sigatoka Negra, la investigación se centra en el desarrollo de estrategias de manejo sostenible, la introducción de variedades resistentes, prácticas agronómicas mejoradas y la exploración de opciones biotecnológicas prometedoras se perfilan como enfoques clave para mitigar el impacto de esta enfermedad en el banano, asegurando así la estabilidad económica y alimentaria de las comunidades dependientes de este cultivo (Orozco, Orozco, Pérez, & Manzo, 2008).

De acuerdo a Orozco & Orozco (2004) la Sigatoka Negra ha tenido un impacto significativo en el rendimiento del banano en diversas regiones de México, la primera epidemia resultó en pérdidas de producción que oscilaron entre el 50% y el 100%, acompañadas de una marcada reducción en la superficie dedicada al cultivo de banano, en áreas como Tabasco, la enfermedad causó la desaparición de 2,000 hectáreas de cultivos en la década de los 80, y en Colima, se derribaron más de 3,000 hectáreas con pérdidas estimadas en 50 mil toneladas de fruta en 1989. Para 1991, la superficie derribada se incrementó a 5,000 hectáreas, representando una reducción del 50% de la superficie cultivada por lo que el manejo de la Sigatoka Negra ha generado cambios en las prácticas de cultivo, con un énfasis en programas intensivos de aspersión de fungicidas, estos cambios han aumentado los costos de producción, estimándose que el combate contra la enfermedad representa entre un 35% y un 45% del total de costos de

producción del cultivo, además, se ha observado una tendencia hacia una mayor tecnificación del cultivo, con efectos positivos en el rendimiento y calidad del fruto por unidad de superficie. Sin embargo, el control químico predominante ha llevado a problemas ambientales y de salud humana, así como a la resistencia a fungicidas, en México se gasta anualmente alrededor de 500 millones de pesos para el combate de la Sigatoka Negra, con consecuencias ambientales y de salud pública significativas, la resistencia del hongo a algunos fungicidas ha generado la necesidad de evaluar nuevas alternativas, destacando la importancia de la investigación en biología, epidemiología, control químico y resistencia a fungicidas en la región.

2.2.5 Métodos tradicionales de control y limitaciones

En el contexto del cultivo del banano, la lucha contra enfermedades, particularmente la Sigatoka Negra causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, ha llevado al desarrollo y aplicación de métodos tradicionales de control, estos métodos, aunque han sido fundamentales en la protección de los cultivos, presentan limitaciones importantes que han impulsado la búsqueda de alternativas más efectivas y sostenibles.

- Control químico

Uno de los métodos más comunes es el control químico, que implica el uso de fungicidas para combatir la Sigatoka Negra, entre los fungicidas utilizados se encuentran el mancozeb, el propiconazol y el tebuconazol, aunque estos productos han demostrado eficacia en la reducción de la incidencia de la enfermedad, presentan limitaciones relacionadas con la resistencia del hongo a ciertos fungicidas, lo que conduce a la necesidad de rotar o combinar diferentes productos para mantener su eficacia.

- Control cultural

Otro enfoque tradicional es el control cultural, que implica prácticas agrícolas destinadas a reducir la propagación de la enfermedad, estas prácticas incluyen la eliminación y destrucción de material vegetal infectado, la rotación de cultivos y la selección de variedades de banano más resistentes, aunque este método es menos perjudicial para el medio ambiente, su eficacia puede verse afectada por la movilidad de las esporas del hongo a través del viento y la lluvia.

- Control biológico

La introducción de enemigos naturales del hongo causante de la Sigatoka Negra es una estrategia empleada en el control biológico, sin embargo, la efectividad de este método se ve limitada por la complejidad de los ecosistemas y la dificultad para establecer y mantener

poblaciones estables de organismos antagonistas. Además, la velocidad de acción puede no ser suficiente para contrarrestar rápidamente la propagación de la enfermedad en condiciones favorables para el hongo.

- Limitaciones de los métodos tradicionales

A pesar de sus beneficios, los métodos tradicionales de control presentan limitaciones considerables. La dependencia excesiva de fungicidas ha llevado al desarrollo de cepas resistentes de *Mycosphaerella fijiensis*, lo que disminuye la eficacia de estos productos. Además, el impacto ambiental de los productos químicos utilizados y la necesidad de prácticas agrícolas intensivas pueden afectar negativamente la sostenibilidad a largo plazo del cultivo del banano (Hernández, Sorí, Pérez, & Cordova, 2016).

2.2.6 Agricultura orgánica en el cultivo del banano

La agricultura orgánica se presenta como una alternativa prometedora para abordar las limitaciones y desafíos asociados con los métodos tradicionales de control de enfermedades en el cultivo del banano. Este enfoque se basa en principios que buscan la sostenibilidad, la preservación del medio ambiente y la producción de alimentos saludables. Algunos aspectos clave de la agricultura orgánica en el cultivo del banano incluyen:

- Principios de la agricultura orgánica

La agricultura orgánica se rige por principios fundamentales que incluyen la utilización de prácticas agrícolas sostenibles, la promoción de la biodiversidad, la minimización del uso de insumos químicos sintéticos y la mejora de la salud del suelo, estos principios buscan establecer un equilibrio armonioso entre el cultivo y el entorno, reduciendo la huella ambiental y preservando la calidad del suelo.

- Manejo integrado de plagas y enfermedades (MIP)

En el contexto de la Sigatoka Negra, la agricultura orgánica promueve el Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIP), este enfoque se basa en la combinación de prácticas culturales, biológicas y físicas para controlar las enfermedades. La rotación de cultivos, la introducción de organismos beneficiosos y la utilización de métodos físicos, como el uso de trampas, son estrategias comunes en el MIP.

- Uso de biofungicidas

En lugar de depender en gran medida de fungicidas químicos, la agricultura orgánica favorece el uso de biofungicidas, estos son productos biológicos que contienen microorganismos

antagonistas que actúan contra los patógenos. La aplicación de biofungicidas puede contribuir al control de la Sigatoka Negra sin los impactos negativos asociados con los fungicidas químicos.

- Fertilización orgánica y mejora de suelos

La fertilización orgánica, mediante el uso de compost, estiércol y otros materiales orgánicos, contribuye a la salud del suelo y fortalece la resistencia de las plantas a enfermedades, la mejora de la estructura del suelo y la promoción de microorganismos beneficiosos son estrategias que refuerzan la capacidad de las plantas para resistir la Sigatoka Negra.

- Desafíos de la agricultura orgánica en el cultivo del banano

Aunque la agricultura orgánica ofrece numerosos beneficios, también enfrenta desafíos en el cultivo del banano, estos incluyen la necesidad de adaptar prácticas a las condiciones específicas de las plantaciones de banano, la gestión adecuada de residuos orgánicos y la educación continua para los productores sobre las mejores prácticas (Wielemaker, 2021).

Para Orozco (2018) la importancia de implementar un manejo integrado de esta enfermedad ha llevado a la investigación de prácticas agronómicas y métodos culturales para controlar la propagación del patógeno y reducir las condiciones propicias para su desarrollo las cuales se mencionan a continuación:

- Control Cultural

El control cultural se enfoca en reducir las fuentes de inóculo del patógeno y crear condiciones desfavorables para su desarrollo, al mismo tiempo que se busca aumentar el vigor de las plantas. Las principales prácticas incluyen:

- Eliminación de hojas afectadas:

La eliminación total o parcial de hojas afectadas es una práctica fundamental. Se recomienda el deshoje sanitario, que consiste en cortar hojas afectadas y depositarlas en el suelo. Además, se sugiere el "minicomposteo", colocando hojas y plantas cosechadas en montones para acelerar la descomposición y reducir el inóculo.

- Poda temprana:

Se ha evaluado la efectividad de la "poda temprana", que implica la eliminación semanal de la punta de las hojas jóvenes durante la temporada de lluvias para prevenir la presencia de tejido foliar infectado.

- Tratamientos a la hojarasca:

La aplicación de compuestos como urea, fungicidas y otros a la hojarasca busca reducir la esporulación del hongo y acelerar su descomposición. La urea al 10% se ha destacado como una alternativa práctica.

Minicomposteo: La práctica de formar montones con desechos de plantas, incluyendo hojas, pseudotallos y plantas cosechadas, fomenta una rápida degradación, aportando nutrientes y materia orgánica al suelo.

- Limitaciones y consideraciones

Aunque estas prácticas culturales son fundamentales en el manejo integrado de la Sigatoka negra, es importante tener en cuenta ciertas limitaciones y consideraciones:

Clima:

El éxito de estas prácticas puede depender del clima de la región, especialmente la distribución de las precipitaciones y las temperaturas. Se requiere un manejo específico durante las épocas de lluvia y sequía.

- Fungicida resistencia:

La dependencia continua de fungicidas ha llevado a la resistencia del patógeno a diversos grupos químicos, lo que subraya la necesidad de alternativas y enfoques más sostenibles.

- Monitoreo continuo:

La aplicación efectiva de estas prácticas requiere monitoreo continuo de la plantación para evaluar el comportamiento de la enfermedad y ajustar las estrategias de manejo según sea necesario.

Por tal, el manejo integrado de la Sigatoka negra en bananos y plátanos se basa en prácticas culturales que buscan reducir la fuente de inóculo, mejorar las condiciones del cultivo y disminuir la dependencia de fungicidas y la implementación exitosa de estas estrategias depende de la adaptación a las condiciones climáticas locales y de un monitoreo constante para garantizar su eficacia a lo largo del tiempo.

2.2.7 Principios de la agricultura orgánica

La agricultura orgánica se fundamenta en un conjunto de principios que buscan promover la sostenibilidad ambiental, la salud del suelo y la biodiversidad, al tiempo que se aleja de los métodos convencionales que hacen uso intensivo de insumos químicos, estos principios,

reconocidos a nivel mundial, son la base sobre la cual se desarrollan las prácticas agrícolas orgánicas, proporcionando un marco ético y ambientalmente responsable para la producción de alimentos.

Principio 1: salud

El principio de salud en la agricultura orgánica se centra en la promoción de la salud de los suelos, las plantas, los animales y los seres humanos, se busca cultivar alimentos nutritivos y minimizar el uso de insumos que puedan tener efectos negativos en la salud, la prohibición de pesticidas y fertilizantes sintéticos es una característica clave de este principio, ya que se busca evitar la presencia de residuos tóxicos en los productos agrícolas.

Este enfoque holístico hacia la salud impulsa a los agricultores orgánicos a adoptar prácticas que fortalezcan la resistencia de las plantas a enfermedades y plagas mediante métodos naturales, como rotación de cultivos, asociación de cultivos y manejo adecuado de residuos.

Principio 2: ecología

La agricultura orgánica abraza el principio de ecología al reconocer la interconexión de todos los elementos en un agro ecosistema, se busca trabajar en armonía con los ciclos naturales y aprovechar los servicios ecológicos que ofrecen los organismos presentes en el entorno agrícola, la biodiversidad se promueve activamente, ya que se entiende que ecosistemas saludables contribuyen a la estabilidad y la productividad a largo plazo.

La incorporación de prácticas como la agroforestería, la siembra directa y la conservación del agua son manifestaciones concretas del compromiso con la ecología en la agricultura orgánica. Además, se busca minimizar la huella de carbono y fomentar la captura de carbono a través de prácticas que promuevan la salud del suelo.

Principio 3: justicia

La justicia, como principio fundamental, abarca aspectos sociales y éticos en la agricultura orgánica. Se enfoca en garantizar condiciones equitativas para todos los actores involucrados en la cadena alimentaria, desde los agricultores hasta los consumidores, la agricultura orgánica busca prevenir la explotación, promoviendo prácticas comerciales justas y condiciones laborales adecuadas. Los agricultores orgánicos a menudo participan en sistemas de certificación que refuerzan estos principios de justicia, asegurando que los productos orgánicos cumplan con estándares éticos y sociales, la transparencia en las prácticas de producción y la trazabilidad de los alimentos son esenciales para mantener la integridad de este principio (Cherlinka, 2021).

