

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Evaluación de biofungicidas para el control pos-cosecha de la pudrición de la corona en clusters de banano (*Musa acuminata*) de exportación.

Jaime Fernando Zavala Estrella

Ingeniería en Agronomía

Trabajo final de carrera presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero en Agronomía

Quito 16 de enero de 2021

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO CIENCIAS E INGENIERÍAS

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO FINAL DE CARRERA**

Evaluación de biofungicidas para el control pos-cosecha de la pudrición de la corona en clusters de banano (*Musa acuminata*) de exportación.

Jaime Fernando Zavala Estrella

Nombre del profesor:

Antonio León-Reyes, Ph.D.

Quito, 16 de enero de 2021

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nombres y apellidos: Jaime Fernando Zavala Estrella

Código: 00108194

Cédula de Identidad: 1713067559

Lugar y fecha: Quito, Enero de 2021

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

Resumen:

El objetivo principal de la investigación fue la evaluación de biofungicidas contra los hongos patógenos que producen la pudrición de la corona de banano en la pos-cosecha. El presente proyecto de titulación se realizó en base a la necesidad de encontrar alternativas a los fungicidas químicos convencionales, además de satisfacer la demanda de las haciendas con certificación orgánica. Los principales implicados en la pudrición son los hongos *Colletotrichum*, *Lasiodioplodea*, y *Fusarium*. Las pérdidas que puede llegar a generar la pudrición de la corona son bastante altas, llegando a ser de hasta el 70% de pérdidas, lo que conlleva a un problema grande, sobre todo en Ecuador, ya que el banano es el principal ingreso de divisas de productos no petroleros. Los tratamientos y dosis utilizados fueron *Trichoderma* a 10 ml por litro, *Bacillus subtilis* a 5 ml por litro y *Streptomyces* a 5 ml por litro, químico (tiabendazol) a 1 ml por litro y el control (agua). Las evaluaciones se realizaron a los 7, 14 y 21 días posteriores a su aplicación. Se realizaron 3 repeticiones o bloques utilizando 8 clusters de banano por tratamiento por cada repetición. Las variables de respuesta a medir fueron la pudrición de la corona mediante la escala de Frossard, la maduración del banano con la escala de maduración y el conteo de UFC de bacterias y hongos presentes en la corona. Para el análisis estadístico de los datos de cada variable, se utilizó la prueba de Chi cuadrado. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento químico tuvo un mejor desempeño, llegando a tener un 4% de fruta sana sin micelio en la corona en la tercera semana; sin embargo, el tratamiento con *Trichoderma* mostró ser estadísticamente similar, volviéndose interesante para futuros ensayos de validación, ya que lo que se pretende es reducir el uso de productos de síntesis química, en banano manejado orgánicamente.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, Banano, Corona, Pudrición, *Streptomyces*, *Trichoderma*.

Abstract:

The main objective of the research was the evaluation of bio fungicides against the pathogenic fungi that produce post-harvest crown rot disease of bananas. This titling project was carried out based on the need to find alternatives to conventional chemical fungicides, in addition to meeting the demand for farms with organic certification. The main fungi found are *Colletotrichum*, *Lasiodioploioidea*, and *Fusarium*. The losses that crown rot disease can generate are quite high, reaching up to 70% losses, which is significant, especially for countries like Ecuador, where bananas are the main income of non-petroleum products. The treatments used were *Trichoderma*, *Bacillus subtilis*, and *Streptomyces*, chemical (thiabendazole) and control (water), the doses respectively were 10, 5, 5, and 1 ml per liter of water. The evaluations were carried out 7, 14, and 21 days after its application. 3 repetitions or blocks were made using 8 banana clusters per treatment for each repetition, that is, a total of 120 banana clusters were evaluated. The response variables to be measured were for crown rot disease with the Frossard scale, banana ripening with the ripening scale, and the CFU count of bacteria and fungi present in the crown. For the statistical analysis of the data of each variable, the Chi-square test was used. The obtained results indicate that the chemical treatment had a better performance, reaching 4% of healthy fruit without mycelium in the crown in the third week. However, the treatment with *Trichoderma* showed to be statistically similar, becoming interesting for future trials, since the aim is to reduce the use of chemical-synthesis products in organically managed bananas.

Key words: *Bacillus subtilis*, Banana, Crown, Crown Rot, *Streptomyces*, *Trichoderma*.

Tabla de contenido

I.-Introducción.	11
1.1-Antecedentes:	11
1.2-Justificación:	13
II-Marco Teórico:	15
2.1- Origen, historia y situación actual del Banano:	15
2.2-Botánica del cultivo:	18
2.3-Manejo agronómico del cultivo:.....	19
2.4-Plagas y Enfermedades:.....	20
2.5-Ventajas de los biofungicidas:.....	23
III.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS-	24
3.1-Objetivo General:.....	24
3.2-Objetivos Específicos:.....	24
3.3-Hipotesis:	24
IV.- Materiales y Métodos-.....	24
4.1-Material Biológico y Químico:	24
4.1.1 <i>Trichoderma</i> :.....	24
4.1.2 <i>Bacillus subtilis</i> :	25
4.1.3 <i>Streptomyces</i> :.....	25
4.1.4 Mertect (tiabendazol):	26
4.2 -Métodos:	26
4.2.1 Métodos de manejo de experimento.....	26
4.2.3 Método estadístico.....	32
V.- Resultados y Discusión	33

5.1-Escala Frossard:	33
5.2-Escala maduración:	38
5.3-Conteo de Bacterias:	43
VI.- Conclusiones y Recomendaciones	45
6.1-Conclusiones:	45
6.2-Recomendaciones:	46
VII.- Bibliografía Consultada.-	47
VIII.-Anexos.-	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Dosis y tratamientos aplicados.....	27
Tabla 2.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la primera semana, con un nivel de significancia de (0,05).	34
Tabla 3.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la segunda semana, con un nivel de significancia de (0,05).	35
Tabla 4.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la tercera semana, con un nivel de significancia de (0,05).	37
Tabla 5.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la primera semana, con un nivel de significancia de (0,05).	39
Tabla 6.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la segunda semana, con un nivel de significancia de (0,05).	40
Tabla 7.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la tercera semana, con un nivel de significancia de (0,05).	42
Tabla 8.- Tabla de contingencia semana 1 escala Frossard.....	53
Tabla 9.- Tabla de contingencia semana 2 escala Frossard.....	53
Tabla 10.- Tabla de contingencia semana 3 escala Frossard.....	53
Tabla 11.- Tabla de contingencia semana 1 escala maduración	54
Tabla 12.- Tabla de contingencia semana 2 escala maduración	54
Tabla 13.- Tabla de contingencia semana 3 escala maduración	54

Índice de Figuras

Figura 1.- Escala de Frossard.....	29
Figura 2: Escala de Frossard.....	30
Figura 3. Escala de Maduración	31
Figura 4.- Porcentaje de afectación por tratamiento	33
Figura 5.- Porcentaje de afectación por tratamiento	35
Figura 6.- Porcentaje de afectación por tratamiento	36
Figura 7.- Porcentaje de afectación por tratamiento	38
Figura 8.- Porcentaje de afectación por tratamiento	39
Figura 9.- Porcentaje de afectación por tratamiento	41
Figura 10.- Promedio de UFC de bacterias en los 5 tratamientos de las 3 semanas evaluadas.	43
Figura 11.- Promedio de UFC de hongos en los 5 tratamientos de las 3 semanas evaluadas.	44

I.-Introducción.

1.1-Antecedentes:

En el Ecuador existen alrededor de 230,000 hectáreas que tienen sus registros en el Ministerio de Agricultura y Ganadería. Las principales provincias productoras son Los Ríos, Guayas y el Oro, estas tres provincias suman el 92% de la producción nacional, el restante 8% corresponde a las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Santa Elena, Cotopaxi y Cañar, con un rendimiento promedio nacional de 1,700 cajas/ha/año (INIAP, s.f).

Los ingresos por venta de banano al exterior en el 2019, generaron 2.963 millones de dólares para Ecuador. Según el Banco Central Del Ecuador, en el 2019, se exportaron 350 millones de cajas de banano y, para el 2020, se prevé un incremento del 1% únicamente, debido a la pandemia global que ha afectado a todos los sectores (Lizarzaburo, 2020).

Actualmente 2,5 millones de personas dependen directa e indirectamente del banano, ya que en el sector están involucradas empresas que elaboran cartón, plástico, y comercializan insecticidas y fungicidas, así como personas involucradas en logística, transporte, contenedores, además de mano de obra calificada que trabajan directamente con el cultivo como son jornaleros, personal de riego, empacadores, etc. En la actualidad Ecuador es el mayor exportador del mundo, su fruta es muy apetecida por su calidad (Vásquez y otros, 2019).

Al ser el segundo producto más exportado por Ecuador, representa el 35% del PIB agrícola y el 4% del PIB nacional. En Ecuador se utiliza principalmente las variedades Gran Enano y Williams, del tipo Cavendish, las variedades antes mencionadas son conocidas por producir altos rendimientos con una calidad exportable

ya que cumplen todos los requerimientos para su comercialización a nivel internacional (INIAP, s.f).

El banano tiene diferentes características y cualidades, es por esto, que es la fruta más consumida a nivel mundial. Tiene un alto contenido de potasio, siendo este un elemento muy importante para que el cuerpo humano funcione de manera correcta. El potasio es el responsable de que las células del miocardio se contraigan y funcione el órgano cardiaco perfectamente. En 100 gramos de banano hay aproximadamente 94 kcal, 22.8 gramos de carbohidratos o hidratos de carbono, 12.23 gramos de azúcar (fructosa), 3.4 gramos de fibra, 0.3 gramos de grasa, 1.2 gramos de proteína, 8.7 mg de vitamina C (ácido ascórbico), 38 mg de magnesio, 28 mg de fósforo, 350 mg de potasio y 0.6 mg de hierro (Corral, 2020).

El conjunto de hongos causantes de la pudrición de la corona de banano son: *Colletotrichum musae*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Verticilium theobromae* y *Fusarium* spp. (Aguilar y otros, 2012).

La pudrición de la corona inicia con un reblandecimiento de los tejidos superficiales en los restos de raquis y en la corona, tomando un color marrón oscuro o negro que avanza hasta el pedúnculo y en caso de extrema gravedad hasta los dedos del banano. Cuando la enfermedad entra en el tejido de la corona, comienza a desarrollarse un fieltro o capa micelial de color blanquecina o grisácea. El micelio es el inicio de la infección, para luego deteriorar la apariencia de la fruta por completo. Cuando la infección se ha tomado los dedos, estos se desprenden fácilmente de la corona y la pulpa se pudre totalmente (Balza, 2019).

Las pérdidas de pos-cosecha en banano van desde el 10% hasta el 80%, y son causadas por plagas o enfermedades, daños mecánicos, maduración prematura, deformidades, manipuleo, etc (Vásquez, y otros, 2019).

En otros casos, hasta el 30% de la fruta se pierde en pos-cosecha por el mal manejo, una mala labor de cosecha, entre otros. La pudrición de la corona de banano es el mayor problema de pos-cosecha de esta fruta, por lo que siempre se hace necesario buscar nuevas formas de combatir esta enfermedad. Es por esta razón, que se han desarrollado escalas para poder medir la afectación de la pudrición de la corona en clusters de banano. Una de las escalas, se llama escala de FROSSARD, la cual tiene 9 diferentes índices de pudrición, desde 1 que es sin micelio hasta la 9 donde prácticamente los hongos ya se han tomado toda la fruta (Scribano y Garcete, 2016).

