

Influencia del Calcio, Cobre y Boro en el Desarrollo de Plantas Micropropagadas de Banano Variedad Williams, e Inoculadas con Conidias y Concentrado Crudo Tóxico de *Mycosphaerella Fijiensis*

M. Barcos*, E. Peralta, M. Jiménez, O. Ruiz, P. Gómez
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE)
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km. 30.5 vía Perimetral
Apartado 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador
*mbarcos@espol.edu.ec, barcos25@hotmail.com

Resumen

*Esta investigación tuvo como objetivos determinar la influencia de calcio, cobre y boro sobre los parámetros de crecimiento, a nivel in vitro, de plantas de banano y su comportamiento en el desarrollo de la Sigatoka negra. Para el estudio se diseñaron ocho tratamientos con diferentes combinaciones y concentraciones de los tres elementos en estudio, a partir de los cuales se prepararon los medios de cultivo, en los que fueron sembrados los propágulos. Se empleó un testigo constituido por el medio MS comercial. Se evaluaron semanalmente los diferentes parámetros agronómicos de las vitroplántulas, durante 45 días. Posteriormente, se tomaron discos de hojas y se realizaron inoculaciones dirigidas con conidias y con concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis*, evaluándose los daños. En los análisis estadísticos se observó diferencias estadísticas entre los tratamientos y el control al evaluarse los diferentes parámetros agronómicos estudiados. Las evaluaciones realizadas con conidias no presentaron diferencias estadísticas a pesar de que los tratamientos (T3, T4, T5, T6, T7 y T8), presentaron menor grado de infección. En las muestras inoculadas con concentrado crudo tóxico se reflejaron diferencias estadísticas entre los tratamientos y el control. Se puso en evidencia un menor grado de infección en muestras tratadas con la combinación de los tres elementos a mayor concentración (T8).*

Palabras claves: Medio MS, In-vitro, concentrado crudo tóxico, conidias, Sigatoka negra.

Abstract

*This study had as its objectives to determine the influence of calcium, copper and boron on growth parameters, in vitro of banana plants and their behavior in the development of black Sigatoka. For the study, eight treatments were designed with different combinations and concentrations of the three elements under study. From these treatments, the culture medium were prepared. The propagules were planted in the culture medium. Also, a control consists of the medium MS commercial. The agronomic parameters of vitroplántulas during 45 days. Subsequently, leaf discs were inoculated with conidia and concentrated crude toxic of *M. fijiensis*, damage were evaluated. In the statistical analysis showed statistical differences between treatments and control when the agronomic parameters were analyzed. The evaluations performed with conidia were not statistically different despite the treatments (T3, T4, T5, T6, T7 and T8), they presented lower levels of infection. In the samples inoculated with concentrated toxic crude statistical differences were reflected between treatments and control. It was revealed a lower level of infection in samples treated with the combination of three elements at a higher concentration (T8).*

Keywords: Medium MS, In-vitro, crude concentrated toxic, conidia, Black sigatoka.

1. Introducción

El banano es una monocotiledónea del género *Musa spp* originaria del sureste de Asia, desde donde se extendió a diferentes partes del mundo como consecuencia de la migración del hombre (1). El cultivo del banano es uno de los más importantes a nivel mundial, por ser el alimento básico de millones de personas en los países tropicales en vías de desarrollo y constituye una importante fuente de ingreso para los mercados locales e internacionales, (7). En la economía ecuatoriana la producción bananera juega un papel relevante, ya que representa el segundo rubro en importancia económica después del petróleo. El Ecuador cuenta con un área aproximada de 180,000 hectáreas que producen un volumen de exportación de 4, 772,413 TM (10). Entre las diversas enfermedades que afectan este cultivo, la Sigatoka negra es una de las más importantes a nivel mundial; es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, que afecta el área foliar del cultivo, ocasionando elevadas pérdidas económicas.