2.2.8 Prácticas de la agricultura orgánica

Las prácticas en la agricultura orgánica están diseñadas para poner en acción los principios mencionados, buscando la producción sostenible de alimentos sin comprometer la salud del medio ambiente ni la de los consumidores. A continuación, se explorarán algunas de las prácticas más comunes en la agricultura orgánica.

- Rotación de cultivos

La rotación de cultivos es una práctica clave en la agricultura orgánica que contribuye a la salud del suelo y ayuda a controlar plagas y enfermedades el cual consiste en alternar diferentes tipos de cultivos en una parcela de tierra en ciclos planificados. Esta técnica reduce la presión sobre el suelo y evita el agotamiento de nutrientes específicos, mejorando la fertilidad y la estructura del suelo.

- Asociación de cultivos

La asociación de cultivos es otra estrategia empleada en la agricultura orgánica para maximizar la eficiencia del espacio y mejorar la resistencia de las plantas, al combinar cultivos que interactúan de manera beneficiosa, como el maíz y las judías verdes, se logra un uso más eficiente de los recursos, y algunas plantas pueden ayudar a repeler plagas que afectan a otras.

- Compostaje y abonos orgánicos

En lugar de depender de fertilizantes químicos, la agricultura orgánica fomenta el uso de compostaje y abonos orgánicos, estos materiales no solo enriquecen el suelo con nutrientes esenciales, sino que también mejoran su estructura y retención de agua. La materia orgánica adicional en el suelo contribuye a la proliferación de microorganismos beneficiosos.

- Manejo integrado de plagas (MIP)

El Manejo Integrado de Plagas es una estrategia que busca controlar las poblaciones de plagas de manera equilibrada, minimizando el uso de pesticidas sintéticos, se promueve la introducción de enemigos naturales de las plagas, el uso de trampas y la manipulación de hábitats para mantener bajo control las poblaciones perjudiciales.

- Uso de coberturas vegetales

La implementación de coberturas vegetales, como cultivos de cobertura o mulching, es común en la agricultura orgánica., estas prácticas protegen el suelo de la erosión, mejoran su estructura y regulan la temperatura, además, las coberturas vegetales actúan como refugio para insectos beneficiosos y contribuyen al equilibrio ecológico (FHIA, 2022).

2.2.9 Beneficios de la agricultura orgánica en la producción de banano

La adopción de prácticas agrícolas orgánicas en la producción de banano ha ido ganando terreno en los últimos años, impulsada por la creciente demanda de consumidores conscientes de la salud y el medio ambiente, este enfoque se basa en la utilización sostenible de recursos naturales, evitando el uso de productos químicos sintéticos y promoviendo la biodiversidad en los sistemas agrícolas. A continuación, se explorarán los beneficios clave de la agricultura orgánica en el cultivo del banano:

Uno de los beneficios más destacados de la agricultura orgánica en la producción de banano es la reducción del impacto ambiental, los métodos convencionales de cultivo de banano a menudo implican el uso intensivo de pesticidas y fertilizantes químicos, lo que puede resultar en la contaminación del suelo y del agua. En contraste, la agricultura orgánica se centra en prácticas que minimizan la huella ecológica, utilizando fertilizantes naturales y promoviendo la salud del suelo (FAO, 2015).

La salud del suelo es un aspecto crucial para la productividad a largo plazo de las plantaciones de banano, la agricultura orgánica fomenta la rotación de cultivos y la incorporación de materia orgánica al suelo, mejorando su estructura y capacidad para retener agua y nutrientes. Esto no solo beneficia la cosecha actual, sino que también contribuye a la sostenibilidad a largo plazo de la tierra de cultivo, reduciendo la erosión y mejorando la resistencia a plagas y enfermedades (Suarez, 2024).

Además, la agricultura orgánica promueve la biodiversidad en los campos de banano. Al evitar el uso de pesticidas sintéticos, se crea un entorno propicio para organismos beneficiosos que controlan las poblaciones de plagas de manera natural, esto no solo disminuye la dependencia de productos químicos, sino que también contribuye a la salud general del ecosistema agrícola. Otro beneficio clave es la mejora de la calidad nutricional de los bananos cultivados orgánicamente, diversos estudios han demostrado que los productos orgánicos tienden a tener niveles más altos de antioxidantes y otros compuestos beneficiosos para la salud. Los consumidores que optan por bananos orgánicos no solo contribuyen a su bienestar personal, sino que también respaldan un sistema agrícola que prioriza la calidad nutricional (Julca, Meneses, Blas-Sevillano, & Bello, 2006).

Desde una perspectiva económica, la agricultura orgánica puede ofrecer beneficios a los productores de banano, aunque la transición inicial a prácticas orgánicas puede requerir inversiones y cambios en la gestión, a largo plazo, los costos de insumos químicos pueden

disminuir, y los agricultores pueden acceder a mercados premium que valoran los productos orgánicos.

2.2.10 Desafíos y oportunidades en la implementación de prácticas orgánicas

A pesar de los beneficios evidentes, la transición hacia prácticas orgánicas en la producción de banano no está exenta de desafíos significativos. Uno de los principales obstáculos es el tiempo que lleva convertir una plantación convencional en orgánica, durante este período de transición, los rendimientos pueden disminuir antes de estabilizarse, lo que puede representar una carga financiera para los agricultores (Carazo, 2021).

La gestión de plagas y enfermedades sin el uso de pesticidas sintéticos puede ser un desafío considerable en la agricultura orgánica, el control biológico y otras técnicas naturales pueden ser efectivos, pero requieren un conocimiento detallado y una planificación cuidadosa. La capacitación y el apoyo técnico son esenciales para que los agricultores adopten con éxito estas prácticas (Docampo, 2013).

La certificación orgánica es otro desafío a considerar, cumplir con los estándares establecidos por las certificadoras orgánicas puede ser un proceso complejo y costoso. Sin embargo, esta certificación es fundamental para acceder a los mercados que pagan primas por productos orgánicos, la burocracia y los costos asociados con la certificación son áreas en las que los gobiernos y las organizaciones pueden intervenir para facilitar la transición a la agricultura orgánica (Rosales, Tripon, & Cerna, 1998).

A pesar de estos desafíos, la implementación de prácticas orgánicas en la producción de banano presenta oportunidades significativas, La creciente demanda de consumidores conscientes y la disposición a pagar más por productos orgánicos brindan a los agricultores la posibilidad de diversificar sus fuentes de ingresos, La diferenciación en el mercado, junto con la posibilidad de acceder a programas de certificación y apoyo financiero, puede motivar a los productores a realizar la transición.

Además, la adopción de prácticas orgánicas puede mejorar la resiliencia de las plantaciones de banano frente al cambio climático, la gestión sostenible del suelo, la conservación del agua y la promoción de la biodiversidad son elementos clave que contribuyen a la adaptación de las plantaciones a condiciones climáticas cambiantes (Rodale, 2022).

2.2.11 Importancia del control de Sigatoka Negra en el cultivo de banano

La Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, representa una de las principales amenazas para la producción global de banano (*Musa paradisiaca*), esta enfermedad foliar afecta directamente a las hojas de la planta, comprometiendo su capacidad fotosintética y reduciendo la calidad y cantidad de la fruta el comprender la importancia del control de la Sigatoka Negra es esencial para salvaguardar la industria bananera, que desempeña un papel fundamental en la seguridad alimentaria y la economía de muchas regiones tropicales.

La propagación de la Sigatoka Negra es rápida y devastadora ya que la infección comienza con la aparición de manchas oscuras en las hojas más viejas, extendiéndose posteriormente a las hojas más jóvenes a medida que avanza la enfermedad, la reducción en la capacidad fotosintética resulta en una disminución de la producción de azúcares y, por ende, en la calidad del fruto, además, las hojas afectadas se vuelven más propensas a desgarrarse, comprometiendo la protección natural de los racimos de banano contra condiciones climáticas adversas (Carazo, 2021).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Sigatoka Negra puede causar pérdidas de hasta el 50% en la producción de banano si no se controla adecuadamente. Se estima que la industria bananera genera ingresos por más de 10 mil millones de dólares anuales a nivel mundial, lo que destaca la importancia económica de garantizar la salud de los cultivos (FAO, 2015).

La Sigatoka Negra se ha extendido a lo largo de las principales regiones productoras de banano, incluyendo América Latina, África y Asia, lo que subraya la necesidad de enfoques efectivos y globales para su control, la Sigatoka Negra no solo impacta la producción comercial, sino que también afecta a las comunidades locales que dependen de la agricultura del banano como medio de vida. La disminución de los rendimientos conduce a la pérdida de empleos y a la disminución de los ingresos, lo que a su vez puede afectar la seguridad alimentaria y el bienestar económico de las poblaciones dependientes de esta actividad (Docampo, 2013).

2.2.12 Biotecnología en la agricultura

La aplicación de la biotecnología en la agricultura ha surgido como una herramienta prometedora para abordar los desafíos asociados con enfermedades de plantas como la Sigatoka Negra, la biotecnología agrícola implica el uso de técnicas y enfoques basados en la

biología molecular y la genética para mejorar la resistencia de los cultivos a enfermedades, aumentar los rendimientos y reducir la dependencia de pesticidas químicos (OMC, 2020).

La biotecnología permite la introducción de genes específicos en las plantas para conferirles resistencia a enfermedades específicas, en el caso de la Sigatoka Negra, se buscan genes que fortalezcan el sistema inmunológico de la planta (Anna, 2019).

Desarrollo de variedades transgénicas: Investigadores en biotecnología trabajan en el desarrollo de variedades transgénicas de banano que sean resistentes a la Sigatoka Negra, estos cultivos modificados genéticamente pueden ofrecer una solución sostenible al problema (Hernández, Sorí, Pérez, & Cordova, 2016).

- Procesos biotecnológicos para el control de Sigatoka Negra

Los procesos biotecnológicos para el control de la Sigatoka Negra se centran en la búsqueda de estrategias innovadoras y respetuosas con el medio ambiente, estos procesos involucran tanto la investigación genética como la aplicación de organismos beneficiosos para prevenir y controlar la enfermedad.

- Enfoques biotecnológicos

Desarrollo de plátanos resistentes: Investigadores han logrado avances significativos en la identificación y transferencia de genes de resistencia a la Sigatoka Negra a variedades de plátanos comestibles, estos plátanos transgénicos pueden ofrecer una solución viable para reducir la vulnerabilidad de los cultivos (Orozco, Orozco, Pérez, & Manzo, 2008).

Biofungicidas: La producción de biofungicidas utilizando microorganismos beneficiosos es otra estrategia biotecnológica. La aplicación de estos agentes biológicos puede ayudar a controlar la propagación de la enfermedad sin recurrir a productos químicos agresivos (Ortíz, 2021).

- Aplicaciones de la biotecnología en el control de enfermedades en plantas

La biotecnología ha emergido como una herramienta revolucionaria en la agricultura, ofreciendo soluciones innovadoras para abordar enfermedades que amenazan los cultivos, como la temida Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*), este microorganismo, responsable de afectar severamente las plantaciones de banano (*Musa paradisiaca*), ha impulsado la búsqueda de métodos eficaces y sostenibles para su control. En este contexto, las aplicaciones de la biotecnología han demostrado ser prometedoras y están redefiniendo las estrategias de manejo de enfermedades en plantas (Castillo & Rodríguez, 2019).

- Biotecnología en el control de enfermedades

La biotecnología, que implica el uso de organismos vivos o sus productos para desarrollar soluciones tecnológicas, ha encontrado su nicho en el control de enfermedades en plantas, en particular, las técnicas de ingeniería genética, la obtención de híbridos resistentes y la producción de compuestos biológicos específicos han marcado hitos significativos en este campo (Suarez, 2024).

- Ingeniería genética y resistencia vegetal

La ingeniería genética ha permitido la introducción de genes específicos en las plantas para conferir resistencia a enfermedades, en el caso de la Sigatoka Negra, se han identificado genes que pueden potenciar la resistencia de las plantas de banano. La inserción de estos genes en el genoma de las plantas mediante técnicas de transgénesis ha generado cultivos capaces de defenderse eficientemente contra el patógeno.