1.2-Justificación:

El promedio del número de personas que se necesitan para cultivar y mantener una hectárea de banano es 0.8 trabajadores por cada hectárea de cultivo, es decir que se genera más de 200,000 plazas de trabajo directamente (Salazar, 2020).

Así mismo hay más de 2 millones de personas que están involucradas indirectamente con el banano en industrias como la del cartón, fundas plásticas, logística terrestre, naviera, etc (INIAP, s.f).

Al estar los trabajadores en contacto con los fungicidas sintéticos que se aplica por nebulización continua a la corona de banano, se ha visto la necesidad de evaluar nuevas alternativas tecnológicas como son los bio-fungicidas que sea amigables tanto con el medio ambiente, así como precautelar la salud de los trabajadores.

En el tema ambiental se trata de igual manera de cuidar el medio ambiente, no contaminar, no erosionar ni alterar ningún factor agro-climático. Las buenas prácticas agrícolas (BPA) siempre van a ser sinónimo de que las actividades se realizan correctamente para cuidar el ambiente, el cultivo y por sobre todo a las personas.

Rainforest Alliance, así como otras certificadoras, velan por los intereses de un mundo mejor, esto incluye toda la cadena de producción, desde el cultivo hasta el personal que cierra la caja antes de despachar el contenedor. Esto quiere decir, que se enfoca en que se haga un correcto uso de los fertilizantes como de los pesticidas, que exista un correcto tratamiento de aguas residuales, así mismo que el uso de agua y energía sean lo óptimo sin desperdicio (Rainforest Alliance, 2020).

En la parte económica el banano es el producto agrícola estrella del Ecuador al liderar las exportaciones no petroleras del país. En el Ecuador únicamente el 12% de la superficie cultivada de banano es orgánico, y el restante 88% es banano convencional. Esto nos da una idea de que 27,000 hectáreas utilizan bio-fungicidas o amigables con el ambiente para el control de la pudrición de la corona, por otro lado, alrededor de 16,000 hectáreas poseen certificación Rainforest Alliance y 80,000 has tienen certificación GLOBAL GAP (MIPRO, 2017).

Estas cifras nos dan pautas de que nuestra producción está enfocada en ser limpia y amigable con el medio ambiente y la población, por lo tanto, va a tratar de mejorar siempre, buscando nuevas alternativas para el control de las enfermedades como es en este caso la pudrición de la corona. Más aún, si es que hablamos de costos, al utilizar nuevas alternativas para el agricultor no representaría un gasto extra, y además, tendría muchos beneficios como cuidar el medio ambiente y que el producto final no tenga trazas de agro-químicos.

II-Marco Teórico:

2.1- Origen, historia y situación actual del Banano:

El banano se originó en Nueva Guinea hace aproximadamente 8000 años, luego se extendió por Asia Meridional. En los años 500 A.C., la fruta ya estaba presente en África. La llegada a Europa fue después en el siglo VIII, cuando ocurría la conquista Árabe a España. En el siglo XV, llegó a las Islas Canarias y, a principios del siglo XVI, fue introducido a América durante la primera colonización, específicamente en el año 1,516 (Bananotecnia, 2013).

La mayoría de cultivares de banano provienen de la especie *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiana* (genoma B). Simmonds and Shepherd en el año 1955 diseñaron un método para indicar la contribución de las dos especies para los diferentes genotipos de los cultivares usando A y B. Los cultivares más comerciales son triploides y pertenecen al grupo AAA. Los grupos que más se cultivan a nivel mundial son AAA, AAB y ABB (Marín y otros, 1998).

La sección Eumusa es la que contiene la mayor cantidad de plátanos y bananos comestibles. Los provenientes de *M. acuminata* se asignan la letra A, y los de *M. balbisiana* se asignan la letra B. Los cultivares triploides pertenecen a los grupos genómicos AAA (Cavendish y Gros Michel), AAB (Dominico) y ABB (Pelipita), mientras que los cultivares que son diploides pertenecen al grupo genómico AA o AB (Chessman, 1948).

El banano tipo Cavendish tiene una historia particular, se remonta a los años 1,830 en Chatsworth cuando un jardinero tomó una planta que provenía de la Isla Mauricio, en el océano Índico, y decidió cultivarla llenando un hoyo con agua y estiércol. La planta creció en un lugar idóneo, ya que este lugar contaba con la

temperatura y humedad adecuada, además de la luminosidad requerida. Le dieron el nombre de Cavendish que era el nombre de la familia de los duques y duquesas de Devonshire (Leatherdale, 2016).

Ecuador es el líder de la exportación de banano desde hace 25 años, llegando actualmente a representar el 26% de las exportaciones mundiales. Los principales países exportadores son Ecuador, Filipinas, Guatemala, Costa Rica y Colombia. Así mismo, los principales importadores son USA, Rusia, Alemania, Bélgica, UK y Japón (Jaramillo y otros, 2020).

En el 2019, las exportaciones de banano como fruta fresca, alcanzaron un récord histórico estimado en 21 millones de toneladas, esto se traduce en un aumento del 10.2% en comparación con el año 2018. Estas estadísticas, indican que el incremento se debió principalmente a un exponencial crecimiento de la oferta de los principales exportadores mundiales, que son Ecuador y Filipinas. Así mismo, se puede observar una rápida expansión de las exportaciones de Panamá, resultado de la activación de una zona importante de producción en el distrito de Barú. Sin embargo, las malas condiciones climáticas ocasionadas por el fenómeno meteorológico El Niño, hicieron que los envíos de Centroamérica, sobre todo de Costa Rica y República Dominicana se vean afectados (FAO, 2020).

Las exportaciones por parte de América Latina y el Caribe, crecieron en un 3% en el año 2019, llegando a exportarse 15.1 millones de toneladas, esto se debió al gran crecimiento de los envíos de los principales exportadores. El Ecuador exporta más del 40% de la fruta de la región, registrando un aumento del 4.2%, lo que se traduce en 6.7 millones de toneladas enviadas al exterior (FAO, 2020).

Gracias a que Ecuador posee unas condiciones climáticas y ecológicas muy favorables, ha permitido que tanto los productores pequeños, como medianos y grandes

tengan producción los 365 días del año. Los principales destinos del banano ecuatoriano son Rusia y la Unión Europea (UE). La actividad bananera tiene dos temporadas, temporada alta y temporada baja. La temporada alta es desde enero a abril, tiempo en el que las condiciones climáticas son las más óptimas y esto permite que la producción sea mayor, mientras que la demanda igualmente aumenta en el exterior. En la temporada baja, disminuye la producción a nivel nacional, mientras que en los países centroamericanos se da un pico de producción (Jaramillo y otros, 2020).

En el Ecuador se han mantenido trabas al sector agrícola pero esto no impidió que el país aumente sus exportaciones por tercer año consecutivo. Este crecimiento en la exportación de banano es debido principalmente, a que China y Turquía aumentaron su demanda, siendo dos mercados emergentes para los envíos de banano de Ecuador. Haciendo una comparación de las exportaciones hacia Turquía y China del año 2018 al 2019, se puede observar que ha habido un incremento del 42% hacia Turquía y un 73% hacia China, esto es más de 460.000 toneladas. De esta manera, este incremento, no afectó considerablemente el descenso del 4% de las ventas a Rusia. Por otro lado, en el 2019, los envíos de fruta provenientes de Ecuador, entraron con beneficios arancelarios gracias al acuerdo que mantiene el país con la Unión Europea. Se beneficiaron los exportadores, ya que el país se volvió competitivo, pero también se beneficiaron los importadores ya que la tasa fue reducida a 83 euros por tonelada métrica durante todo el año. Esto ayudó a que se aumentara la demanda en un 61% por parte de los Países Bajos (FAO, 2020).

2.2-Botánica del cultivo:

Banano:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Zingiberales

Familia: Musaceae

Género: Musa y Ensete

Secciones: Australimusa (*Musa textiles*), Callimusa (*Musa coccinea*), Rhodochlamys (*Musa ornata*), Eumusa (*Musa acuminata*, *Musa balbisiana*)

(Arevalo, 2018).

El banano es una planta de tipo herbácea perenne gigante o de gran tamaño. Se la considera parte de las herbáceas ya que sus partes aéreas mueren y caen al suelo cuando ha terminado el ciclo de cultivo, mientras que se le llama perenne, porque en la base siguen surgiendo nuevos brotes con el nombre de hijos, y estos reemplazan a la planta madre (Infoagro, s.f).

Raíz: El banano tiene raíces que son superficiales y que se distribuyen en un horizonte de 30 a 40 cm de profundidad, sin embargo, la mayoría se encuentra entre 15-20 cm de profundidad. Las raíces tienen una tonalidad de color blanco cuando son jóvenes; a medida que pasa el tiempo, se tornan color amarillo y se vuelven duras. El diámetro va de 5 a 8 mm, pudiendo alcanzar una longitud de 2-3 metros de manera lateral y hasta 1,5 metros de profundidad (Rivera, 2018).

Rizoma o cormo: El tallo verdadero es el rizoma o también conocido como cormo. Es grande, almidonoso que crece subterráneamente, y que tiene yemas alrededor, las cuales únicamente se desarrollan si es que la planta ha florecido o fructificado. A medida que cada hijo del rizoma alcanza la madurez, la yema terminal se transforma en una inflorescencia al ser presionada hacia arriba desde el suelo por el alargamiento del tallo, para posterior a esto emerger arriba del pseudotallo (Ortega, 2010).

Hojas y pseudotallo: Las hojas emergen enrolladas del pseudotallo, teniendo 2-4 metros de largo y hasta 1m de ancho, su color es verde y están dispuestas en forma de espiral. Sirven para estimar las etapas morfológicas y fenológicas del cultivo, mientras que el pseudotallo es el encargado de soportar todo el peso de la parte aérea de la planta (Rivera, 2018).

Inflorescencia: El banano tiene fruto partenocárpico. Sus flores son hermafroditas y femeninas. El número de flores femeninas y cantidad de racimos es correlacionado con el clon utilizado y la nutrición administrada (Hidalgo, 2016).

Fruto: El momento en que los ovarios abortan, los tejidos del pericarpio salen y engrosan. Al mismo tiempo la actividad de los canales de látex disminuye, hasta llegar a detenerse por completo cuando la fruta está madura (Infoagro, s.f).

2.3-Manejo agronómico del cultivo:

El cultivo de banano es un rubro que se adapta desde los 0 hasta los 300 msnm, cuando se supera esa altura, la fenología del banano hace que este cultivo deje de ser rentable, además, que disminuye la producción. La temperatura adecuada va desde los 21 a 32 grados centígrados, con una precipitación de 100 mm a 200 mm mensualmente. Requiere un mínimo de 4 horas al día de luz para poder desarrollarse de una manera adecuada. El banano prefiere los suelos franco arenosos, franco arcillosos o franco limosos con un pH oscilante entre 6 a 7,5. Para la siembra se recomienda el sistema tres

bolillo, con una distancia entre plantas de 2,8 metros por cada lado, para así poder obtener una población de 1,470 plantas por hectárea. Este sistema, es el que más beneficio obtiene del suelo y la luz solar. Se recomienda que el terreno sea plano o semiplano para poder tener un adecuado sistema de riego, drenajes y cable vía para el transporte de la fruta (INIAP, 2014).

2.4-Plagas y Enfermedades:

Las principales plagas de banano son el picudo, la cochinilla, y los nematodos, mientras que las principales enfermedades son sigatoka negra y sigatoka amarilla, moko y mal de Panamá. En la pos-cosecha se ha encontrado que los principales responsables de la pudrición de la corona son *Colletotrichum*, *Verticilium*, *Lasiodiplodia* y *Fusarium*, siendo *Colletotrichum* el más importante (Agris, 2004).