Tradicionalmente, la principal estrategia de control de problemas fitosanitarios en los cultivos ha sido el control químico. El banano no es la excepción, y problemas sanitarios como la Sigatoka negra han incrementado notablemente el uso de químicos (4) y sus consecuencias desfavorables. Es por ello que resulta necesario profundizar en investigaciones que permitan entender mecanismos naturales de resistencia a la enfermedad (17). Debido a que los nutrientes minerales actúan directa o indirectamente sobre las funciones fisiológicas o forman parte de las estructuras de crecimiento y de reproducción (1), el estudio de la nutrición mineral con elementos como calcio, cobre, y boro es importante para verificar cómo éstos nutrientes ayudan al fortalecimiento de la célula asistiendo como mecanismos de defensa en las plantas. Este es un factor que influye no solo en términos de aumento de la producción, como se analiza frecuentemente, sino que además interviene en la calidad de los productos y en la tolerancia de las plantas al ataque de plagas y enfermedades.

Con estos antecedentes, la hipótesis de este trabajo fue la siguiente: “Los elementos calcio, cobre, y boro intervienen en el crecimiento de plantas de banano reproducidas *in-vitro* e inciden en la respuesta a inoculaciones dirigidas de *M. fijiensis*”. Para comprobar esta hipótesis nuestros objetivos de trabajo fueron los siguientes:

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

- Determinar la influencia de los nutrientes calcio, cobre y boro en el fortalecimiento de plantas de banano de la variedad Williams micropropagadas para inducir resistencia mecánica al ataque de *M. fijiensis* Morelet.

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de combinaciones y concentraciones de calcio, cobre y boro sobre parámetros de crecimiento, a nivel *in vitro*, de plántulas de banano (Cavendish, variedad Williams).
- Monitorear los síntomas producidos por la inoculación dirigida de estructuras asexuales del *M. fijiensis* sobre tejido foliar de plántulas de banano, variedad Williams, tratadas con diferentes combinaciones y concentraciones de calcio, cobre y boro.
- Determinar los daños causados por la inoculación del concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis* sobre tejido foliar de plántulas de banano, variedad Williams, tratadas con diferentes combinaciones y concentraciones de calcio, cobre y boro.

3. Materiales y Métodos

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), ubicado en el Campus Politécnico Gustavo Galindo, en Guayaquil.

3.1 Efecto de las diferentes concentraciones de calcio, cobre y boro sobre parámetros de crecimiento de vitroplántulas de banano de la variedad Williams.

Se utilizaron 150 propágulos de la variedad de banano Williams obtenidos en el laboratorio de Biología Celular del CIBE siguiendo los procedimientos estandarizados previamente establecidos. Una vez preparados los medios con las diferentes concentraciones y combinaciones de calcio, cobre y boro (Tabla 1), estos fueron dispensados en tubos de ensayos (15 x 2.5 cm) y

esterilizados a 121⁰C durante 25 minutos. Luego de sembrar e identificar convenientemente cada tratamiento, se los ubicó en un cuarto de crecimiento con luz permanente, a temperatura ambiente (Figura 1).

Tabla 1. Tratamientos estudiados

TRATAMIENTOS	
T #1	Medio MS+ Ca ₁ 179.8mg/L+ Cu ₁ 0.00954 mg/L
T #2	Medio MS+ Ca ₂ 239.8mg/L+ Cu ₂ 0.01272 mg/L
T #3	Medio MS+ Ca ₁ 179.8mg/L+ B ₁ 1.62 mg/L
T #4	Medio MS+ Ca ₂ 239.8mg/L+ B ₂ 2.16 mg/L
T #5	Medio MS+ Cu ₁ 0.00954mg/L+ B ₁ 1.62 mg/L
T #6	Medio MS+ Cu ₂ 0.01272mg/L+ B ₂ 2.16mg/L
T #7	Medio MS+ Ca ₁ 179.8mg/L+ Cu ₁ 0.00954mg/L+ B ₁ 1.62mg/L
T #8	Medio MS+ Ca ₂ 239.8mg/L+ Cu ₂ 0.01272mg/L+ B ₂ 2.16mg/L
T #9	Control medio MS sin modificar



Figura 1. Cámara de crecimiento *in-vitro* de plántulas de banano.