- Obtención de híbridos resistentes

La obtención de híbridos resistentes mediante cruzamiento selectivo también ha sido una estrategia eficaz, al identificar variedades de banano que presentan cierta resistencia natural a la Sigatoka Negra, los fitomejoradores han trabajado en desarrollar híbridos que conserven las características deseables de la planta y, al mismo tiempo, posean una resistencia mejorada frente a esta enfermedad.

- Producción de compuestos biológicos

La producción de compuestos biológicos específicos, como péptidos antimicrobianos y proteínas con actividad anti fúngica, se ha convertido en un enfoque relevante en el control de enfermedades en plantas, estos compuestos, derivados tanto de fuentes naturales como de la ingeniería genética, pueden actuar directamente sobre el patógeno, proporcionando una defensa efectiva contra la Sigatoka Negra sin recurrir a productos químicos sintéticos (Wielemaker, 2021).

CAPÍTULO III: Diseño metodológico

3.1 Tipo y diseño de investigación

3.1.1 Tipo

La investigación aquí propuesta es de carácter experimental, en este caso, se planteó la implementación de un protocolo integral que incluyó la manipulación de variables como la aplicación de soluciones biotecnológicas, la inoculación in vitro de plántulas de banano con Sigatoka Negra, y la evaluación de diferentes estrategias de control. La investigación busca no solo describir fenómenos, sino también probar hipótesis y obtener conclusiones causales sobre la eficacia de las soluciones biotecnológicas propuestas.

3.1.2 Diseño de Investigación

Para la investigación propuesta, se aplicó un diseño experimental de grupos pretest-postest con grupo de control, bajo el siguiente esquema T1 (Testigo); T2 (Consortio Microbiano); T3 (Extracto de Cúrcuma), Este diseño permitió evaluar el efecto de una intervención al comparar dos grupos: uno que recibe la intervención como grupo experimental y otro que no la recibe grupo de control. (Orozco-Santos et al. 2008)

➤ Grupo Experimental

Este grupo estaría compuesto por las plántulas de banano que son sometidas al protocolo integral de soluciones biotecnológicas microorganismos en competencia y extractos hidroetanolicos, Se realizaron mediciones (pre test) antes de la aplicación de la intervención y mediciones adicionales (pos test) después de la implementación del protocolo.

➤ Grupo de Control

El grupo de control formado por plántulas de banano que no reciben la intervención biotecnológica. Al igual que en el grupo experimental, se realizaron mediciones iniciales (pre test) y mediciones posteriores (pos test).

➤ Implementación del Protocolo Integral:

Se aplicó el protocolo integral, que incluye el aislamiento de Sigatoka Negra, la inoculación in vitro, y el control biotecnológico, en el grupo experimental.

➤ Mediciones y Evaluaciones:

Se llevaron a cabo mediciones sistemáticas y evaluaciones en ambas etapas (pre test y pos test) para cuantificar la incidencia de Sigatoka Negra, la respuesta de las plantas de banano, la eficacia de los agentes antagonistas, tanto en la fase in vitro como en la fase controlada

➤ Análisis Comparativo

Se realizó un análisis comparativo entre el grupo experimental y el grupo de control para determinar el impacto de la intervención biotecnológica.

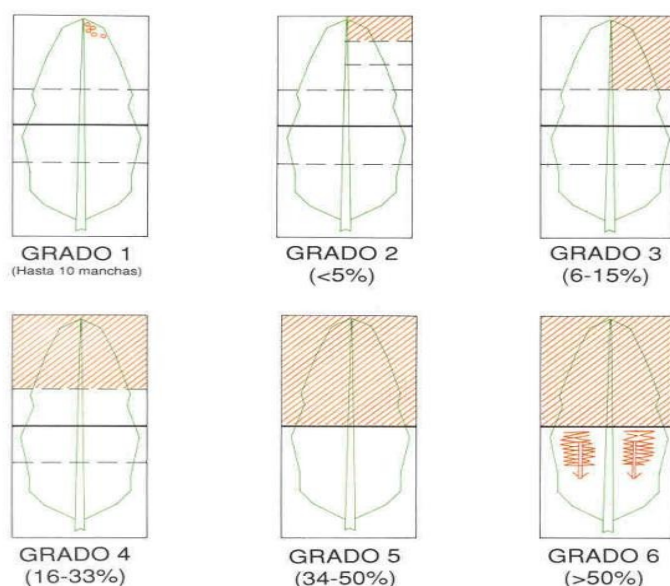
Este diseño permitió evaluar de manera robusta la implementación del protocolo integral si tiene un efecto significativo en comparación con un grupo de control no tratado, ayudando así a establecer conclusiones causales sobre la eficacia de las soluciones biotecnológicas propuestas.

➤ Evaluación de Sigatoka Negra

Para la evaluación de Sigatoka tanto en campo como en laboratorio se utilizó el método Stover que proporciona un enfoque sistemático para evaluar la gravedad y la propagación de la Sigatoka Negra conforme a su grado de infección como indica la Figura 3, lo que permite como investigadores tomar decisiones informadas sobre el manejo de enfermedades y las estrategias de control. El método Stover involucra varios aspectos como estudiar el comportamiento de la Sigatoka negra en regiones específicas (Martins et al., 2016).

Figura 3

Severidad de Sigatoka Negra



FUENTE: (Martins et al., 2016)

3.2 La población y la muestra

3.2.1 Características de la población

La población objeto de este estudio está constituida por las plantaciones de banano en la provincia del Guayas, Ecuador, teniendo presente que las condiciones climáticas de la

provincia son similares, con un enfoque específico en una finca ubicada en el cantón Milagro, parroquia Mariscal Sucre. Dicha finca tiene un área total de 25 hectáreas destinadas al cultivo de banano

3.2.2 Delimitación de la población

La población se delimita a las 25 hectáreas de la finca ubicada en el cantón Milagro, parroquia Mariscal Sucre. Esta delimitación se selecciona para concentrar los esfuerzos de investigación en un área específica, permitiendo una mayor precisión en la recolección de datos y una representación más detallada de las condiciones de cultivo en esa localidad

3.2.3 Tipo de muestra

Se empleó un muestreo por conveniencia, seleccionando la finca en el cantón Milagro como la ubicación de estudio debido a su accesibilidad y disponibilidad. Además, se utilizó un muestreo no probabilístico para la selección de las plantas de banano en estudio, tomando en cuenta su accesibilidad y la homogeneidad en las condiciones de cultivo, para la selección de las plantas enfermas y el traslado de su material foliar al laboratorio.

3.2.4 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se determinó considerando la viabilidad de llevar a cabo las mediciones y evaluaciones propuestas en el protocolo integral de forma in vitro. Se seleccionaron 15 plántulas de banano de un vivero ubicado en el Cantón El Triunfo de la variedad Cavendish. Este tamaño de muestra se elige para equilibrar la representatividad de los datos con la factibilidad logística y los recursos disponibles, permitiendo obtener resultados significativos y aplicables a la población objetivo. La muestra se considera adecuada para alcanzar los objetivos del estudio y obtener conclusiones válidas sobre la eficacia de las soluciones biotecnológicas en el control de la Sigatoka Negra en condiciones específicas de cultivo.

3.2.5 Proceso de selección de la muestra

Para la selección de los individuos experimentales en estudio, estos eran plántulas de aproximadamente 45 días producidas en laboratorio lo que garantiza que fueron plantas libres de enfermedades e insectos plagas, la variedad en uso fue el Cavendish ampliamente distribuida en el país (Quiroz & Nava 2021).

3.3 Los métodos y las técnicas

3.3.1 Fase de campo

La metodología de muestreo de hojas con Sigatoka en campo comprendió los siguientes pasos:

1. Selección de Sitios de Muestreo: Se identificó y selecciono sitios representativos en la

plantación de banano donde se sospechaba la presencia de mayor incidencia de Sigatoka Negra. Para la selección se consideró la variabilidad espacial y las condiciones ambientales relevantes.

2. Técnica de Recolección: Se empleó técnicas de muestreo no destructivas para recolectar hojas afectadas por Sigatoka Negra. Esto incluyó la selección de hojas en diferentes estados de desarrollo y de diferentes partes de la planta para obtener una muestra representativa.

3. Registro de Datos: Se registró información detallada sobre la ubicación de cada muestra, el estado de la hoja, la severidad de la infección por Sigatoka negra e información considerada relevante para el efecto del estudio.

4. Análisis de Muestras: Una vez las muestras en el laboratorio se realizó un análisis más detallado, que incluyó la severidad del ataque.

3.3.2 Fase de laboratorio

3.3.2.1 Aislamiento de los microorganismos en estudio

➤ Sigatoka Negra

Para el aislamiento de Sigatoka Negra se probaron tres medios de cultivo diferentes; Agar PDA, Agar Nutriente, Agar Sabouraud elaborando 10 placas por cada uno y se procedió a la siembra.

Protocolo de Siembra

- Selección del área foliar afectada con el hongo
- Limpieza del área seleccionada con alcohol al 70%
- Desinfección con hipoclorito de sodio al 3% del material seleccionado durante 1min
- Realizar un corte de 1,5cm x 1,5cm con bisturí estéril
- El material cortado colocarlo en los medios de cultivo previamente elaborados con el envés hacia abajo y sellar
- Incubar a 30°C hasta obtener crecimiento.

Posterior a la siembra se procedió con la evaluación recurrente durante 10 días utilizando modelos matemáticos para definir la velocidad de crecimiento estudios previos indicaron que el modelo de Baranyi muestra un mejor comportamiento en comparación con el modelo de Gompertz y el modelo logístico según Vanegas & Ramírez (2016), lo que sugirió que el modelo de Baranyi fue el más adecuado para describir el crecimiento de los microorganismos en estudio, expuestos en esta investigación.

➤ Consorcio Microbiano

Para aislamiento del consorcio microbiano se empleó el método de sedimentación pasiva para este efecto se buscó los enemigos naturales propios de *Mycosphaerella fijiensis* en su ecosistema natural este método se ha empleado para realizar el muestreo microbiológicos de

ambientes específicos (Tolosa-Moreno et al., 2017). La sedimentación por gravedad también se ha utilizado como un método común de recolección de biomasa, lo que demuestra su eficacia en la captura de microorganismos (Hernández-Pérez & Labbé, 2014), se utilizó el siguiente protocolo para la captura

Protocolo de captura

- Elaboración de medio de cultivo general PDA
- Colocar el microorganismo previamente aislado en las placas
- Se colocó una repisa en el psudotallo de la planta a una altura 0,60m sobre el nivel del suelo
- Se coloca las placas con el microorganismo sobre las repisas previamente establecidas en un área de 400m²
- Tiempo de exposición 8 horas continuas
- Posteriormente incubación por 3 días a 30°C
- Evaluación de crecimientos hasta los 45 días

Una vez que se obtuvo los microorganismos de manera natural por el método de sedimentación se procedió a realizar los respectivos aislamientos en medios de cultivo para su secuenciación

3.3.2.2 Obtención de extractos

Realizada la revisión bibliográfica se plantea como objeto de estudio colocar a prueba extractos hidroetanolicos a base Cúrcuma (*Cúrcuma longa*), investigaciones han confirmado el efecto anti fúngico del aceite esencial extraído de cúrcuma, asociándolo a su alto contenido en sesquiterpenos (Velasco et al., 2017), con este antecedente se planteó el siguiente protocolo para la extracción

Protocolo de extracción

- Preparación del material 200g de cúrcuma en pedazos de aprox 0,5cm
- Elaboración de la bolsa de té con la ayuda de una tela tipo lienzo
- Se coloca la bolsa con el material de interés dentro de la pieza de recirculación del equipo Soxhlet
- Se coloca el solvente, etanol al 96% dentro del balón en un volumen total de 500ml
- Se procede a realizar la recirculación durante 8horas.
- Culminada la recirculación se obtienen dos sustancias aceites esenciales y extractos hidroetanolicos
- Se procede a realizar la valoración cualitativa y cuantitativa del extracto por el método de radical libre DPPH

Con los extractos obtenidos se procedió a realizar un tamizaje fitoquímico, con los siguientes ensayos:

- Mayer y Wagner determinación de alcaloides
- Liebermann – Burchard determinación triterpenos o esteroides
- Espuma determinación de Saponinas
- Ensayo férrico determinación de fenoles y taninos utilizando el sistema de cruces para criterio de medida

3.3.2.3 Control in vitro

Con nuestros microorganismos aislados e identificados morfológicamente y los extractos validados cualitativamente se procedió a la fase de control in vitro donde logramos evaluar el crecimiento del microorganismo de interés sujeto a medios de control mediante el siguiente protocolo.