En un estudio realizado en Brasil, se evaluó la capacidad antagónica de *Trichoderma* ante el patógeno *Sclerotium rolfsii* Sacc. Este hongo que está presente en el suelo, afecta a más de 500 especies en 100 familias botánicas tanto en regiones tropicales como subtropicales alrededor del mundo, y es el causante del marchitamiento y podredumbre de la parte baja del tallo. Los resultados de antagonismo de *Trichoderma* fueron positivos, ya que la gran mayoría de las cepas inhibieron el crecimiento del patógeno, siendo las cepas EN220, CEN249, CEN260, CEN262 y CEN266 las más eficientes ya que tuvieron mayor actividad antagónica y parasítica al mostrar una colonización total frente a *S. rolfsii* a las 120 horas de inoculación (Correa y otros, 2007).

A lo largo del tiempo se ha venido buscando microorganismos antagonistas para poder contrarrestar o eliminar el ataque de patógenos hacia los cultivos de importancia económica, ya que sería una opción viable para mermar el uso de pesticidas y enfocarse hacia el uso de controladores biológicos, y de esta forma, mantener un balance entre la

naturaleza y la explotación agrícola. Es de conocimiento público, que *Trichoderma* tiene una capacidad antagonista contra un amplio espectro de hongos patógenos, tanto foliares como del suelo. Los estudios han demostrado que *Trichoderma* y *Gliocladium* son agentes controladores eficaces contra las enfermedades ocasionadas por *M. royeri* y *M. pernicioso*, tanto *in vitro* como *in situ*. Al evaluar dos cepas de *Trichoderma* (H5 y H20), se obtuvo que en los primeros quince días los tratamientos mostraron menor porcentaje de afectación frente al testigo, después, con la aparición de los síntomas, no hubo ninguna diferencia estadística en comparación con el testigo. El tratamiento con *Trichoderma* (H20) tuvo mejor respuesta; sin embargo, la diferencia no logró alcanzar niveles de significación y a la tercera semana la incidencia del hongo patógeno fue del 100% en todos los tratamientos incluido el testigo (Villamil y otros, 2014).

Otro estudio, se enfocó en determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios de una cepa de *Bacillus subtilis*, mediante fermentación líquida y recuperación de los mismo por medios físicos y químicos, para luego ser analizados con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectrometría de masas para realizar pruebas de antagonismo *in vitro* contra *Fusarium* sp. Los metabolitos antes mencionados son excelentes supresores de varios patógenos de cultivos incluyendo: *Phyium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Septoria* y *Verticilium*. Como resultado final obtuvieron que los metabolitos activos de *B. subtilis* resultaron ser eficientes frente a *Fusarium* sp con un 70-100% de inhibición en las 5 repeticiones realizadas de manera *in vitro* (Ariza y otros, 2012).

El “moko” que afecta a las musáceas es una bacteria (*Ralstonia solanacearum*) que causa podredumbre y mal olor en las plantas. Es por esto, que se ha llevado a cabo estudios para probar que la bacteria *Streptomyces* spp es antagonista frente al “moko” y que es una alternativa biológica viable para incluirla dentro del plan de manejo sanitario

de cada plantación, para que de esta manera, se pueda reducir considerablemente el uso de químicos que tanto afectan el medio ambiente o incluso sustituirlos por completo. Los aislamientos 24, 44 y 91 de *Streptomyces* spp demostraron su capacidad antagónica frente a la bacteria fitopatógena *Ralstonia solanacearum*, esto se evaluó *in vitro*, tanto en disco en placa y por concentración mínima inhibitoria (Mendoza, 2017).

Estos resultados son alentadores, puesto que sería una alternativa biológica para el control del “moko” en el cultivo de banano. Los microorganismos ejercen su efecto antagonista mediante varios mecanismos, tanto es así que el aislamiento 44 en la prueba de disco en placa no presentó antibiosis por halo de inhibición pero tuvo un alto crecimiento sobre *Ralstonia solanacearum* y, de esta manera, impidió el crecimiento del patógeno, así lo demostró la prueba de concentración mínima inhibitoria (Mendoza, 2017).

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* es uno de los causantes de la enfermedad más conocida como “antracnosis”, que afecta a un sinnúmero de cultivos, siendo la enfermedad más importante en frutas tropicales y subtropicales. Es la enfermedad de mayor diseminación a nivel mundial, siendo hospedera de varios cultivos como chirimoya, mango, papaya, aguacate, banano, etc. Normalmente el control de este patógeno, se realiza de manera convencional, es decir con fungicidas químicos, lo que conlleva a un alto costo de producción, contaminación del medio ambiente, trazas en productos pos-cosecha y lo más grave, causan resistencia después de algunas aplicaciones. Los resultados arrojan que las cepas de *Bacillus subtilis* presentan actividad antagonista *in vitro* contra el patógeno *C. gloeosporioides*, inhibiendo el crecimiento con halos de inhibición en confrontación directa. La cepa CBCC2 de *Bacillus subtilis* fue la que mostró resultados más alentadores al tener una mayor capacidad de deformación del tubo germinativo del patógeno, de esta manera, se

lograron identificar los aislados más promisorios para control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* (Ruiz y otros, 2014).

2.5-Ventajas de los biofungicidas:

Dentro de la variedad de compuestos que produce *Bacillus* podemos encontrar la surfactina, fengicina, iturina A, B y C, micosubtilinas y bacilomicinas, teniendo todas estas sustancias alta actividad antimicrobiana. La primera vez que se identificó la surfactina, fue como un inhibidor de la formación del coágulo de fibrina, pero ha demostrado funciones antimicrobianas, antitumorales y antivirales. El gen encargado de codificar la producción de este polipéptido es el *srfA*. Por otro lado la fengicina es capaz de combatir hongos filamentosos, sin embargo frente a levaduras y bacterias no es efectiva (Ariza y otros, 2012).

Una característica de los actinomicetos es que son muy sensibles a la penicilina; una de las funciones más importantes de estas bacterias, es que son las principales degradadoras de materia orgánica ya que son parte activa del ciclo biogeoquímico de varios nutrientes. Otra característica de estas bacterias, es que son capaces de producir fitohormonas como auxinas. Las auxinas son promotoras de crecimiento de las raíces, lo que conlleva a que estas bacterias también sean promotoras de crecimiento (Reyes y otros, 2015).

El éxito que se ha tenido con el *Trichoderma* como agente de control biológico, es por su capacidad reproductiva tan alta, la capacidad que tiene el hongo para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, la capacidad que tiene para modificar la rizósfera, la eficiencia en la utilización de nutrientes, lo agresivas que son las cepas contra hongos fitopatógenos y la inducción de crecimiento y mecanismos de defensa en las plantas (Moreno y otros, 2018). Normalmente las especies de

Trichoderma se caracterizan por tener un porcentaje de crecimiento micelial muy rápido y una abundante producción de esporas, lo que ayuda a que estas colonicen los sustratos o suelos de manera eficiente (Moreno y otros, 2018).

III.-OBJETIVOS E HIPÓTESIS-

3.1-Objetivo General:

Determinar el efecto de diferentes biofungicidas durante el proceso pos-cosecha para el control de la pudrición de la corona en banano.

3.2-Objetivos Específicos:

- Evaluar el efecto de los biofungicidas en el crecimiento de hongos en la corona de banano, mediante la escala de Frossard
- Determinar la vida en percha en base a la maduración de los clusters de banano , mediante la escala de maduración.
- Estimar la población de bacterias y hongos presentes en la corona de banano a la tercera semana.

3.3-Hipotesis:

Los biofungicidas son eficientes para el control de la pudrición de la corona en clusters de banano.

IV.- Materiales y Métodos-

4.1-Material Biológico y Químico:

4.1.1 *Trichoderma*:

Trichoderma es un hongo anaeróbico asexual (teleomorfo: *Hypocrea*), de la división ascomycota, que habita naturalmente en el suelo y que se caracteriza por tener un comportamiento saprófito o parasítico (Martinez y otros, 2015).

Las especies que más resultados positivos han arrojado han sido *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii* y *Trichoderma hamatum* (Moreno y otros, 2018).

Los mecanismos de acción del *Trichoderma* son varios, los cuales a continuación se detallan (Martinez y otros, 2013):

- competencia directa ya sea por espacio o nutrientes
- producción de metabolitos antibióticos
- inactivación de enzimas del agente patógeno
- modificación de las condiciones ambientales
- producción de sustancias que son promotoras de crecimiento vegetal y por micoparasitismo.

4.1.2 *Bacillus subtilis*:

Bacillus subtilis es una bacteria gram-positiva. Este tipo de bacterias llevan este nombre ya que por medio de la tinción de gram, estas se tiñen de azul o violeta. Estas bacterias se caracterizan por producir lipopéptidos, metabolitos primarios y secundarios, que cumplen con la función de antibiótico (Villareal y otros, 2017).

4.1.3 *Streptomyces*:

Los *Streptomyces* son bacterias gram-positivas que son parte de los actinomicetos, estos se caracterizan por producir metabolitos con una alta eficacia antimicrobiana, lo que incluye el biocontrol de patógenos. Se ha demostrado que varias cepas de *Streptomyces* sp, tienen la capacidad de reducir completamente el crecimiento de fitopatógenos *in vitro*, es por esto, que se ha llevado a *in vivo*, es decir a campo el uso de los metabolitos de estos. Principalmente las enzimas extracelulares como las quitinasas y beta-1, 3- glucanasas, han demostrado ser implacables contra hongos patógenos (Pérez y otros, 2015).

4.1.4 Mertect (tiabendazol):

Este fungicida es del grupo de los tiabendazoles. El compuesto en la planta es absorbido y traslocado de manera rápida, lo que hace que sea difícilmente lavado por lluvias. Debido al tamaño de su molécula, llega directamente a los sitios donde está ocurriendo la infección. La manera de actuar del tiabendazol, es inhibiendo la división celular, además afecta drásticamente la formación del huso acromático e inhibe la mitosis ya que se une a la tubulina, impidiendo de esta manera que el hongo crezca y se desarrolle con normalidad (Syngenta, 2020).

4.2 -Métodos:

4.2.1 Métodos de manejo de experimento

El experimento se realizó utilizando la variedad de banano Williams del tipo Cavendish, sembrada la hacienda “Lucía” que está ubicada en la provincia del Guayas, a un kilómetro de distancia de Puerto Inca, con coordenadas 2°31'33.43"S y 79°33'15.18"O. Actualmente, la hacienda exporta toda su producción, lo cual garantiza que la calidad del banano es premium.

Los tratamientos utilizados fueron 5, y se categorizaron de la siguiente manera:

- T1 = Tratamiento Químico
- T2 = Tratamiento con *Trichoderma*
- T3 = Tratamiento con *Bacillus subtilis*
- T4 = Tratamiento con *Streptomyces*
- T5 = Control (Agua)

Tabla 1.- Dosis y tratamientos aplicados

TRATAMIENTO	DOSIS
<p style="text-align: center;">QUÍMICO (Thiabendazol)</p> <p style="text-align: center;">PRODUCTO: Mertect</p> <p style="text-align: center;">LINK FICHA TECNICA: https://www.syngenta.com.co/sites/g/files/zhg481/f/mertect_500_sc_0.pdf?token=1573681947</p>	1 ml por litro de agua.
<p style="text-align: center;">TRICHODERMA</p> <p style="text-align: center;">PRODUCTO: TRICHOMET, MICROTECH</p> <p style="text-align: center;">LINK FICHA TECNICA: https://www.microtech.bio/producto/trichomet/</p>	10 ml por litro de agua.
<p style="text-align: center;">BACILLUS subtilis</p> <p style="text-align: center;">PRODUCTO: LINOR, MICROTECH</p> <p style="text-align: center;">Link ficha técnica: https://www.microtech.bio/producto/linor/</p>	5 ml por litro de agua.
<p style="text-align: center;">STREPTOMYCES</p> <p style="text-align: center;">PRODUCTO STREPTO, MICROTECH</p> <p style="text-align: center;">Link info del producto: www.microtech.bio</p>	5 ml por litro de agua.
<p style="text-align: center;">AGUA (CONTROL)</p>	N/A

La metodología utilizada para este experimento fue la realización de tres bloques o repeticiones por cada tratamiento. Para cada tratamiento, se utilizó 8 clusters de banano de exportación que tenían entre 10 a 13 semanas en la planta, tiempo establecido por la exportadora para el corte de la fruta. Posterior al corte de la fruta, se colocaron en una caja de exportación donde ubicaron 20 clusters de banano por caja, es decir se utilizaron 2 cajas de banano por cada repetición.