Para medir el efecto de las concentraciones de calcio, cobre y boro en el desarrollo de las vitro-plántulas se mantuvo el ensayo durante 45 días. Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- Altura de las plantas *in-vitro* (cm.)
- Número de hojas
- Largo de hoja (cm.)
- Número de raíces
- Largo de la raíz principal (cm.)

Los datos se tomaron cada ocho días, a excepción del largo de hoja, que se determinó al finalizar el ensayo.

3.2 Efecto de la concentración de calcio, cobre y boro sobre el desarrollo de la infección por conidias y concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis* en tejidos foliares de vitro-plántulas de banano.

La obtención de las conidias y del concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis* se realizó de acuerdo a la metodología estandarizada por el laboratorio de Fitopatología del CIBE-ESPOL (8). Para las inoculaciones se procedió a tomar una hoja por cada observación (15 hojas/tratamiento), las mismas que fueron

colocadas en cajas petri conteniendo medio de conservación de tejidos. Posteriormente se realizaron las inoculaciones en los tejidos foliares, depositando 25 μ l de la suspensión conidial a una concentración de 3000 conidias /ml en uno de los ensayos y 2 μ l del concentrado crudo tóxico por cada muestra para el segundo ensayo. Las cajas petri con el material inoculado fueron colocadas en una cámara de crecimiento con condiciones de luz permanente y 25 $^{\circ}$ C temperatura (Figura 2). Las evaluaciones con conidias se hicieron durante dos meses con toma de datos quincenalmente. Las hojas inoculadas con el concentrado crudo tóxico fueron evaluadas cada dos horas hasta las 48 horas.

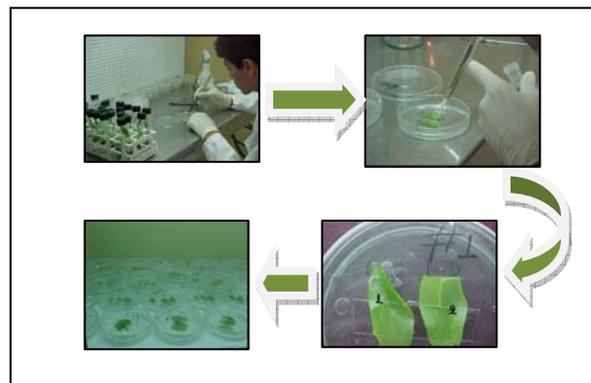


Figura 2. Inoculaciones dirigidas con conidias y concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis*.

3.3 Análisis Estadístico

Para el análisis de los parámetros evaluados durante intervalos de tiempo, se obtuvo el Área Bajo la Curva (ABC), este es un valor calculado para los parámetros medidos en una serie de tiempo con comportamiento monótono creciente. El modelo trapezoidal es el valor del cálculo más simple y común para obtener el ABC (Figura 3).

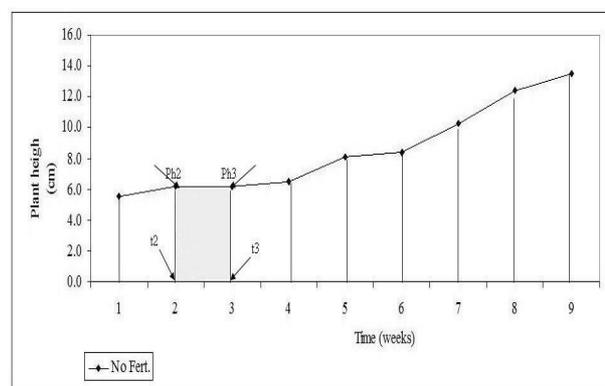


Figura 3. Gráfica ilustrativa del método para el cálculo del Área Bajo la Curva (ABC).