Protocolo de control *in vitro*, evaluación de la velocidad de crecimiento o inhibición

1. Elaboración de medio de cultivo PDA conforme a especificaciones de fábrica (MARCA TITAN).
2. Desinfección de espacio de trabajo con amonio cuaternario al 5%, se dio tratamiento a toda la cámara de flujo.
3. Se procede a inocular el medio de cultivo con el consorcio microbiano dejando un espacio central de aproximadamente 0,5x0,5cm para colocar el inóculo del patógeno en estudio. (Realizado en cámara de flujo laminar)
4. Se coloca las placas sembradas en una incubadora a 30° C
5. Se procede con las evaluaciones durante 10 días, primera evaluación 48 horas post siembra.
6. Evaluación de velocidad de crecimiento mediante el método Baranyi.
7. Repetición paso 1;2
8. Se procede a inocular el medio con el extracto hidroetanolicos de cúrcuma dejando un espacio central 0,5x0,5cm para colocar el inóculo del patógeno en estudio. (Realizado en cámara de flujo laminar)
9. Se coloca las placas sembradas en una incubadora a 30° C
10. Se procede con las evaluaciones durante 9 días, primera evaluación 48 horas post siembra.
11. Evaluación de velocidad de crecimiento mediante el método Baranyi.

3.3.2.4 Fase de cultivo controlado

Aunque no se encontraron referencias específicas sobre la inoculación de la Sigatoka Negra, se consideraron los siguientes pasos basados en la literatura revisada:

1. Preparación del inóculo: Se obtuvo cultivos puros del hongo causante de la Sigatoka negra, *Mycosphaerella fijiensis*, y se preparó una suspensión de esporas viables en una solución estéril DH₂O.
2. Selección de plantas y condiciones de crecimiento: Se utilizaron plantas de banano sanas y uniformes para la inoculación. Las plantas estaban estado de crecimiento óptimo y libres de enfermedades variedad utilizada Cavendish.
3. Inoculación: Se aplicó la suspensión de esporas del hongo sobre las hojas de las plantas de banano. Se utilizó un método de inoculación por aspersión.
4. Condiciones de crecimiento post-inoculación: Después de la inoculación, se mantuvo las plantas en condiciones óptimas de humedad y temperatura para favorecer el desarrollo del hongo.
5. Evaluación de la infección: Se realizó un seguimiento periódico de las plantas inoculadas para evaluar la presencia y extensión de la infección por el hongo. Esto incluyó la observación de síntomas característicos de la Sigatoka Negra en las hojas de las plantas evaluadas por metodología Stover modificado.

Este protocolo se basa en la literatura revisada sobre la inoculación de patógenos en plantas y fue adaptado específicamente para la inoculación de *Mycosphaerella fijiensis* en plantas de banano para su estudio de resistencia y patogenicidad. (Delgadillo-Duran et al. 2020)

Posterior a la inoculación del patógeno se procedió con la fase de control siguiendo el proceso descrito a continuación:

1. Para la aplicación de los extractos estos fueron colocados en una relación 10:100, extracto de cúrcuma/agua destilada estéril, buscando un enfoque económico para producción masiva. Aplicación por atomización
2. Para la aplicación del consorcio microbiano estos fueron aplicados en una concentración 2x10⁸ (UFC) x cc en solución de melaza al 1% como solución concentrada esto diluido en 100ml de DH₂O Aplicación por atomización
3. Posterior se verifico la cobertura del producto y se evaluó con la escala de severidad siguiendo el método Stover modificado.

3.3.2.5 Secuenciación de los productos de interés

Se realizó una secuenciación de alto rendimiento, es una técnica altamente aplicable para la elaboración de perfiles taxonómicos utilizando secuenciación masiva paralela de la región ITS (Palomino-Camargo & González-Muñoz, 2014), método aplicado para la identificación de *Mycosphaerella fijiensis*, análisis suministrado por Laboratorios IDGEN.

Estas técnicas moleculares, incluida la secuenciación del ARN ribosomal 16S y la PCR, complementan los métodos fenotípicos tradicionales y son cruciales para la identificación de microorganismos (Camacho-Luque et al., 2015), razón por la cual se utilizó el marcador 16S ribosomal para la caracterización del consorcio microbiano, básicamente conformado por bacterias según la caracterización morfológica realizada previamente, análisis suministrado por BIOSEQUENCE

3.4 Procesamiento estadístico de la información.

Se utilizó el software IBM SPSS Statistics (IPSS) versión 2021 realizando los siguientes análisis.

Análisis Descriptivo, para tener una comprensión inicial de la distribución de los datos y las tendencias observadas.

Análisis de Varianza (ANOVA), Ya que la investigación incluye comparaciones entre varios grupos y 15 unidades experimentales en estudio, ANOVA es una opción adecuada para realizar análisis de varianza para determinar si hay diferencias significativas entre los grupos.

Pruebas de Significación Estadística, para aplicar pruebas de significancia estadística usando la prueba t de Student.

Análisis de Regresión, con la finalidad de examinar las relaciones causales entre variables, el análisis de regresión es útil para evaluar cómo una variable predictora (o varias) se relacionan con las variables de resultado específica.

4 CAPÍTULO IV: Análisis e interpretación de resultados

4.1 Análisis de los resultados

4.1.1 Determinación del medio para aislamiento

Para la determinación del medio ideal de crecimiento se consideran dos medios de cultivo para el análisis de resultados, donde se comparó la velocidad real de invasión en medio de cultivo en caja de 100x20mm con el modelo matemático de Baranyi con los siguientes resultados:

Tabla 2

Mycosphaerella fijiensis crecimiento diario (mm²) PDA

| | (mm ²) PDA | | | | | | | | |
|---------|------------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | DIA 1 | DIA 2 | DIA 3 | DIA 4 | DIA 5 | DIA 6 | DIA 7 | DIA 8 | DIA 9 |
| REP. 1 | 90,76 | 159,04 | 430,79 | 1026,38 | 2206,19 | 2922,47 | 4212,96 | 5410,62 | 6539,68 |
| REP. 2 | 110,66 | 171,57 | 380,13 | 962,12 | 2123,72 | 2827,44 | 4247,55 | 5443,26 | 6569,82 |
| REP. 3 | 80,91 | 173,67 | 380,13 | 973,70 | 2123,72 | 2827,44 | 4185,40 | 5410,62 | 6698,30 |
| REP. 4 | 99,40 | 176,72 | 433,74 | 1075,21 | 1971,36 | 2720,09 | 4170,50 | 5410,62 | 6792,92 |
| REP. 5 | 100,64 | 181,70 | 423,10 | 1075,21 | 2042,83 | 2827,44 | 4185,40 | 5443,26 | 6792,92 |
| REP. 6 | 92,80 | 171,57 | 415,48 | 1134,12 | 2329,41 | 3043,47 | 4417,88 | 5647,84 | 6771,03 |
| REP. 7 | 114,99 | 201,06 | 503,52 | 1091,55 | 2123,72 | 2922,47 | 4217,57 | 5541,78 | 6939,79 |
| REP. 8 | 111,59 | 201,06 | 490,88 | 1066,51 | 2042,83 | 2944,55 | 4185,40 | 5410,62 | 6920,61 |
| REP. 9 | 81,87 | 190,16 | 486,56 | 1026,38 | 2206,19 | 3049,34 | 4300,85 | 5541,78 | 7088,24 |
| REP. 10 | 92,80 | 197,81 | 455,03 | 1032,06 | 2206,19 | 3117,25 | 4484,09 | 5734,76 | 7088,24 |
| | 97,64 | 182,43 | 439,94 | 1046,32 | 2137,62 | 2920,20 | 4260,76 | 5499,52 | 6820,16 |

Nota; Mediciones en mm² del crecimiento de micelio día y repetición

Tabla 3

Promedio de invasión del micelio PDA

| DIAS | Promedio de invasión | | | | | |
|------|----------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| | AREA (mm2) | AREA (cm2) | V. INST | V | V-Vinst | E. Cuadr. |
| 1 | 97,644156 | 0,97644156 | 0,97644156 | 1,0386898 | 0,06224824 | 0,00387484 |
| 2 | 182,434377 | 1,82434377 | 0,91217189 | 1,18468858 | 0,27251669 | 0,07426535 |
| 3 | 439,936304 | 4,39936304 | 1,46645435 | 1,48580591 | 0,01935156 | 0,00037448 |
| 4 | 1046,32343 | 10,4632343 | 2,61580857 | 2,00015005 | -0,61565852 | 0,37903541 |
| 5 | 2137,61545 | 21,3761545 | 4,2752309 | 2,71314582 | -1,56208509 | 2,44010981 |
| 6 | 2920,19841 | 29,2019841 | 4,86699735 | 3,55416138 | -1,31283597 | 1,72353828 |
| 7 | 4260,75872 | 42,6075872 | 6,08679817 | 4,45881463 | -1,62798355 | 2,65033043 |
| 8 | 5499,51747 | 54,9951747 | 6,87439684 | 5,39092089 | -1,48347596 | 2,20070091 |
| 9 | 6820,15567 | 68,2015567 | 7,57795075 | 6,33412569 | -1,24382506 | 1,54710078 |
| | | | | | | 11,0193303 |

Nota; Promedios en base a 10 repeticiones evaluadas en 9 días

Tabla 4Mycosphaerella fijiensis crecimiento diario (mm²) AGAR NUTRIENTE

| | (mm²) AGAR NUTRIENTE | | | | | | | | |
|----------------|--|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | DIA 1 | DIA 2 | DIA 3 | DIA 4 | DIA 5 | DIA 6 | DIA 7 | DIA 8 | DIA 9 |
| REP. 1 | 48,40 | 99,40 | 227,25 | 458,06 | 1076,38 | 2042,83 | 2922,47 | 3848,46 | 4890,52 |
| REP. 2 | 61,51 | 113,10 | 206,37 | 444,88 | 855,82 | 1983,18 | 2868,11 | 3685,29 | 4493,60 |
| REP. 3 | 63,62 | 105,14 | 245,22 | 454,66 | 1184,81 | 1995,04 | 2642,09 | 3318,32 | 4233,70 |
| REP. 4 | 50,27 | 95,03 | 236,42 | 407,57 | 479,55 | 2720,09 | 3019,08 | 3940,26 | 4300,85 |
| REP. 5 | 48,40 | 87,91 | 233,71 | 477,23 | 821,43 | 2827,44 | 3619,95 | 3831,98 | 4266,05 |
| REP. 6 | 78,54 | 113,10 | 208,67 | 465,30 | 1096,82 | 3043,47 | 4417,88 | 4686,92 | 5026,56 |
| REP. 7 | 63,62 | 99,40 | 205,87 | 500,74 | 1301,65 | 3043,47 | 3421,20 | 4071,51 | 4977,67 |
| REP. 8 | 38,48 | 78,54 | 226,98 | 458,06 | 765,52 | 2944,55 | 3117,25 | 3908,07 | 4488,84 |
| REP. 9 | 38,48 | 78,54 | 176,72 | 419,10 | 638,39 | 1928,32 | 2290,23 | 3019,08 | 3756,65 |
| REP. 10 | 53,46 | 103,87 | 207,91 | 363,05 | 1141,29 | 2290,23 | 2827,44 | 3959,20 | 4995,19 |
| | 54,48 | 97,40 | 217,51 | 444,86 | 936,17 | 2481,86 | 3114,57 | 3826,91 | 4542,96 |