Para etiquetar cada cluster se utilizó un marcador permanente y se señaló el número de tratamiento. En la caja fueron separados por papel cartón, para que no hubiese interferencia de resultados. La aplicación de los biofungicidas, fungicida químico y control (agua) se realizó con atomizadores de 1000 ml, descargando la

totalidad del producto sobre los 8 clusters por tratamiento y, de esa manera, tener una cobertura uniforme como la que normalmente se hace en finca.

Las cajas fueron almacenadas en una bodega a 26 grados centígrados promedio y sin luz, y las evaluaciones se hicieron a los siete días, a los catorce días y a los 21 días posteriores a la aplicación de los productos. Cada caja se manejó con un color, para saber el número de repetición a la que pertenecía, siendo distribuida de la siguiente manera;

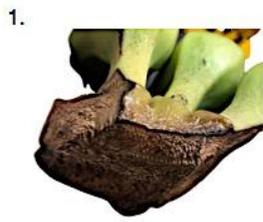
Caja marcada con negro = semana 1

Caja marcada con azul = semana 2

Caja marcada con rojo = semana 3

La evaluación de los resultados se hizo en base a dos escalas y a un análisis de laboratorio *in vitro* para el conteo de hongos y bacterias. La primera escala utilizada fue la escala de Frossard, esta escala tiene 9 niveles para la pudrición de corona de banano, siendo el número 1 cuando la fruta está totalmente sana y siendo 9 cuando la pudrición llega hasta la pulpa. La otra escala utilizada fue la escala de maduración, la cual tiene 7 niveles, el nivel 1 es la fruta totalmente verde intenso y el nivel 7 es cuando la fruta está amarilla y ya presenta manchas cafés.

Figura 1.- Escala de Frossard



Sin micelio



Con micelio



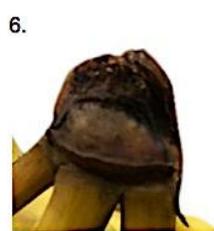
1/4 podredumbre



1/2 podredumbre



3/4 podredumbre



Podredumbre



1/2 del pedúnculo

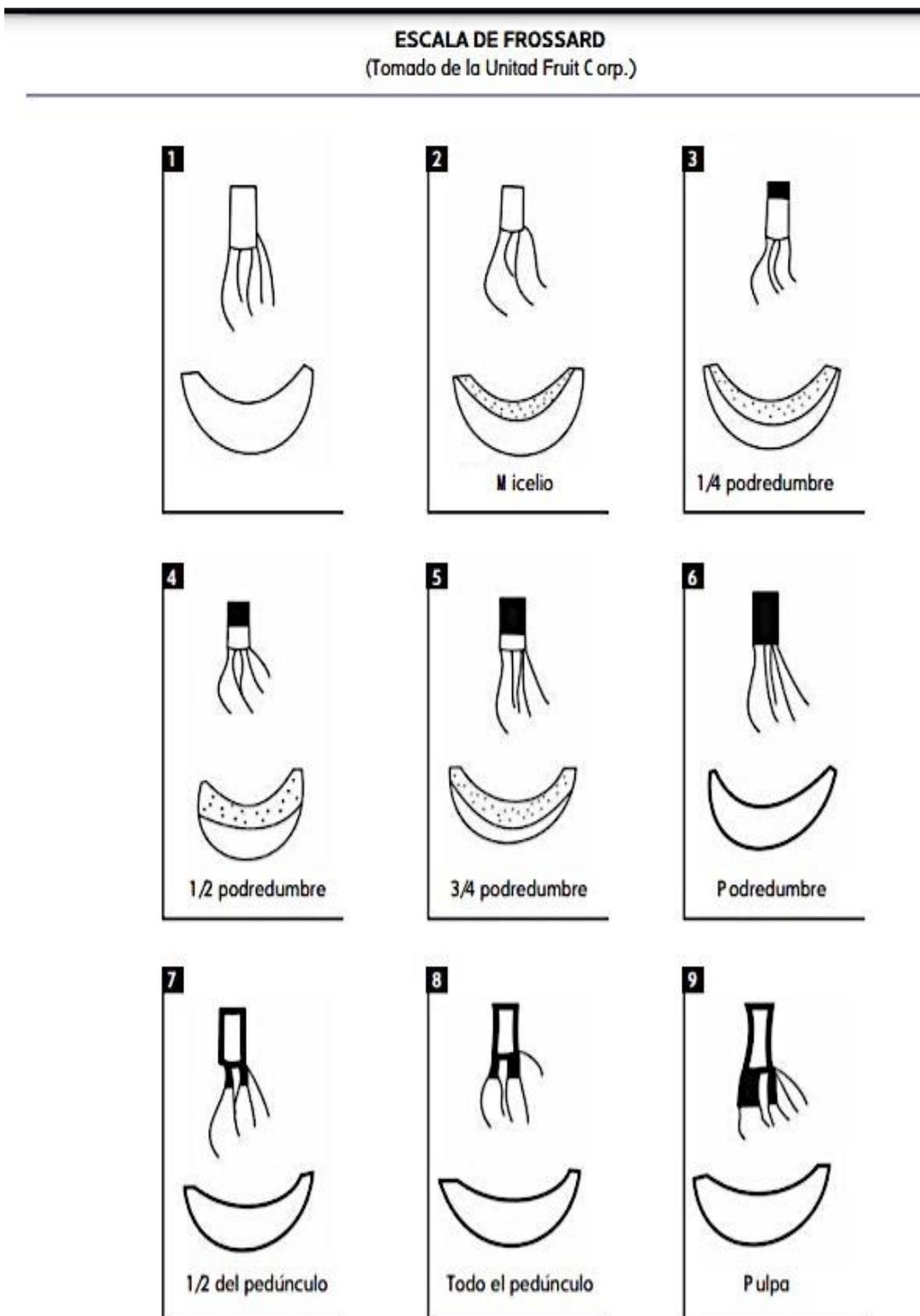


Todo el pendúnculo



Pulpa

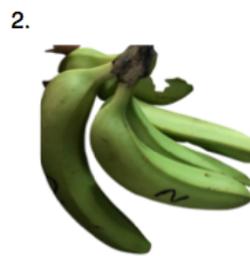
Figura 2: Escala de Frossard



(Scribano y Garcete, 2016)

Figura 3. Escala de Maduración

Verde



Verde claro



Verde amarillento



Más Amarillo que verde



Amarillo con puntos verdes



Totalmente amarillo



Amarillo con puntos cafés

4.2.2 Método de análisis de laboratorio

El análisis de laboratorio se realizó en el laboratorio de Agrobiotecnología de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ), con el fin de conocer las UFC (unidades formadoras de colonias) tanto de bacterias como de hongos. Las bacterias se sembraron en agar nutriente en 4 cajas petri a diluciones de 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} para lograr obtener resultados. Los hongos se sembraron en un medio PDA más gentamicina (antibiótico) para que no crezcan bacterias en el medio, y se utilizó las mismas diluciones que en bacterias. La recolección de los hongos y bacterias se hizo de 10 gramos de la parte interna de la corona de banano, utilizando la relación 10-1 (Cañedo y Ames, 2004).

4.2.3 Método estadístico

Prueba de Chi cuadrado:

Esta prueba estadística se usa para poner a prueba hipótesis referidas a distribución de frecuencias. De manera general, lo que hace la prueba del Chi cuadrado es que contrasta las frecuencias observadas con las frecuencias esperadas de acuerdo con la hipótesis nula (Quevedo, 2011).

Para el análisis de los resultados de las variables de respuesta se utilizó la prueba estadística de Chi cuadrado. Con los 120 datos obtenidos semanalmente, se realizaron tablas de contingencia, para poder realizar posteriormente gráficos. Luego, con la tabla de contingencia, se procedió a utilizar un paquete estadístico para calcular el Chi cuadrado. El programa fue desarrollado por Preacher en el 2011, únicamente se necesitan los resultados de las frecuencias observadas, incorporar los datos y dejar correr el programa.

V.- Resultados y Discusión

5.1-Escala Frossard:

La primera evaluación se realizó a los 7 días posterior a la aplicación de los tratamientos, y se obtuvo que los clusters no llegaron más allá del 4^{to} nivel de la escala de Frossard, siendo 1 fruta sana (sin micelio) y 9 el más severo (podredumbre de la pulpa). La evaluación se realizó en orden aleatorio para evitar cualquier tipo de sesgo.

Figura 4.- Porcentaje de afectación por tratamiento

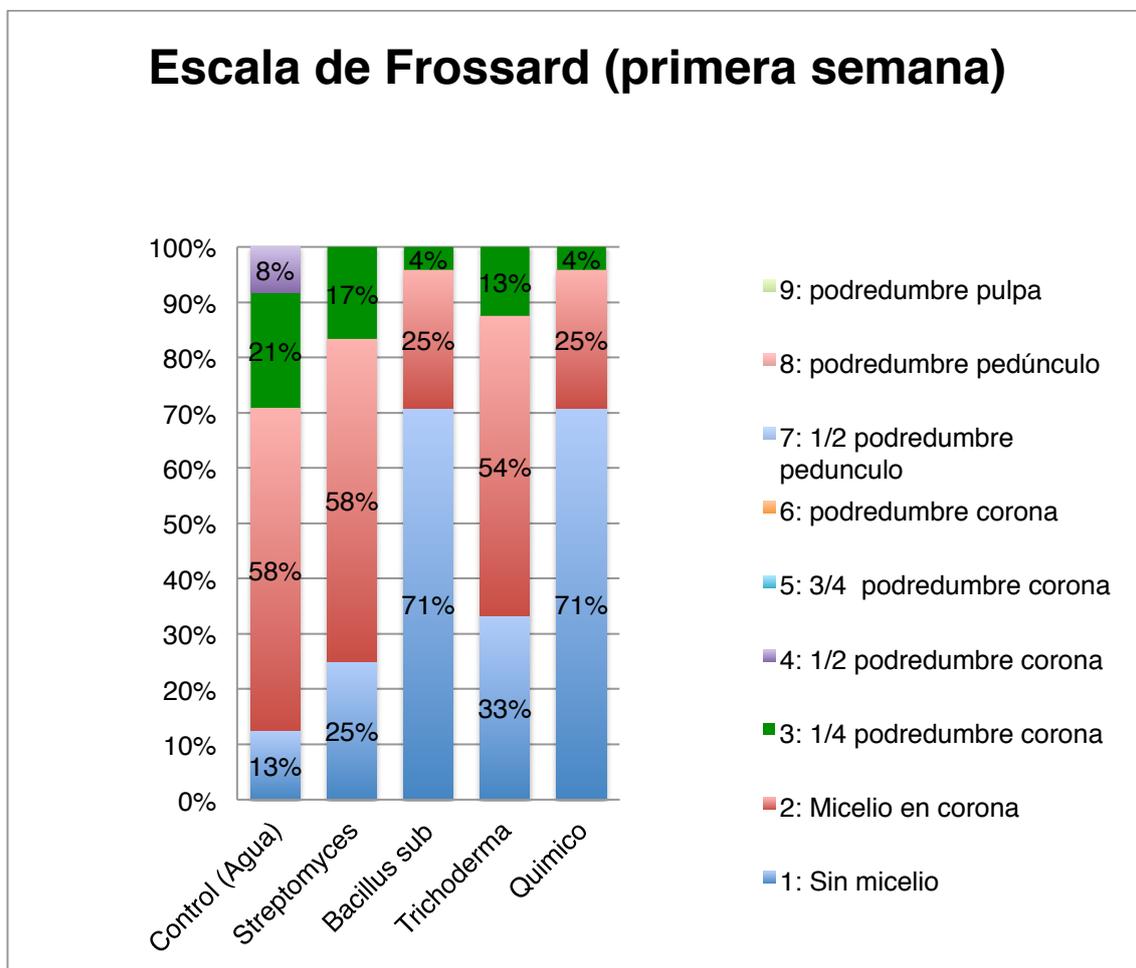


Tabla 2.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la primera semana, con un nivel de significancia de (0,05).

Químico	x				
<i>Trichoderma</i>	0,0002814 3	x			
<i>Bacillus subtilis</i>	1	0.00028143	x		
<i>Streptomyces</i>	8.00e-10	0.98702951	8,00E-07	x	
Control (Agua)	>1.00e-10	0.0164251	> 1e-10	0.14203496	x
	Químico	<i>Trichoderma</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptomyces</i>	Control (Agua)

Los resultados arrojados en la primera semana de evaluación con la escala de Frossard, indica que el tratamiento químico y el tratamiento con *Bacillus subtilis* fueron los tratamientos con mayor cantidad de fruta sana (71% de fruta sana para ambos tratamientos) sin ningún tipo de micelio ni podredumbre. Al contrario el control (agua) fue el tratamiento que más porcentaje de micelio en fruta presentó y a su vez el tratamiento que menos fruta sana tenía. Mediante la prueba de Chi cuadrado (tabla 2) podemos observar que *Bacillus subtilis* y Químico no hubo significancia ya que los datos de los resultados son muy similares y no son diferentes estadísticamente, así mismo *Trichoderma* con *Streptomyces* no tuvo significancia y *Streptomyces* con el control tampoco. Por otro lado, el tratamiento químico y *Bacillus subtilis* sí tuvieron diferencia significativa con los otros tratamientos.

Los resultados obtenidos en la segunda semana ocuparon los 9 niveles de la escala, llegando el control a tener un 4% en nivel 9 de la escala y el químico 38% en nivel 1 de la escala, esto nos da luces de cómo afecta seriamente la aplicación de un fungicida a la fruta. Las mediciones se hicieron totalmente al azar.

Figura 5.- Porcentaje de afectación por tratamiento

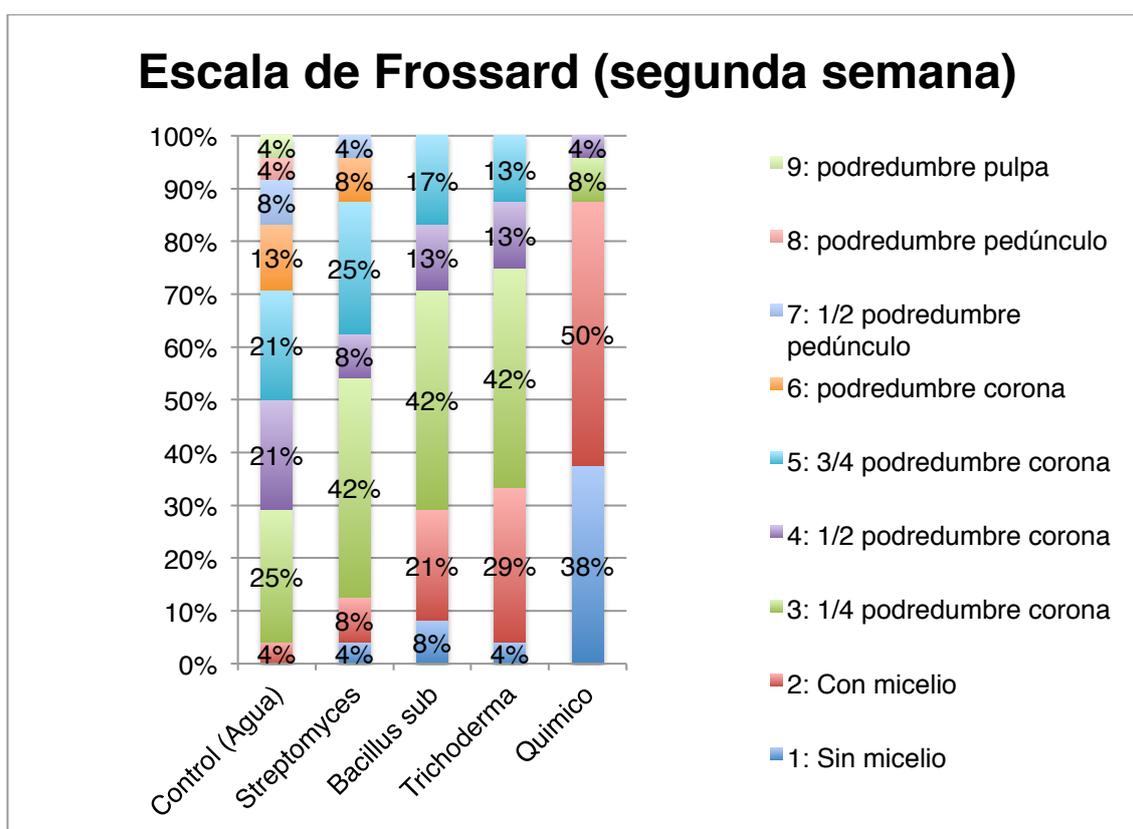


Tabla 3.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la segunda semana, con un nivel de significancia de (0,05).

Químico	x				
Trichoderma	> 1e-10	x			
Bacillus subtilis	> 1e-10	0.90142865	x		
Streptomyces	> 1e-10	0.00016037	0.005187	x	
Control (Agua)	> 1e-10	> 1e-10	> 1e-10	0.00085192	x
	Químico	Trichoderma	Bacillus subtilis	Streptomyces	Control (Agua)

Los resultados obtenidos en la segunda semana en la escala de Frossard (figura 5), nos indican que el tratamiento químico es el tratamiento con más porcentaje de fruta sana (38%) y con mayor porcentaje de corona con micelio, lo que se traduce en mayor

eficacia contra los patógenos. *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* tienen un comportamiento parecido, sin embargo el control (agua) es el tratamiento más afectado, ya que no tiene ningún cluster sano e incluso hubo clusters con la pulpa podrida (escala 9). En la prueba de Chi cuadrado (tabla 3) podemos observar que todos los tratamientos tienen diferencia significativa a excepción de *Trichoderma* versus *Bacillus subtilis*, siendo *Trichoderma* superior.

En la semana 3 ya podemos ver los resultados finales, donde el peor tratamiento es el control con un 12,5% en nivel 9 (podredumbre de pulpa), mientras que el químico y *Trichoderma* tienen apenas un 4,2 en nivel 9.

Figura 6.- Porcentaje de afectación por tratamiento

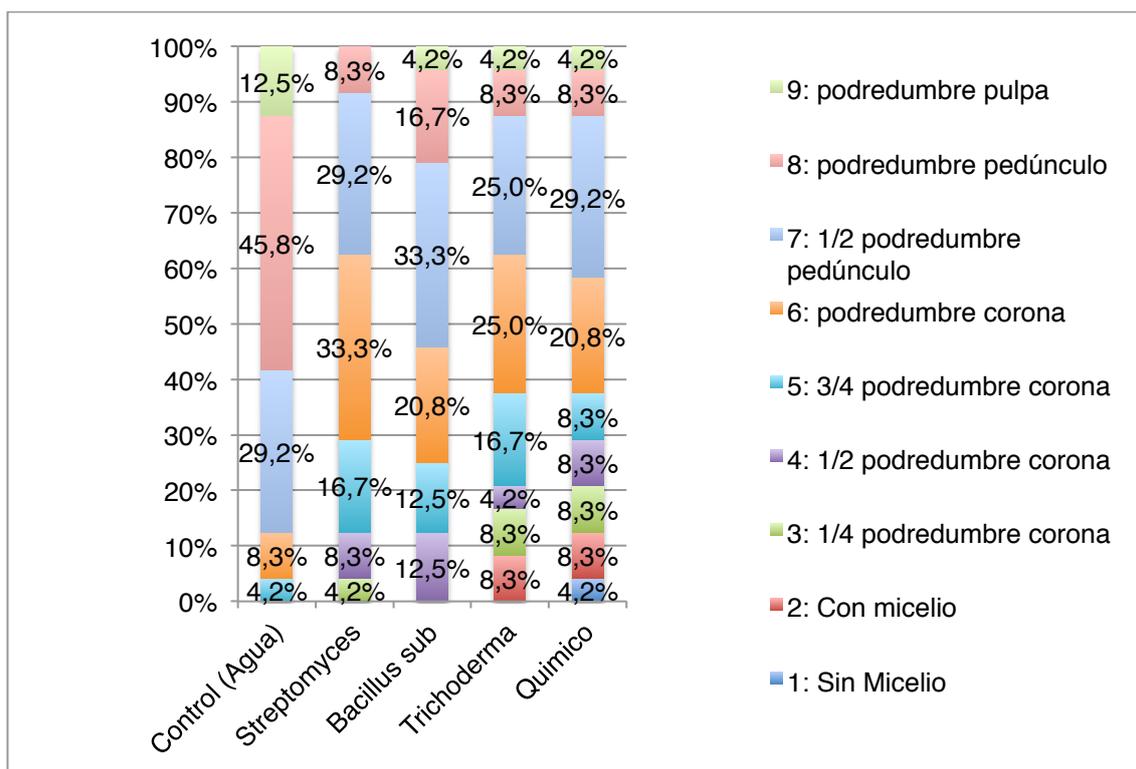


Tabla 4.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Frossard de la tercera semana, con un nivel de significancia de (0,05).

Químico	x				
<i>Trichoderma</i>	0.324647	x			
<i>Bacillus subtilis</i>	0.000906	0.002199	x		
<i>Streptomyces</i>	0.002447	0.05145813	0.04427906	x	
Control (Agua)	> 1e-10	> 1e-10	0.00000138	> 1e-10	x
	Químico	<i>Trichoderma</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptomyces</i>	Control (agua)

Trichoderma es un hongo antagonista que se ha venido utilizando durante varios años por sus excelentes resultados. Se utiliza mucho este agente microbiológico porque es un gran controlador de patógenos debido a sus mecanismos de acción. Es un hongo de fácil obtención por su rapidez para aislarlo, además es muy versátil en diferentes escenarios (Riera, 2015).

Los resultados obtenidos por Rivas (2017), demuestran que los fungicidas químicos (tiabendazol) son superiores en el control de la pudrición de la corona en banano, llegando a tener 37,5% en grado 0 de pudrición de la corona, mientras que el siguiente tratamiento (*Bacillus subtilis*) tenía solo un 12% en grado 0.