Nota; Mediciones en mm² del crecimiento de micelio día y repetición**Tabla 5**

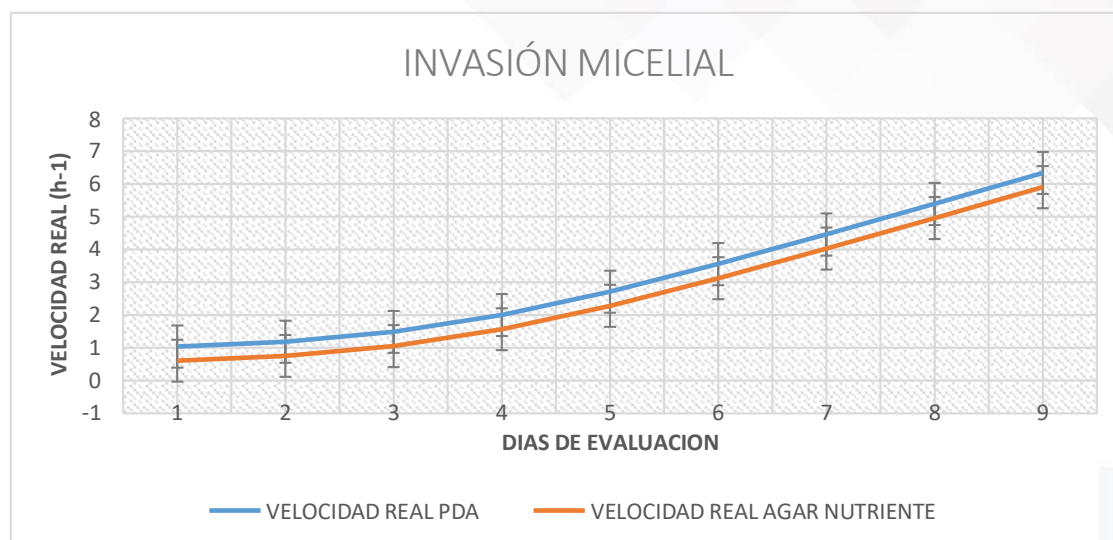
Promedio de invasión mycelial AGAR NUTRIENTE

| | Promedio de invasión | | | | | |
|-------------|-----------------------------|-------------------|----------------|------------|----------------|------------------|
| DIAS | AREA (mm2) | AREA (cm2) | V. INST | V | V-Vinst | E. Cuadr. |
| 1 | 54,4777002 | 0,544777 | 0,544777 | 0,60717459 | 0,06239758 | 0,00389346 |
| 2 | 97,4034466 | 0,97403447 | 0,48701723 | 0,75317336 | 0,26615613 | 0,07083909 |
| 3 | 217,511159 | 2,17511159 | 0,72503863 | 1,05429069 | 0,32925206 | 0,10840692 |
| 4 | 444,864509 | 4,44864509 | 1,11216127 | 1,56863483 | 0,45647356 | 0,20836811 |
| 5 | 936,166146 | 9,36166146 | 1,87233229 | 2,2816306 | 0,40929831 | 0,16752511 |
| 6 | 2481,86285 | 24,8186285 | 4,13643809 | 3,12264617 | -1,01379192 | 1,02777406 |
| 7 | 3114,56944 | 31,1456944 | 4,44938491 | 4,02729941 | -0,4220855 | 0,17815617 |
| 8 | 3826,90984 | 38,2690984 | 4,7836373 | 4,95940567 | 0,17576837 | 0,03089452 |
| 9 | 4542,96285 | 45,4296285 | 5,0477365 | 5,90261047 | 0,85487397 | 0,7308095 |
| | | | | | | 2,52666693 |

Nota; Promedios en base a 10 repeticiones evaluadas en 9 días

Figura 4

Invasión del micelio, velocidad real de crecimiento



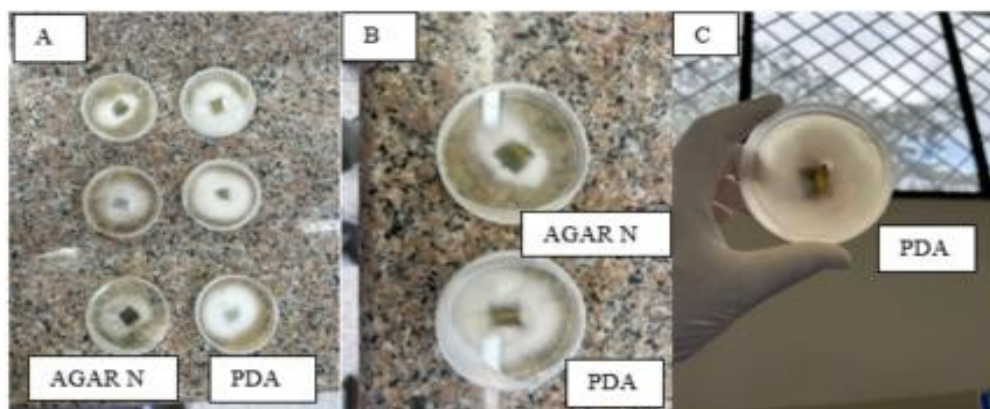
Nota; La velocidad real de crecimiento en el modelo de Baranyi, a menudo denominada tasa de crecimiento instantánea, se expresa en unidades de inverso de tiempo, típicamente en h^{-1} (horas al inverso)

Fuente: (Los Autores)

Con estos resultados, aunque no muy distantes, pero con diferencias notables se selecciona para la continuidad del ensayo el medio de cultivo PDA, por mejores resultados en la velocidad instantánea de crecimiento, volviéndolo ideal para ensayos de antagonismo para *Mycosphaerella fijiensis*, figura 5

Figura 5

Ensayo de crecimiento



Nota: (A, B) Comparación de crecimiento Agar Nutriente y PDA 8 días de evaluación, (C) 9 días de evaluación medio PDA.

4.1.2 Productos biotecnológicos

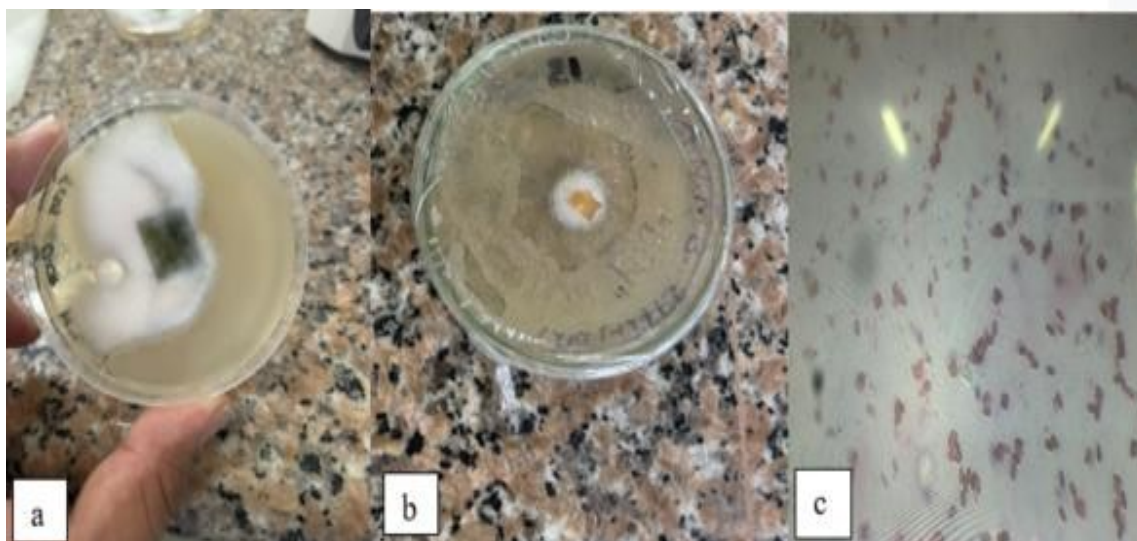
Siguiendo los protocolos descritos en la metodología se lograron los siguientes resultados

➤ Consorcio microbiano

Posterior a la captura de los microorganismos de interés por el método de sedimentación pasiva con entorno específico en plantaciones bananeras y una vez demostrado el antagonismo del consorcio bacteriano por un periodo de 21 días de la captura *in situ* figura 6(A) se procede a la réplica *in vitro*, la evaluación se la realizó durante 15 días en incubación a 30°C figura 6(B), posteriormente se pudo caracterizar morfológicamente figura 6(C) y a nivel molecular con los siguientes hallazgos; *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, Laboratorios BIOSEQUENCE, responsable de identificación molecular figura 7.

Figura 6

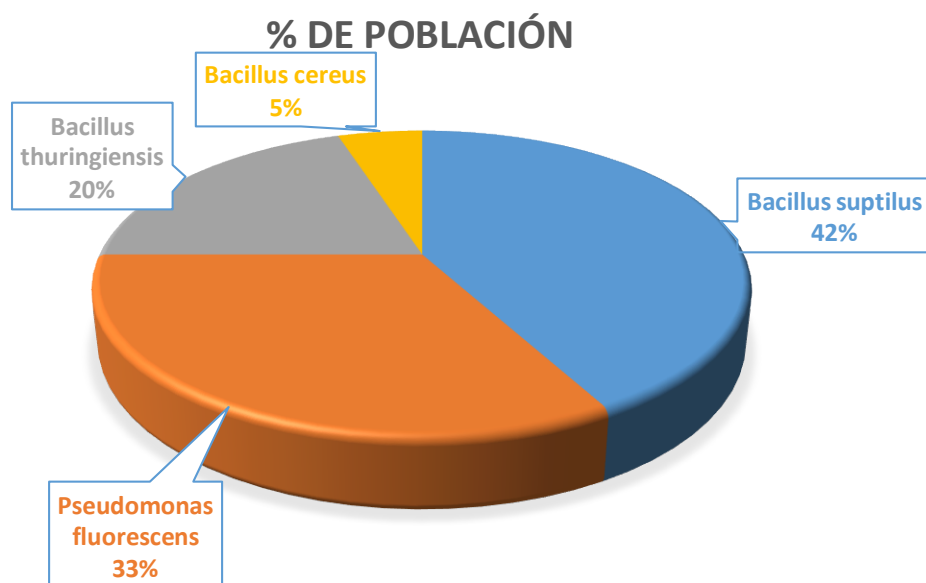
Antagonismo e identificación



Nota, (a) Antagonismo de la captura *in situ*, (b) Réplica *in vitro*, (c) Identificación morfológica 100x.

Figura 7

Diagrama de distribución de población por caracterización molecular



Fuente: (Responsable de identificación BIOSEQUENCE)

➤ **Extracto de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*)**

Una vez obtenido los extractos hidroetanolicos al 50% con una relación de 10ml del extracto por 90 ml de DH₂O se realizó el ensayo de antagonismo de sustancias, donde se logró un control hasta 15 días disminuyendo su velocidad inst y velocidad de crecimiento real en comparación a los grupos de control Tabla 2 y Tabla 5, posterior a los 15 días entre 16 y 21 días las placas fueron colonizadas por el patógeno, figura 8