En la tercera semana de evaluación podemos observar que el tratamiento químico sigue siendo el mejor tratamiento ya que incluso hay clusters que todavía tienen la corona intacto (escala 1), no obstante el tratamiento con *Trichoderma* demuestra en la prueba de Chi cuadrado (tabla 4) que no tiene diferencia significativa

con el tratamiento químico, lo que indica que su comportamiento fue muy semejante y que se debe tomar en cuenta para futuras investigaciones.

Después de analizar 3 semanas los clusters con diferentes tratamientos, los resultados son promisorios para *Trichoderma* ya que en los 8 de los 9 niveles de la escala de Frossard, tiene valores muy similares, siendo la única diferencia en el nivel 1 (sin micelio) que el tratamiento con *Trichoderma* tiene el 0% y Químico tiene el 4%, destacándose sobre los demás. Es por esto que en la prueba de Chi cuadrado no hay diferencia significativa.

5.2- Evaluación después de la aplicación del producto sobre la maduración:

Esta escala tiene 7 niveles, siendo el nivel 1 la fruta verde y 7 el banano amarillo con puntos cafés. La evaluación fue realizada totalmente al azar para prevenir cualquier tipo de sesgo. Se realizaron 3 evaluaciones cada 7 días.

Figura 7.- Porcentaje de afectación por tratamiento

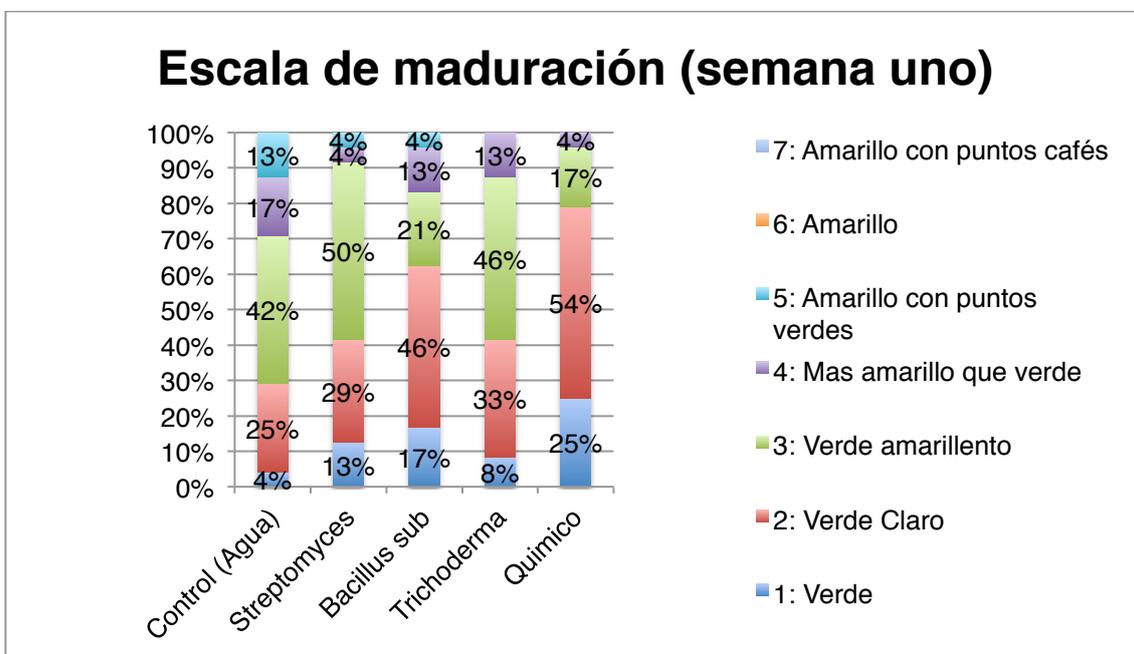


Tabla 5.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la primera semana, con un nivel de significancia de (0,05).

Químico	x				
<i>Trichoderma</i>	0.0000167 6	x			
<i>Bacillus subtilis</i>	0.1020810 1	0.00469576	x		
<i>Streptomyces</i>	0.0000197	0.10953479	0.0018407	x	
Control (Agua)	> 1e-10	0.01298633	0.0001752 6	0.00674114	x
	Químico	<i>Trichoderma</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptomyces</i>	Control (agua)

En la figura 4 podemos observar que el tratamiento químico tuvo un 25% de clusters en escala 1 (verde), mientras que el control (agua) fue el tratamiento con mayor maduración temprana (13%). Esto puede atribuirse a varias razones, una de esas es que la fruta al entrar en estrés por la pudrición de la corona, exuda una mayor cantidad de etileno y por ende madura con mayor rapidez, provocando que el control aumente notoriamente en la escala de maduración mientras que el resto de tratamientos no. Así mismo la prueba de Chi cuadrado (tabla 5) muestra que hay diferencia significativa entre todos los tratamientos excepto del químico versus *Bacillus subtilis* (10%) y de *Trichoderma* versus *Streptomyces* (10%).

En la segunda semana de evaluación ya se puede apreciar una diferencia entre el control vs el químico, afectando directamente a la maduración de la fruta.

Figura 8.- Porcentaje de afectación por tratamiento

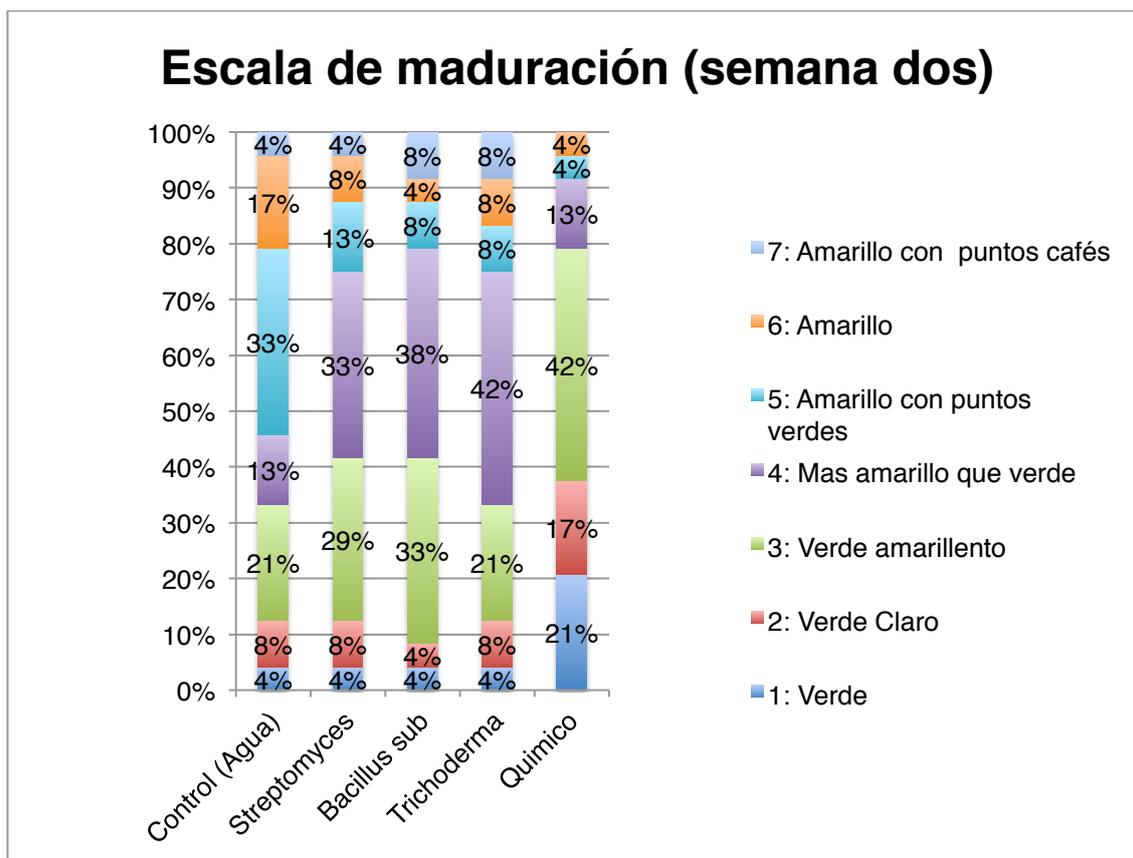


Tabla 6.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la segunda semana, con un nivel de significancia de (0,05).

Quimico	x				
Trichoderma	1,00E-08	x			
Bacillus subtilis	1.1e-7	0.47747721	x		
Streptomyces	0.00000128	0.47124341	0.44584752	x	
Control (Agua)	> 1e-10	0.00000316	2.9e-7	0.00119981	x
	Quimico	Trichoderma	Bacillus subtilis	Streptomyces	Control (Agua)

En la segunda semana de evaluación de maduración de la fruta, se observó que el control (agua), fue el tratamiento que mayor cantidad de clusters tuvo cerca de la

maduración completa. No hubo diferencia significativa entre *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* y *Trichoderma*, ya que en nivel 1 los resultados fueron 4% para los 3 tratamientos mientras que en nivel 7 fueron 8%, 4% y 8% respectivamente. No obstante, el químico sí tuvo diferencia significativa con todos, siendo superior en esta evaluación ya que tenía el 21% de clusters en etapa de maduración 1 (verde).

Figura 9.- Porcentaje de afectación por tratamiento

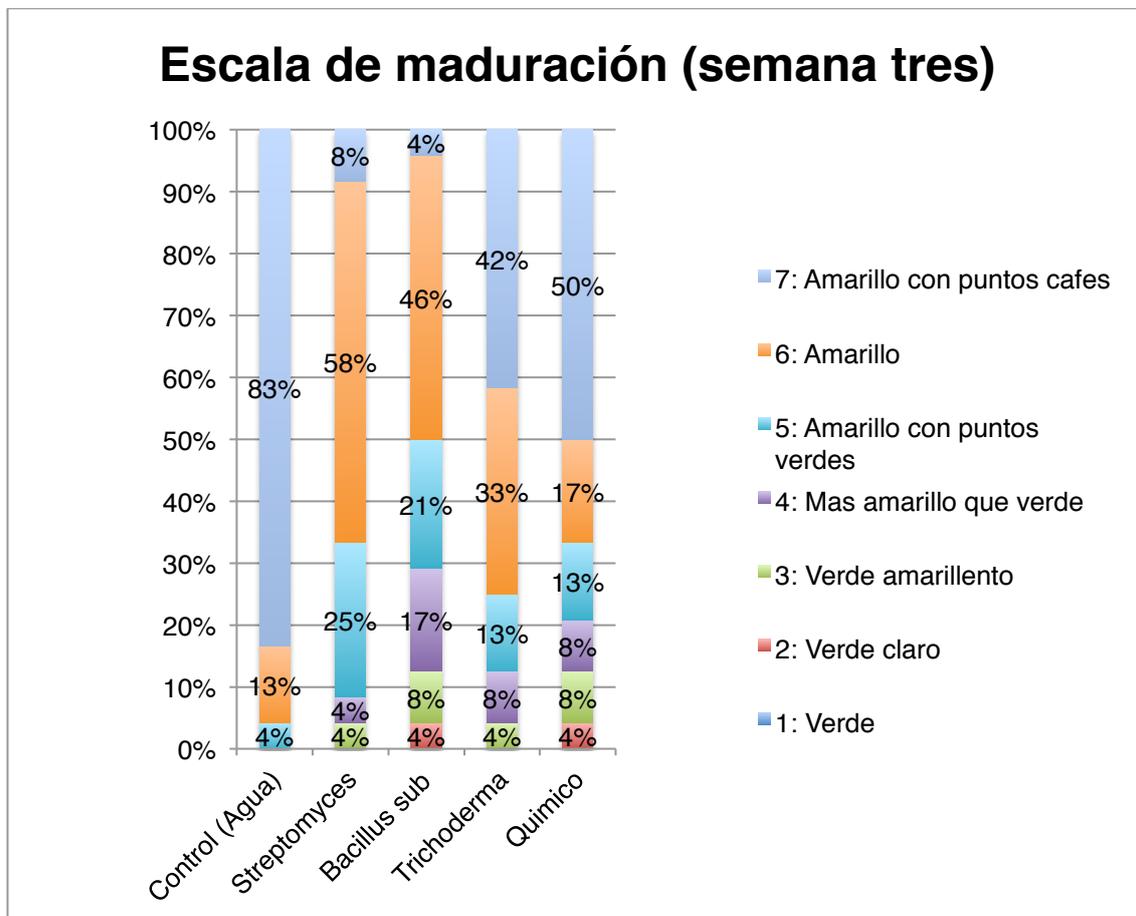


Tabla 7.- Prueba de Chi cuadrado de los resultados de Maduración de la tercera semana, con un nivel de significancia de (0,05).