Tabla 6

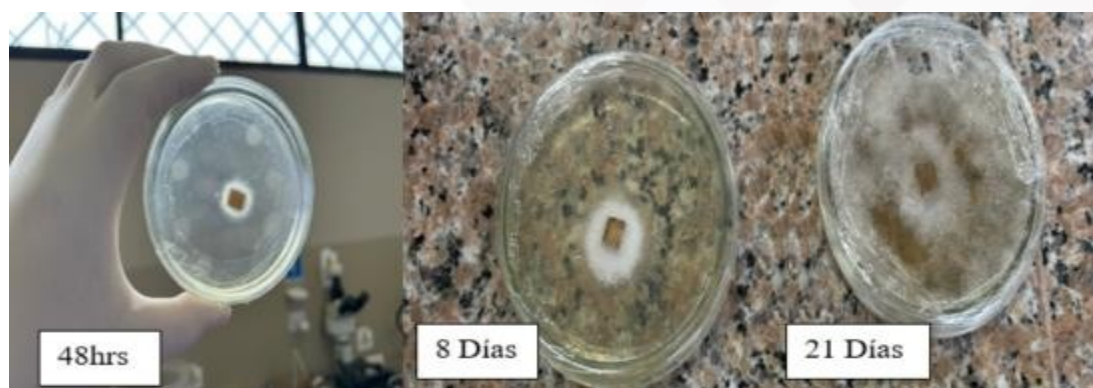
Datos de inhibición de crecimiento con Cúrcuma

| Velocidad de crecimiento con sustancia opositora, extracto de Cúrcuma | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| DIAS | AREA (mm2) | AREA (cm2) | V. INST | V | V-Vinst | E. Cuadr. |
| 1 | 124,96 | 1,24959316 | 1,24959316 | 1,38015818 | 0,13056503 | 0,01704723 |
| 2 | 329,37 | 3,29365423 | 1,64682711 | 1,51825928 | -0,12856783 | 0,01652969 |
| 3 | 446,96 | 4,46961778 | 1,48987259 | 1,66291309 | 0,1730405 | 0,02994301 |
| 4 | 741,11 | 7,41108545 | 1,85277136 | 1,81348904 | -0,03928232 | 0,0015431 |
| 5 | 1081,38 | 10,8137804 | 2,16275607 | 1,96935423 | -0,19340184 | 0,03740427 |
| 6 | 1291,19 | 12,9118846 | 2,15198076 | 2,12989365 | -0,02208711 | 0,00048784 |
| 7 | 1614,44 | 16,1443546 | 2,30633637 | 2,2945253 | -0,01181107 | 0,0001395 |
| 8 | 2008,95 | 20,0894709 | 2,51118387 | 2,46271036 | -0,04847351 | 0,00234968 |
| 9 | 2316,13 | 23,1613185 | 2,57347984 | 2,63395902 | 0,06047918 | 0,00365773 |
| 10 | 2717,33 | 27,1733443 | 2,71733443 | 2,80783281 | 0,09049838 | 0,00818996 |
| 11 | 3234,09 | 32,3409251 | 2,9400841 | 2,98394416 | 0,04386005 | 0,0019237 |
| 12 | 3742,88 | 37,4287891 | 3,11906575 | 3,16195416 | 0,0428884 | 0,00183942 |
| 13 | 4286,40 | 42,8640264 | 3,2972328 | 3,3415691 | 0,04433629 | 0,00196571 |
| 14 | 4850,84 | 48,5083817 | 3,46488441 | 3,52253631 | 0,05765191 | 0,00332374 |
| 15 | 5808,82 | 58,088184 | 3,8725456 | 3,70463983 | -0,16790577 | 0,02819235 |
| | | | | | | 0,15453693 |

Nota; Promedios en base a 10 repeticiones evaluadas en 15 días

Figura 8

Antagonismo de sustancias



Nota; Tiempos de efectividad del extracto en 48 hrs, 8-21 días

Una vez verificado como extracto viable se procede a la caracterización mediante un tamizaje fotoquímico con los métodos descritos anteriormente, donde se obtienen los siguientes resultados por cada 200g de producto.

Figura 9

Resultado de análisis fitoquímico

| CONDICIONES DEL ANALISIS | | | | |
|---|----------------------|-------------------|---------------------------------|--------|
| Temperatura (°C) | 25,2 | Humedad (%) | 65.0 | |
| Fecha de Inicio de Análisis | 30-01-2024 | | | |
| Fecha de Finalización del análisis | 02-02-2024 | | | |
| RESULTADOS | | | | |
| CODIGO CLIENTE | PARAMETROS | METODO RRFERENCIA | RESULTADOS | Unidad |
| Extrato hidroalcohólico de cúrcuma al 50% | Tamizaje Fitoquímico | | TIPO EXTRACTO | |
| | | | Triterpenos/Esteroles | |
| | | | Reactivo Liebermann-Burchard | + |
| | | | Alcaloides | |
| | | | Reactivo Mayer | + |
| | | | Reactivo Wagner | + |
| | | | Reactivo Dragendorff | + |
| | | | Flavonoides/Antocianinas | |
| | | | Prueba Shinoda | + |
| | | | Taninos/Fenoles | |
| | | | Cloruro férrico | + |
| | | | Azucres Reductores | |
| | | | Fehling | + |
| | | | Saponinas | |
| | | | Espuma | + |
| Aminoácidos | | | | |
| Ninhidrina | + | | | |

Fuente (Laboratorios SSV CONSULTING, responsable de análisis)

4.1.3 Ensayo con plántulas

Con los resultados de la fase in vitro se dio inicio a la fase de infección de plántulas bajo condiciones controladas partiendo de materiales libre del patógeno con una muestra de 15 individuos en tres tratamientos para infectarlo con el microorganismo aislado e identificado previamente y posteriormente se inició el control en plántulas con los siguientes resultados:

Tabla 7

Porcentajes de infección de inicio previo aplicación de productos

| P | % de HOJAS ENFERMAS DESPUES DE 72 HORAS DE INOCULAR | | | | | | | | | | | | | 0 | 1 | 2 | 3 |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|-------|----|-------|-------|-------|---|---|
| | Posición de la hoja | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | | | | |
| 1 | | | 1 | 1 | 2 | 2 | | | | | | | | 2 | 2 | 2 | |
| 2 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | 1 | 4 | 1 | |
| 3 | | | 1 | 1 | 2 | 2 | | | | | | | | 2 | 2 | 2 | |
| 4 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | 1 | 4 | 1 | |
| 5 | | | 1 | 1 | 1 | 2 | | | | | | | | 2 | 3 | 1 | |
| El número en cada casilla indica el grado de infección de acuerdo con la Escala de Stover modificada por Gauhl (Figura 3). | | | | | | | | | | | TOTAL | | 8 | 16 | 9 | | |
| | | | | | | | | | | | | | 30 | | | | |
| | | | | | | | | | | | % | | 26,67 | 50,00 | 23,33 | | |

% Hojas Infectadas= 100-%de Hojas Sanas en G0 **73%**

Nota; Evaluación con método Stover, procedimiento se repitió para cada tratamiento

Tabla 8

Análisis descriptivos de la data recolectada

| | | Descriptivos | | | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|--------------|---------|------------------|-------------|--|-----------------|--------|--------|
| | | N | Media | Desv. Desviación | Desv. Error | 95% del intervalo de confianza para la media | | Mínimo | Máximo |
| | | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| INFECCIÓN_15_DIAS | TRATAMIENTO TESTIGO | 5 | 86,6000 | 1,94936 | 0,87178 | 84,1796 | 89,0204 | 84,00 | 89,00 |
| | TRATAMIENTO CONSORCIO MICROBIANO | 5 | 67,2000 | 1,30384 | 0,58310 | 65,5811 | 68,8189 | 66,00 | 69,00 |
| | TRATAMIENTO EXTRACTO DE CURCUMA | 5 | 72,0000 | 1,00000 | 0,44721 | 70,7583 | 73,2417 | 71,00 | 73,00 |
| | Total | 15 | 75,2667 | 8,64760 | 2,23280 | 70,4778 | 80,0555 | 66,00 | 89,00 |
| PPI_15_DIAS | TRATAMIENTO TESTIGO | 5 | 0,5280 | 0,01924 | 0,00860 | 0,5041 | 0,5519 | 0,51 | 0,56 |
| | TRATAMIENTO CONSORCIO MICROBIANO | 5 | 0,3640 | 0,01517 | 0,00678 | 0,3452 | 0,3828 | 0,34 | 0,38 |
| | TRATAMIENTO EXTRACTO DE CURCUMA | 5 | 0,3900 | 0,00707 | 0,00316 | 0,3812 | 0,3988 | 0,38 | 0,40 |
| | Total | 15 | 0,4273 | 0,07573 | 0,01955 | 0,3854 | 0,4693 | 0,34 | 0,56 |

Nota; Evaluación descriptiva máximos y mínimos de infección

Tabla 9

Anova para análisis de un FACTOR

| | | ANOVA | | | | |
|--------------------------|------------------|-------------------|----|------------------|---------|-------|
| | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| INFECCIÓN_15_DIAS | Entre grupos | 1020,933 | 2 | 510,467 | 235,600 | 0,000 |
| | Dentro de grupos | 26,000 | 12 | 2,167 | | |
| | Total | 1046,933 | 14 | | | |
| PPI_15_DIAS | Entre grupos | 0,078 | 2 | 0,039 | 179,292 | 0,000 |
| | Dentro de grupos | 0,003 | 12 | 0,000 | | |
| | Total | 0,080 | 14 | | | |

Nota; Análisis de varianza presenta alta significancia en los resultados obtenidos

Tabla 10

Grupos homogéneos Infección

| | | INFECCIÓN_15_DIAS | | |
|---|---|------------------------------|---------|---------|
| HSD Tukey _a | | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
| TRATAMIENTOS | N | 1 | 2 | 3 |
| TRATAMIENTO CONSORCIO MICROBIANO | 5 | 67,2000 | | |
| TRATAMIENTO EXTRACTO DE CURCUMA | 5 | | 72,0000 | |
| TRATAMIENTO TESTIGO | 5 | | | 86,6000 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Nota; Distinción de grupos en análisis de Tukey en grupo de infección

Tabla 11

Grupos homogéneos Promedio ponderado de infección PPI

| | | PPI_15_DIAS | | |
|---|---|------------------------------|--------|--------|
| HSD Tukey _a | | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
| TRATAMIENTOS | N | 1 | 2 | 3 |
| TRATAMIENTO CONSORCIO MICROBIANO | 5 | 0,3640 | | |
| TRATAMIENTO EXTRACTO DE CURCUMA | 5 | | 0,3900 | |
| TRATAMIENTO TESTIGO | 5 | | | 0,5280 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Nota; Distinción de grupos en análisis de Tukey en promedio ponderado de infección

4.2 Interpretación de los resultados

El medio de cultivo ideal para el crecimiento de la Sigatoka Negra ha sido tema de interés de investigación. Gutiérrez-Jiménez et al. (2017) aislaron y desarrollaron el patógeno en medio de cultivo PDA, demostrando su idoneidad para estudios in vitro relacionados con *Micosphaerella fijiensis*. La investigación presentada destaca la importancia del medio PDA como propicio para el crecimiento de la Sigatoka Negra siendo más eficiente en comparación con el agar nutritivo y medio saboraud donde no se presentó crecimiento. Este hallazgo se alinea con estudios anteriores que han identificado medios de cultivo específicos como determinantes para el desarrollo de patógenos vegetales (Rodríguez et al. 2020).

En cuanto a los consorcios microbianos identificados, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas fluorescens* han demostrado un control in vitro efectivo durante un período prolongado. Este descubrimiento nuevo como asociación con la presencia de *Pseudomonas* con un porcentaje importante en el consorcio abre una brecha para crear nuevos productos. Además, *Pseudomonas spp.* se han asociado con la producción de metabolitos antifúngicos, como las fenazinas, que contribuyen a su actividad antibiótica (Mazurier et al., 2009).

Además, el mecanismo de antibiosis de *Pseudomonas spp.* se ha destacado como un modo de acción predominante entre *Pseudomonas* y *Bacillus*, lo que indica su importancia en el biocontrol, Padaria et al., (2016). La producción de sideróforos, enzimas líticas y la activación de genes de defensa se encuentran entre los mecanismos a través de los cuales *Pseudomonas spp.* ejercen antibiosis y contribuyen a la supresión de la enfermedad (Widnyana et al., 2022).

Estos estudios subrayan colectivamente la importancia de los microorganismos beneficiosos en la lucha contra los patógenos y la promoción de la salud de las plantas. respalda la idea de utilizar microorganismos beneficiosos para combatir patógenos, lo cual es consistente con las investigaciones de Camacho-Luna et al. (2021), sobre el potencial de bacterias para el control biológico de enfermedades en plantas.

El uso de *Cúrcuma longa*. (cúrcuma) se ha estudiado y aplicado ampliamente en diversos contextos. Por ejemplo, Velasco et al. (2017) evaluaron el aceite esencial de cúrcuma como agente anti fúngico en recubrimientos comestibles aplicados a calabazas mínimamente procesadas, demostrando su potencial para controlar el crecimiento de hongos. El uso de extractos de cúrcuma como agente controlador resalta la prometedora capacidad de compuestos naturales para el manejo de la Sigatoka Negra teniendo presente la brecha de control que se evidencio en el ensayo. Este resultado es consistente con las investigaciones de Velasco et al. (2017) quienes han destacado las propiedades anti fúngicas de los sesquiterpenos presentes en la cúrcuma e identificados por tamizaje fitoquímico.