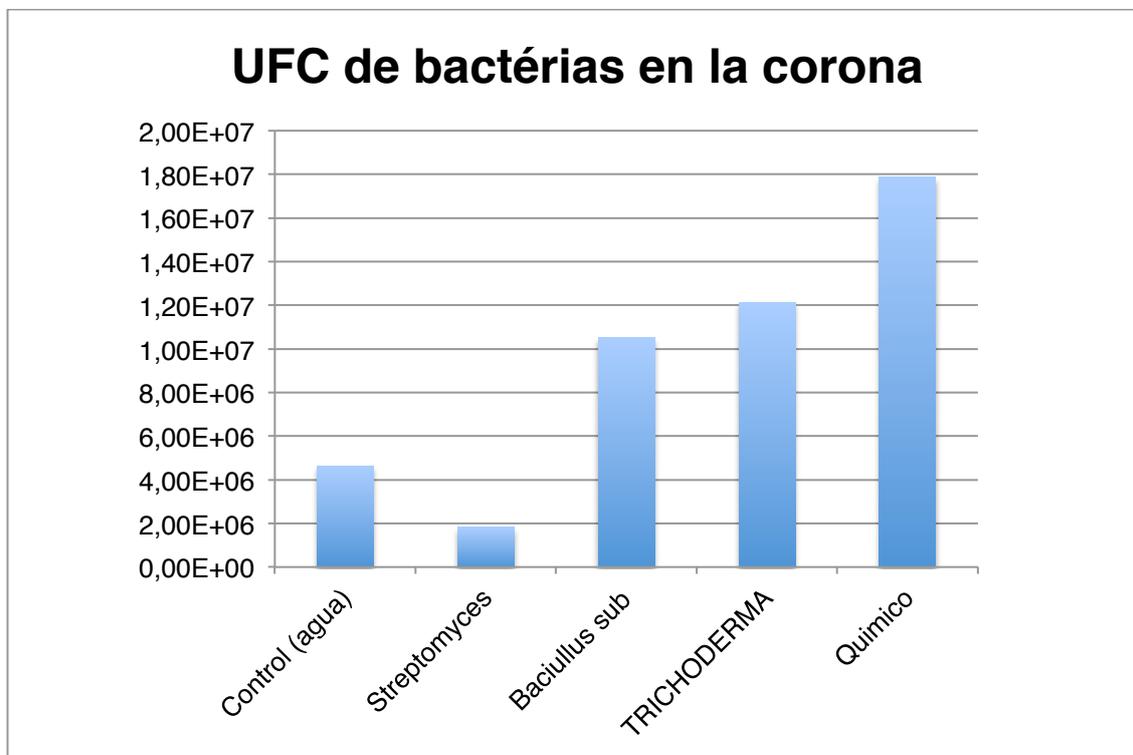
Químico	x				
<i>Trichoderma</i>	0.0838791	x			
<i>Bacillus subtilis</i>	> 1e-10	7,00E-08	x		
<i>Streptomyces</i>	> 1e-10	0.0000039	0.0107394 6	x	
Control (Agua)	> 1e-10	7.5e-7	> 1e-10	> 1e-10	x
	Químico	<i>Trichoderma</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptomyces</i>	Control (agua)

Claramente se puede ver en la figura 5 que el control tiene un 83% de fruta en estado de madurez, inclusive se presentaron algunos clusters con pudrición en pulpa. Sin embargo, la escala solo mide hasta 7 ya que la fruta es de exportación y ningún comprador recibiría la fruta en estado de deterioro. Con la prueba de Chi cuadrado (tabla 7) se puede observar que entre todos los tratamientos hay diferencia significativa con la única excepción del químico con el *Trichoderma*. Esto nos da una señal sobre el estrés de la fruta, es decir que los tratamientos con *Trichoderma* y químico tienen la misma respuesta a la maduración, siendo un resultado positivo para el experimento ya que el objetivo del estudio era encontrar una opción orgánica para el control de la pudrición de la corona.

En la investigación de Riera (2015), señala que la cepa de *Trichoderma* (G2AB) presentó una inhibición del 57,79% de *Colletotrichum*, comparando con los resultados obtenidos en este estudio, se puede confirmar que *Trichoderma* es muy eficiente contra patógenos, contrarrestando a la enfermedad.

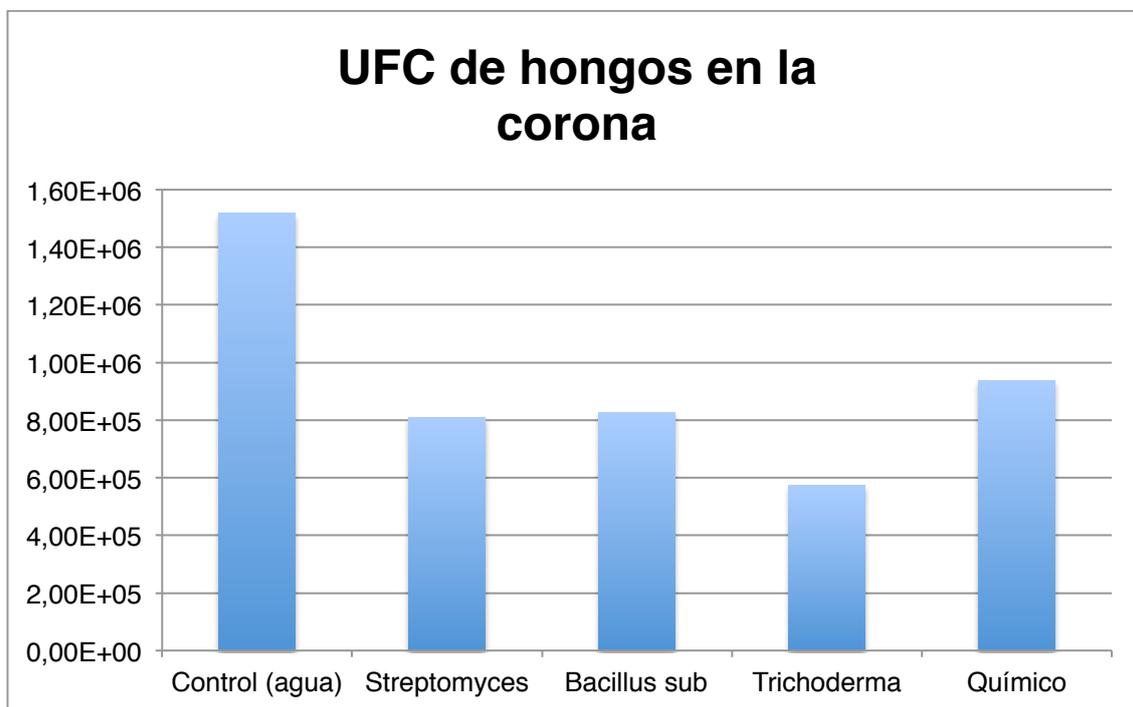
5.3-Conteo de Bacterias:

Figura 10.- Promedio de UFC de bacterias en los 5 tratamientos de las 3 semanas evaluadas.



Después de analizar las coronas de los clusters de banano en el laboratorio, se obtuvieron los resultados (figura 8) que reflejan que la mayor carga bacteriana en corona al final del experimento, lo tuvo el tratamiento químico con $1,79E+07$ UFC, mientras que el tratamiento con *Streptomyces* ($1,83E+06$ UFC) nos muestra que es el tratamiento con menor carga bacteriana, lo que apunta a que probablemente las bacterias fueron muriendo por no estar en condiciones idóneas para su crecimiento.

Figura 11.- Promedio de UFC de hongos en los 5 tratamientos de las 3 semanas evaluadas.



La figura 7 demuestra la cantidad de UFC de hongos presentes en la corona de banano. Se puede ver que en todos los tratamientos a excepción del control (agua), tienen una carga fúngica similar; sin embargo, *Trichoderma* se puede traducir mal los resultados ya que es un hongo y si bien está presente en las coronas, este no es patógeno, por lo contrario está presente combatiendo a los patógenos. Basándonos en lo anteriormente señalado, se tendría argumentos para decir que existe una alta cantidad de hongos en el tratamiento con *Trichoderma* pero dicho hongo es un biocontrolador y con la referencia de maduración y Frossard, podemos decir que el comportamiento como antagonista es muy bueno en comparación con sus competidores (*Bacillus subtilis* y *Streptomyces*). El control es el tratamiento con mayor cantidad de UFC de hongos, esto se puede dar porque la fruta está en una descomposición total por la afectación previa del hongo, por ende existe una muy alta carga fúngica.

VI.- Conclusiones y Recomendaciones

6.1-Conclusiones:

En base a los resultados obtenidos en la escala de daño de las coronas o de Frossard en este trabajo de investigación, se puede observar que el fungicida químico es el único tratamiento que en la tercera semana de evaluación tuvo un 4,2% de clusters con su corona intacta sin presencia de micelio. Los datos también arrojaron que el tratamiento con *Trichoderma* (10 ml por litro de agua) tuvo un buen desempeño ya que los porcentajes en cada nivel de la escala son similares estadísticamente al del químico, teniendo la única diferencia de 4,2% en nivel 1.

En la escala de maduración se observó que *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* mostraron menores niveles de maduración comparado con el resto de tratamientos. Lo que podemos concluir es que todos los tratamientos redujeron la maduración, sin embargo *Streptomyces* es el tratamiento que menor estado de maduración presentó, seguido por *Bacillus subtilis*.

En el promedio de las 3 semanas de conteo de bacterias, el tratamiento químico ($1,79E+07$ UFC) presentó mayor cantidad promedio de bacterias que el control. Todos los tratamientos presentaron menor cantidad promedio de hongos comparando con el testigo ($1,52E+06$ UFC). Esto nos indica que los microorganismos están presentes y que su reproducción acelerada va a desencadenar en la pudrición de corona y por último la pulpa. Así mismo, estos resultados nos indican que hay resistencia al fungicida por

parte de los microorganismos en el tratamiento químico y esto a la larga causa más pérdidas económicas tanto para el productor como para el exportador.

6.2-Recomendaciones:

Se sugiere hacer otro experimento con más repeticiones y a diferentes dosis para comparar y obtener resultados que nos permitan determinar su efectividad y asegurar que el uso de *Trichoderma* es igual de efectivo que el uso de fungicida químico y, de esta manera, lograr implementar el uso de fungicidas biológicos en la pos-cosecha y garantizar la calidad del banano con fines de exportación.

Se recomienda hacer un análisis específico para corroborar si es *Colletotrichum*, *Fusarium* y *Lasiodiplodia*, de esta manera nos aseguraremos que la carga fúngica es netamente del patógeno y no de hongos en general.