La utilización de microorganismos beneficiosos, como las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas y los hongos endófitos, ha demostrado ser efectiva en el control de patógenos y la promoción de la salud de las plantas Berendsen et al. (2012). Estos microorganismos pueden inducir resistencia en las plantas, producir compuestos inhibidores de patógenos y mejorar la disponibilidad de nutrientes en el suelo. La eficacia de las soluciones biotecnológicas puestas a prueba en este ensayo, manteniendo un bajo índice de infección y una emisión foliar activa sugiere un enfoque sostenible y efectivo para el control de la enfermedad. Estos hallazgos respaldan la necesidad de estrategias agrícolas sostenibles, en consonancia con las recomendaciones de Castillo & Rodríguez, (2019) sobre la importancia de prácticas respetuosas con el medio ambiente en la agricultura.

La implementación de métodos de control biológico, como el uso de consorcios microbianos y extractos vegetales, ofrece alternativas prometedoras a los fungicidas químicos en la gestión de la Sigatoka Negra. Estos enfoques, respaldados por la literatura científica y los resultados expuestos, resaltan la relevancia de adoptar prácticas agrícolas sostenibles y efectivas para enfrentar los desafíos fitopatológicos en los cultivos de banano.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

En conclusión, los resultados obtenidos en este estudio subrayan la eficacia del medio PDA para estudios in vitro relacionados con *Mycosphaerella fijiensis*, demostrando una idoneidad destacada en comparación con otros medios. La observación de un área de crecimiento superior a 68 cm² en nueve días de evaluación indica la rapidez y la eficiencia del crecimiento de la Sigatoka Negra en este medio, lo que lo categoriza como una herramienta valiosa para ensayos de laboratorio con el patógeno.

En cuanto al control in vitro, el consorcio microbiano conformado por *Bacillus subtilis* (42%), *Bacillus cereus* (5%), *Bacillus thuringiensis* (20%), y *Pseudomonas fluorescens* (33%) ha mostrado resultados realmente prometedores, superando los 21 días con éxito. Los hallazgos revelan un potencial significativo en la inhibición del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* en su fase in vitro, y esta eficacia se traduce en la evaluación de plántulas, donde el promedio ponderado de infección (PPI) se mantiene bajo, alcanzando un 0.37% en 15 días de evaluación. Estos resultados refuerzan la viabilidad y la efectividad de utilizar consorcios microbianos como una estrategia de control biológico para la Sigatoka Negra.

Adicionalmente, los extractos de cúrcuma han demostrado mantener un PPI por debajo del 0.40% en el ensayo en plantas. Este resultado destaca la capacidad de los compuestos naturales presentes en la cúrcuma, especialmente los sesquiterpenos, para controlar la propagación de la enfermedad en condiciones in vivo. La persistencia de esta eficacia durante 15 días de evaluación sugiere un potencial práctico para la aplicación de extractos de cúrcuma como parte de estrategias de manejo integrado de la Sigatoka Negra.

En conjunto, los hallazgos de este estudio abren perspectivas prometedoras para la implementación de enfoques sostenibles y efectivos en el control de la Sigatoka Negra en cultivos de banano. La combinación de medios de cultivo eficaces, consorcios microbianos y compuestos naturales, como los extractos de cúrcuma, ofrece alternativas valiosas y respetuosas con el medio ambiente a los fungicidas químicos tradicionales

5.2 Recomendaciones

Basándonos en los resultados obtenidos y en las conclusiones derivadas de este estudio sobre el control de la Sigatoka Negra en cultivos de banano, se pueden realizar las siguientes recomendaciones.

Promoción del uso del medio PDA en estudios in vitro, dada la eficacia demostrada del medio PDA en el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*, se recomienda su preferencia en futuros estudios relacionados con este fitopatógeno. La utilización de este medio puede proporcionar resultados más representativos y precisos en investigaciones sobre la Sigatoka Negra.

Desarrollo y aplicación de consorcios microbianos, considerando los resultados prometedores del consorcio microbiano compuesto por *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas fluorescens*, se sugiere explorar y desarrollar productos comerciales basados en estos microorganismos para el control biológico de la Sigatoka Negra. La investigación continua para optimizar las proporciones y las formulaciones de estos consorcios también es recomendable.

Fomento de la aplicación de extractos de cúrcuma, dada la capacidad de los extractos de cúrcuma para mantener bajos niveles de infección en plantas de banano, se recomienda la exploración de técnicas de formulación y aplicación para mejorar la eficacia y durabilidad de estos extractos en condiciones de campo. La promoción de prácticas agrícolas que incluyan la aplicación de cúrcuma podría ser beneficiosa para los agricultores.

Investigación continua sobre residencia y persistencia, dada la importancia de mantener una baja infección y una emisión foliar activa, se recomienda la realización de estudios adicionales para comprender mejor la residencia y la persistencia de los tratamientos recomendados en condiciones de campo a largo plazo. Esto contribuirá a la implementación efectiva de las estrategias propuestas.

Capacitación y concientización de agricultores, es crucial llevar a cabo programas de capacitación y concientización dirigidos a los agricultores sobre la importancia de adoptar prácticas agrícolas sostenibles.

Bibliografía

- Aguilera, L. A. P., Silva, H. D. D., & Guevara, C. K. R. (2021). Potencial del laboratorio de biotecnología del pisa-uni para desarrollar bioprocesos ambientales, agrícolas e industriales. *Nexo Revista Científica*, 34(02), 534-546.
<https://doi.org/10.5377/nexo.v34i02.11540>
- Anna, N. (2019). Análisis bioquímico molecular de la interacción de *Pseudocercospora fijiensis* y *Trichoderma harzianum*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.c.:
https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1635/1/PCB_M_Tesis_2019_Todd_Jewel_Nicole_Anna.pdf
- Benavides, B. (2019). Cuantificación temprana de *Pseudocercospora fijiensis* por medio de qpcr en modelos presictivos de sigatoka negra en plantas de banano (*Musa AAA*). INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA:
<https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/10838/Cuantificaci%C3%B3n%20temprana%20de%20Pseudocercospora%20fijiensis%20por%20medio%20de%20qpcr%20en%20modelos%20predictivos%20de%20Sigatoka%20negra%20en%20plantas%20de%20banano%20%28Musa%20AAA%29>.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Brenes-Gamboa, S. (2017). Parámetros de producción y calidad de los cultivares de banano fhia-17, fhia-25 y yangambi. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3), 719.
<https://doi.org/10.15517/ma.v28i3.21902>
- Castillo-Arévalo, T. (2022). Alternativas biológicas y químicas para el manejo de la sigatoka negra (*mycosphaerella fijiensis morelet*) en cultivo de plátano (*musa paradisiaca l.*) en rivas, nicaragua. *Ciencia E Interculturalidad*, 31(02), 153-165.
<https://doi.org/10.5377/rci.v31i02.15188>
- Carazo, V. (2021). Impactos actuales y potenciales de las enfermedades de los cultivos perennes de la Amazonia y posibilidades de control para el desarrollo sostenible de la región. *Tratado de Cooperación Amazónica*: <http://otca.org/wp-content/uploads/2021/02/Impactos-actuales-y-Potenciales-de-las-Enfermedades-de-los-Cultivos-Perennes-de-la-Amazonia.pdf>

- Carr, C., Villalta, R., Rodríguez, A., & Guzmán, M. (2017). Metodología para aislar de hojas de banano hongos quitinolíticos con potencial como antagonistas de *Pseudocercospora fijiensis*. <https://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN210632.pdf&id=20365>
- Castillo, D., & Rodríguez, W. (2019). Análisis y propuesta de mejora de la cadena de suministro de banano orgánico de las provincias de Morropón y Sullana. Universidad de Piura: <https://pirhua.udep.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/6bed14ed-6454-4dcf-87c9-229d4838d624/content>
- Camacho-Luna, V., Flores-Moctezuma, H. E., Rodríguez-Monroy, M., Montes-Belmont, R., & Sepúlveda-Jiménez, G. (2021). Inducción de la respuesta de defensa de plantas de cebolla en la interacción con *trichoderma asperellum* y *alternaria porri*. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 12(4), 685-698. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2683>
- Cedeño, R., Díaz, J., Conde, J., Cervantes, R., Avellán, E., & Tobar, P. (2021). Evaluación de la severidad de *Sigatoka negra* (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano “Barraganete” bajo fertilización con magnesio. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería*, 44(1). <https://www.redalyc.org/journal/6057/605772532002/html/>
- CENIBANANO. (2023). Informa anual Abril 2022. Centro de investigaciones del banano: https://augura.com.co/wp-content/uploads/2023/04/Informe-anual-CENIBANANO-2022_VF.pdf
- Cuevas-Gutiérrez, J., Flores-Cortés, C., & Guerrero, J. J. (2015). Evaluación de un sistema de apoyo para el diagnóstico de *sigatoka negra*. *Research in Computing Science*, 108(1), 73-80. <https://doi.org/10.13053/rcs-108-1-8>
- Cherlinka, V. (2021). Agricultura Orgánica: Modelo Sostenible Sin Químicos. <https://eos.com/es/blog/agricultura-organica/>
- Delgadillo-Durán, P., Rodríguez-Polanco, L., Carrero-Gutierrez, M., Torres-Rojas, E., & Yockteng, R. (2020). A new method for the inoculation of *phytophthora palmivora* (butler) into cacao seedlings under greenhouse conditions. *Plant Methods*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00656-8>
- Docampo, R. (2013). La importancia de la materia orgánica del suelo y su manejo en producción frutícola. INIA Las Brujas – Estación Experimental “Wilson Ferreira Aldunate”:
<http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/1199/1/128221131113111309.pdf>

- Echeverri, F. (2014). La protección del banano contra la sigatoka negra por métodos no biocidas. *Revista De La Academia Colombiana De Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 37(145), 519. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.32>
- García, G., Capello, C., Coello, D., Fadda, C., Jarvis, D., & Santis, P. (2017). Early detection of resistance to *Mycosphaerella fijiensis* in local genotypes of musa in Ecuador. *Scientia Agropecuaria*, 8, 29-42. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.03>
- Gutierrez-Jimenez, E., Pedroza-Sandoval, A., Martínez-Bolaños, L., Samaniego-Gaxiola, J. A., & García-González, F. (2017). Efecto de aceites naturales contra *Mycosphaerella fijiensis* en condiciones in vitro y detección de fitoquímicos activos. *Revista Mexicana De Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1707-4>
- FAO. (2015). Los suelos sanos son la base para la producción de alimentos saludables. La importancia de la materia orgánica del suelo (en inglés) : <https://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/es/c/277721>
- FAUBA. (2022). Sigatoka negra del banano (*Mycosphaerella fijiensis*). Herbario virtual Catedra de Fitopatología: https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=12240
- FHIA. (2022). Actividades de Mejoramiento Genético en Musáceas. ¿Qué es MBC?: http://www.fhia.org.hn/descargas/Programa_de_Banano_y_Platano/Actividades_de_Mejoramiento_Geneticico_en_Musaceas.pdf
- García, J., Marcillo, A., & Palacios, C. (2019). Amenazas de las manchas foliares de Sigatoka (*Mycosphaerella* spp.) en la producción sostenible de banano en el Ecuador. *Revista Verdede agroecología e desenvolvimiento sustentavel*: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7266829.pdf>
- Gómez, R. (2020). Predicción de la biosíntesis de esterigmatocistina, gliotoxina y ácido fusárico en *Pseudocercospora fijiensis*. Centro de Investigación Científica de Yucatán: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1775/1/PCB_M_Tesis_2_020_RUFINO_GOMEZ_TAH.pdf
- Guzmán, M., & Paladines, R. (2022). Sigatoka Negra (*Mycosphaerella Fijiensis*). *CropLife*: <https://croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/sigatoka-negra>
- Hernández, A., Sorí, R., Pérez, V., & Cordova, O. (2016). Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y seguridad alimentaria. Escenarios bioclimáticos en bananos bajo efecto del cambio climático en Ciego de Ávila, Cuba. *Journal of the Selva Andina Biosphere*. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592016000200003