VII.- Bibliografía Consultada.-

- Aguilar, R., García, R., Dulanto, J., & Maldonado, E. (2013). Hongos asociados a la pudrición de la corona en frutos de banano orgánico (*Musa spp. L.*) en Piura, Perú. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 4(1), 81-88.
<https://www.mendeley.com/catalogue/1822fa93-d863-3d4d-868f-811e6e848256/>
- Agrios, G. (2004). *Plant Pathology* (5.a ed.). Elsevier.
- Ariza, Y., & Sánchez, L. (2012). *Determinación de metabolitos secundarios a partir de Bacillus subtilis con efecto biocontrolador sobre Fusarium sp.* *Ciencias Biomédicas*, 10(18), 150-155.
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a01.pdf>
- Balza, J. (2019). *Control de la pudrición de la corona del banano con el biofungicida Canelys*. Red Agrícola. <https://www.redagricola.com/pe/control-la-pudricion-la-corona-del-banano-biofungicida-canelys/#:~:text=La%20pudrici%C3%B3n%20de%20la%20corona%20del%20banano%20es%20una%20enfermedad,zonas%20productoras%2C%20especialmente%20en%20Piura.>
- Bananotecnia. (2013). *Cultivo de banano orgánico*. Banotecnia.
<http://www.bananotecnia.com/noticias/cultivo-de-banano-organico-las-mayores-plantaciones-se-encuentran-en-el-norte/>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *MANUAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS*. CIP. <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>

- Chessman, E. (1948). Classification of the Bananas. *Key Bulletin*, 3(2), 145-153. Springer. Doi: 10.2307/4119749.
- Corral, M. (2020). Plátano: beneficios, propiedades y valores nutricionales de una fruta rica en potasio. *El Español*.
https://www.lespanol.com/ciencia/nutricion/20200701/platano-beneficios-propiedades-valores-nutricionales-fruta-potasio/498450688_0.html
- Correa, S., Mello, M., Avila, Z., Minaré Braúna, L., Pádua, R., & Gomes, D. (2007). CEPAS DE TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE SCLEROTIUM ROLFSSII SACC. *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana, Cuba*, 11, 3-9.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v68n1/v68n1a05.pdf>
- FAO. (2020). Análisis del mercado del banano de 2019. FAO.
<https://fao.org/3/cb0168es/cb0168es.pdf>
- Hidalgo, I. (2016). *EFEECTO DE CUATRO FUNGICIDAS EN EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN DE LA CORONA DE LA MANO DE BANANO (Musa paradisiaca L.)*. Repositorio. UG.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11197/1/Hidalgo%20Ordo%c3%blez%20Isaac%20Rodrigo.pdf>
- Infoagro. (s. f.). *El cultivo del plátano (banano)*. Infoagro.
https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_platano__banano_.asp
- INIAP. (2014). *Cultivo de Banano*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mmusa/rbanano>

- INIAP. (s.f). *Banano, plátano y otras musáceas*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. <http://www.iniap.gob.ec/pruebav3/banano-platano-y-otras-musaceas/>
- Jaramillo, E., & Argüello, A. (2020). *Ecuador, líder en la producción de banano*. Ekos. <https://www.ekosnegocios.com/articulo/ecuador-lider-en-la-produccion-de-banano>
- Leatherdale, D. (2016). *De dónde vienen las bananas y cómo el mal de Panamá está acabando con ellas*. BBC. https://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/01/160124_banana_hongo_extincion_ilm
- Lizarzaburo, G. (2020). Se dispara el precio del banano hasta los 10,30 dólares por caja. *Expreso*. <https://www.expreso.ec/actualidad/economia/dispara-precio-banano-10-30-dolares-caja-4714.html>
- Marin, D., Sutton, T., & Barker, K. (1998). Dissemination of Bananas in Latin America and the Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radophulus similis*. *APS journals*, 82(9), 964-974. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.1998.82.9.964>
- Martínez, B., Infante, D., & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Protección Vegetal*, 30(1), 11-22. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30s1/rpv004s15.pdf>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Mendoza, E. (2017). *Potencial biológico de cepas autótonas de Streptomyces spp. como antagonista frente a Ralstonia solanacearum*. UNIVERSIDAD CATÓLICA DE

MANIZALES.

<http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/bitstream/handle/10839/1786/Eliana%20Mendoza%20Mendoza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ministerio de Comercio Exterior. (2017). *Informe Sector Bananero Ecuatoriano*.
<https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-espa%20ol-04dic17.pdf>

Moreno, A., Cotes, A., Beltrán, C., Bettiol, W., & Elad, Y. (2018). Control biológico de patógenos del suelo. *Agroproductividad*, 169-175. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad>

Ortega, N. (2010). *Obtención de multimeristemas y callos de diferentes variedades de banano y plátano (musa spp.) a partir de «Meristemas apicales» y «scalps»*. ESPOL.

<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10918/4/ORTEGA%20Perez%20NATHALIE%20VICTORIA.pdf>

Pérez, F., León, J., & Galindo, N. (2015). Actinomicetos aislados del compost y su actividad antagonista a fitopatógenos de la papa (*Solanum tuberosum* spp. andigena Hawkes). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(2), 1-10.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200116

Quevedo, F. (2011). *La prueba de ji-cuadrado*. Medwave.
<https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Series/MBE04/5266>

Rainforest Alliance. (2020). Estándar de agricultura sostenible. Recuperado de: https://www.rainforest-alliance.org/business/wp-content/uploads/2020/06/2020-Sustainable-Agriculture-Standard_Farm-Requirements_Rainforest-Alliance-Es.pdf

- Reyes, A., Rincón, G., López, L., Evangelista, Z., & Quiñones, E. (2015). Lucha entre microbios: una herramienta para el control de enfermedades de plantas. *Revista UNAM*, 16(11), 2-8. <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num11/art92/#>
- Riera, N. (2015). Caracterización molecular y de patogenicidad de *Colletotrichum* spp, en bananas var Cavendish y pruebas de antagonismo con *Trichoderma* spp., recolectadas en fincas bananeras de la región costa del Ecuador. Repositorio USFQ. <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4461/1/121550.pdf>
- Rivas, R. (2017). Actividad en laboratorio y pos-cosecha de biofungicidas sobre el control de *Fusarium* spp y *colletotrichum musae*, agentes causales de enfermedades de pos-cosecha en banano (Musa AAA, subgrupo Cavendish). Repositorio UCR. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3424/1/40316.pdf>
- Rivera, J. (2018). “*EVALUACIÓN DE TRES FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN DE LA CORONA DE LA MANO CON DOS DOSIS EN BANANO (Musa paradisiaca L.) VARIEDAD WILLIAM*”. Repositorio. UG. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29741/1/Rivera%20Narea%20Jorge%20Luis.pdf>
- Ruiz, E., Mejía, M., Cristobal, J., Valencia, A., & Reyes, A. (2014). Actividad antagonica de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*, 5(7), 1-10. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000700015

- Salazar, R. (2020). 2020 grandes desafíos para el Banano y el efecto Coronavirus. El Productor. <https://elproductor.com/2020/03/2020-grandes-desafios-para-el-banano-y-el-efecto-coronavirus/>
- Scribano, F., & Garcete, V. (2016). Eficiencia de fungicidas de síntesis y orgánicos sobre la pudrición de corona del fruto de banano *Musa acuminata* Colla en la provincia de Formosa, Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42(2), 201-206. <https://www.redalyc.org/pdf/864/86447075013.pdf>
- Syngenta. (2020). *Syngenta*. Syngenta Colombia. https://www.syngenta.com.co/sites/g/files/zhg481/f/mertect_500_sc_0.pdf?token=1573681947
- Vásquez, W., Racines, M., Moncayo, P., Viera, W., & Seraquive, M. (2019). Calidad del fruto y pérdidas pos-cosecha de banano orgánico (*Musa acuminata*) en el Ecuador. *SciELO*, 10(4), 57-66. <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/enfoqueute/v10n4/1390-6542-enfoqueute-10-04-00057.pdf>
- Villamil, J., Viteri, S., & Villegas, W. (2014). *Aplicación de Antagonistas Microbianos para el Control Biológico de Moniliophthora roreri Cif & Par en Theobroma cacao L. Bajo Condiciones de Campo*. SciELO. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v68n1/v68n1a05.pdf>
- Villareal, M., Villa, E., Cira, L., & Estrada, M. (2017). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de fitopatología*, 36(1), 95-130. <https://www.smf.org.mx/rmf/ojs/index.php/RMF/article/view/100/97>

VIII.-Anexos.-

Tabla 8.- Tabla de contingencia semana 1 escala Frossard

Tratamiento	ESCALA DE FROSSARD									TOTAL FILAS
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Químico	17	6	1	0	0	0	0	0	0	24
Trichoderma	8	13	3	0	0	0	0	0	0	24
Bacillus sub	17	6	1	0	0	0	0	0	0	24
Streptomyces	6	14	4	0	0	0	0	0	0	24
Control (Agua)	3	14	5	2	0	0	0	0	0	24
TOTAL COLUMNAS	51	53	14	2	0	0	0	0	0	120

Tabla 9.- Tabla de contingencia semana 2 escala Frossard

Tratamiento	ESCALA DE FROSSARD									Total Filas
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Químico	9	12	2	1	0	0	0	0	0	24
Trichoderma	1	7	10	3	3	0	0	0	0	24
Bacillus sub	2	5	10	3	4	0	0	0	0	24
Streptomyces	1	2	10	2	6	2	1	0	0	24
Control (Agua)	0	1	6	5	5	3	2	1	1	24
TOTAL COLUMNAS	13	27	38	14	18	5	3	1	1	120

Tabla 10.- Tabla de contingencia semana 3 escala Frossard

Tratamiento	ESCALA DE FROSSARD									Total Filas
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Químico	1	2	2	2	2	5	7	2	1	24
Trichoderma	0	2	2	1	4	6	6	2	1	24
Bacillus sub	0	0	0	3	3	5	8	4	1	24
Streptomyces	0	0	1	2	4	8	7	2	0	24
Control (Agua)	0	0	0	0	1	2	7	11	3	24
TOTAL COLUMNAS	1	4	5	8	14	26	35	21	6	120

Tabla 11.- Tabla de contingencia semana 1 escala maduración

Tratamiento	ESCALA DE MADURACION							TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	
Químico	6	13	4	1	0	0	0	24
Trichoderma	2	8	11	3	0	0	0	24
Bacillus sub	4	11	5	3	1	0	0	24
Streptomyces	3	7	12	1	1	0	0	24
Control (Agua)	1	6	10	4	3	0	0	24
TOTAL COLUMNAS	16	45	42	12	5	0	0	120

Tabla 12.- Tabla de contingencia semana 2 escala maduración

Tratamiento	ESCALA DE MADURACION							TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	
Químico	5	4	10	3	1	1	0	24
Trichoderma	1	2	5	10	2	2	2	24
Bacillus sub	1	1	8	9	2	1	2	24
Streptomyces	1	2	7	8	3	2	1	24
Control (Agua)	1	2	5	3	8	4	1	24
TOTAL COLUMNAS	9	11	35	33	16	10	6	120

Tabla 13.- Tabla de contingencia semana 3 escala maduración

Tratamiento	ESCALA DE MADURACION							TOTAL
	1	2	3	4	5	6	7	
Químico	0	1	2	2	3	4	12	24
Trichoderma	0	0	1	2	3	8	10	24
Bacillus sub	0	1	2	4	5	11	1	24
Streptomyces	0	0	1	1	6	14	2	24
Control (Agua)	0	0	0	0	1	3	20	24
TOTAL COLUMNAS	0	2	6	9	18	40	45	120