- Hidalgo, Á. L. and Oliva, R. C. (2019). Influencia del tipo de riego con agua ozonificada en el control del nivel de daño de la sigatoka negra en banano. *Alternativas*, 20(1), 39-46. <https://doi.org/10.23878/alternativas.v20i1.245>
- Julca, A., Meneses, L., Blas-Sevillano, R., & Bello, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de uso en la agricultura. *IDESIA (Chile)* : https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292006000100009
- Nadal-Medina, R., Manzo-Sánchez, G., Orozco-Romero, J., Orozco-Santos, M., & Guzmán-González, S. (2009). Diversidad genética de bananos y plátanos (*musa spp.*) determinada mediante marcadores *rapd*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 1-7. <https://doi.org/10.35196/rfm.2009.1.1-7>
- Manzo, G., Guzmán, S., Rodríguez, M., James, A., & Orozco, M. (2005). Biología de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y su Interacción con *Musa spp.* *Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA*, 23(1), 87-96. https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1397/1/id38740_Gilberto_Manzo.pdf
- Martins, M. B., Gasparotto, L., & Moreira, A. (2016). Sigatoka-negra em bananais cultivados na região centro-sul do estado do mato grosso. *Revista De Ciências Agrarias - Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 59(1), 74-79. <https://doi.org/10.4322/rca.2094>
- Mazurier, S., Corberand, T., Lemanceau, P., & Raaijmakers, J. M. (2009). Phenazine antibiotics produced by fluorescent pseudomonads contribute to natural soil suppressiveness to fusarium wilt. *The ISME Journal*, 3(8), 977-991. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.33>
- Moscoso, M. A. P., Ramírez, I. J. N., Angarita, C. C., & Rojas, E. T. (2020). Actividad biocontroladora in vitro de macrohongos contra diferentes hongos fitopatógenos. *Acta Biológica Colombiana*, 25(2), 265-279. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n2.75303>
- OMC. (2020). Modificación de los LMR de la Unión Europea para los productos fitosanitarios Mancozeb _ preocupación comercial específica de Colombia Y Ecuador. Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias. <https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/SS/directdoc.aspx?filename=s:/G/SPS/GEN1808.pdf&Open=True>
- Ortega-Bonilla, R. M., Torres-Asuaje, P. E., Segura-Mena, R., Echeverría-Beirute, F., & Uribe, L. (2022). Aislamientos de *Bacillus cereus* sobre el crecimiento y el contenido de

- nitrógeno en banano (musa aaa). *Agronomía Mesoamericana*, 49614.
<https://doi.org/10.15517/am.v33i3.49614>
- Orozco, M. (2018). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka Negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology* , 33(3), 189-196. *Tropical Plant Pathology*:
https://www.researchgate.net/publication/233391427_Practicas_culturales_para_el_manejo_de_la_Sigatoka_Negra_en_bananos_y_platanos
- Orozco, M., & Orozco, J. (2004). LA SIGATOKA NEGRA EN BANANOS Y PLATANOS: EL CASO DE MEXICO. XVI REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT:
https://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN050657_spa.pdf&id=9611
- Orozco, M., garcía, M., Manzo, G., & Guzmán, S. (2023). La Sigatoka negra y su manejo Integrado en banano. Primera Edición Publisher: INIFAP:
https://www.researchgate.net/publication/256297564_La_Sigatoka_negra_y_su_manejo_Integrado_en_banano
- Orozco, M., Orozco, J., Pérez, O., & Manzo, G. (2008). Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka Negra en bananos y plátanos. 33(3), 89-196.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000300003>
- Ortíz, C. (2021). Desarrollo de agrotecnologías como estrategia ante la amenaza de enfermedades que afecten la producción de Musáceas en el Ecuador. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIAP: https://www.iniap.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/Proyecto%20COE_2021_12_29.pdf
- Padaria, J. C., Tarafdar, A., Raipuria, R., Lone, S. A., Gahlot, P., Shakil, N. A., ... & Kumar, J. (2016). Identification of phenazine-1-carboxylic acid gene (phc cd) from bacillus pumilus mtcc7615 and its role in antagonism against rhizoctonia solani. *Journal of Basic Microbiology*, 56(9), 999-1008. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500574>
- Palacios, C., Regalado, J., & Plaza, J. (2019). Amenazas de las manchas foliares de sigatoka (mycosphaerella spp.) en la producción sostenible de banano en el ecuador. *Revista Verde De Agroecología E Desarrollo Sustentável*, 14(5), 591-596.
<https://doi.org/10.18378/rvads.v14i5.6623>
- Palomino-Camargo, C. and González-Muñoz, Y. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública*, 31(3).
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2014.313.93>
- Quiroz, L. (2022). Inhibición del crecimiento de hongos que causan necrosis en el follaje del plátano (Musa spp. Simmonds) usando aceite y lixiviado de raquis en condiciones in

- vitro. Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada:
<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/52772/QuirozValdiviaAna.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodale. (2022). Agricultura organica vs Agricultura convencional. Rodale Institute:
<https://rodaleinstitute.org/es/why-organic/organic-basics/organic-vs-conventional/>
- Rodríguez, C. (2019). Aislamiento y selección de hongos antagonistas en plantaciones de banano (Musa AAA) para el combate biológico de la sigatoka negra. Universidad de Costa Rica:
<https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/2779/Aislamiento%20y%20selecci%C3%B3n%20de%20hongos%20antagonistas%20en%20plantaciones%20de%20banano%20%28Musa%20AAA%29%20para%20el%20combate%20biol%C3%B3gico%20de%20la%20Sigatoka%20Negra.pdf?sequence>.
- Rodríguez, G., Gómez, A., González, J. L. A., Velásquez, C., & Miniet, A. (2021). Elaboración de medios de cultivo alternativos y viables para el crecimiento microbiano del bacillus subtilis. La U Investiga, 8(1), 86-94. <https://doi.org/10.53358/lauinvestiga.v8i1.472>
- Rosales, F., Tripon, C., & Cerna, J. (1998). Producción de banano orgánico y/o ambientalmente amigable. INIBAP:
<https://acervo.socioambiental.org/sites/default/files/documents/t1d00130.pdf>
- Suarez, P. (2024). Agricultura Regenerativa: Camino A Un Futuro Seguro.
<https://eos.com/es/blog/agricultura-regenerativa/>
- Vargas, A., Araya, M., Guzmán, M., & Murillo, G. (2009). Effect of leaf pruning at flower emergence of banana plants (musaaaa) on fruit yield and black sigatoka (mycosphaerella fijiensis) disease. International Journal of Pest Management, 55(1), 19-25. <https://doi.org/10.1080/09670870802450219>
- Vanegas, D. and Ramírez, M. (2016). Correlación del crecimiento de pseudomonas fluorescens en la producción de polihidroxicanoatos de cadena media (pha mcl) mediante modelos primarios de gompertz, logístico y baranyi. Información Tecnológica, 27(2), 87-96. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642016000200011>
- Velasco, J. A. C., Mahecha, P. V., & Andrade-Mahecha, M. M. (2017). Aceite esencial de cúrcuma (curcuma longa l.) como agente antifúngico en recubrimientos comestibles aplicados a zapallo (cucurbita maxima) mínimamente procesado. Revista De Ciências Agrárias, 40(3), 641-654. <https://doi.org/10.19084/rca16130>

- Velez, A. (2021). Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en banano, métodos de control y manejo: Revisión de literatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/caa6d1dc-7f3e-48c8-b85e-2e534deba196/content>
- Widnyana, I. K., Ariati, P. E. P., & Suanda, I. W. (2022). The effect of seed soaking with suspensions of *pseudomonas alcaligenes* and *bacillus* on the growth and yield of bitter melon (*momordica charantia* l.) in a greenhouse. *KnE Life Sciences*. <https://doi.org/10.18502/cls.v7i3.111164>
- Wielemaker, F. (2021). El Cultivo de Banano Orgánico y su Sostenibilidad. Traducción del Inglés del Capitulo #15 del libro *Achieving Sustainable Cultivation of Bananas*,: <https://www.musalit.org/viewPdf.php?file=IN220018.pdf&id=20758>

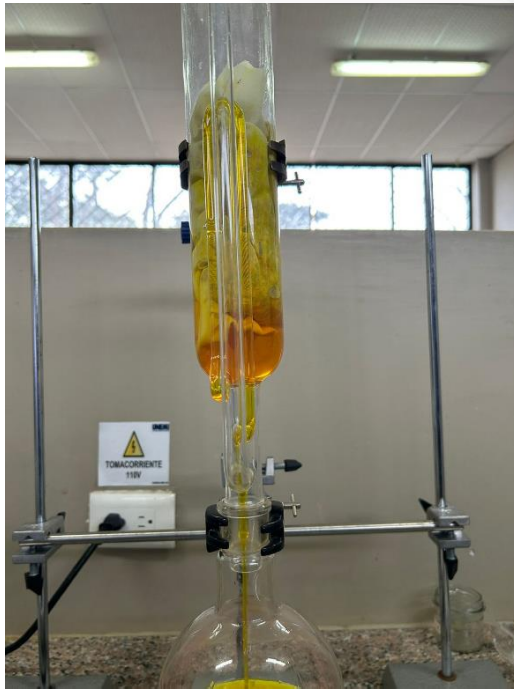
Anexos



Anexo 1; (Izq) Inoculación de plantas; (Der) Preparación de inculo



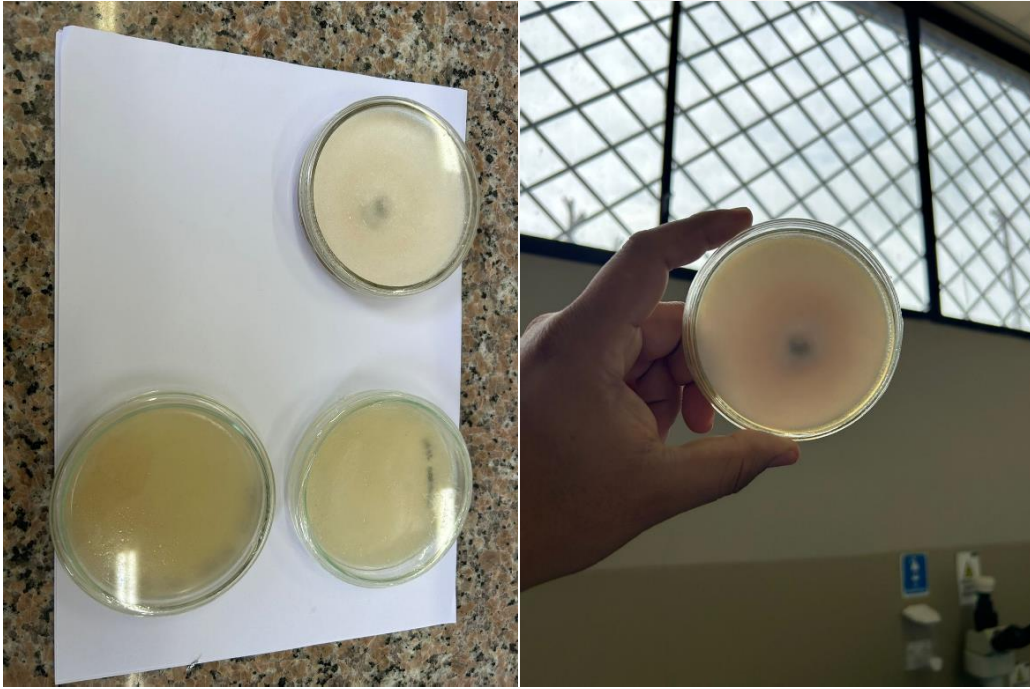
Anexo 2; Antagonismos con extractos de cúrcuma



Anexo 3; (Izq) Recirculación de extracto de cúrcuma; (Der) Preparación de bolsa de té



Anexo 4; (Izq) Aislamiento de Sigatoka Negra; (Der) Identificación del Patógeno



Anexo 5; (Izq) Sigatoka Negra y Consorcio Microbiano; (Der) Sigatoka Negra



Anexo 6; Acción inhibitoria de cúrcuma 7 días de evaluación

UNEMI
UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