Su cálculo está dado por:

$$AUC = \sum_{i=1}^{n-1} (X_i + X_{i+1})/2 * (t_{i+1} - t_i)$$

Donde:

\sum es la sumatoria de las áreas de la integración de todos los trapecoides individuales desde la evaluación $i=1$ hasta la $n-1$

(n) es el número de las evaluaciones,

(X_i) es el valor del parámetro en la i -ésima evaluación

($t_{i+1}-t_i$) es el intervalo de los tiempos entre dos observaciones consecutivas.

Seguidamente se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA), técnica estadística que permitió identificar de manera general la existencia de tratamientos estadísticamente diferentes. Se empleó la prueba estadística de Duncan para datos con distribución probabilística normal y varianzas homogéneas y la prueba de Kruskal Wallis para las variables que no cumplieran con los supuestos estadísticos, las pruebas fueron realizadas al 5% de significancia con la finalidad de establecer los de efectos diferentes.

4. Resultados y Discusión

4.1. Efecto de las diferentes concentraciones de calcio, cobre y boro sobre parámetros de crecimiento de vitro-plántulas de la variedad de banano Williams.

El análisis estadístico de los datos obtenidos para el parámetro altura, mostró una clara diferencia del tratamiento T4 ($Ca_2 B_2$), observándose además, que aunque el resto de los tratamientos no difirieron significativamente entre sí, se evidencia una tendencia similar en todos ellos: las combinaciones que incluyeron concentraciones medias de los elementos estudiados (T1, T3, T5 y T7) mostraron promedios mayores de altura (Gráfico 1). Tales resultados pueden constituir una indicación de la posibilidad de lograr un mejor desarrollo de las plantas *in-vitro* al emplear concentraciones medias de los elementos estudiados en comparación con las concentraciones utilizadas en el medio Murashige Skoog, (1962).

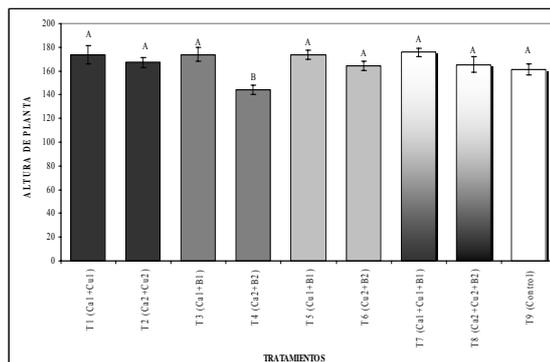


Gráfico 1. Área Bajo la Curva (ABC) del parámetro altura de planta ($n = 15$) que crecieron en condiciones controladas durante 45 días. Los tratamientos fueron aplicados en el medio base MS, representando este el control. Barras con iguales letras no difieren estadísticamente por la prueba de Duncan ($p > 0.05$).

En cuanto a los parámetros foliares, se observaron diferencias estadísticas en el número de hojas entre tratamientos y el control. Se observó un comportamiento similar entre los tratamientos que incluyeron las combinaciones Ca-Cu, Cu-B y Ca-Cu-B: la cantidad de hojas fue menor cuando se evaluaron concentraciones medias de los elementos [T1 (Ca_1+Cu_1), T5 (Ca_1+BB) y T7 (Ca_1+Cu_1+BB)]. Sin embargo, el patrón observado en la combinación Ca-B (T3 y T4) fue inverso (Gráfico 2). Los resultados relacionados con el largo de hoja fueron semejantes a los observados con respecto a la altura. Las concentraciones medias de todos los tratamientos estudiados, presentaron un mayor largo de hoja muy similar al control, mientras que los tratamientos con concentraciones altas presentaron un menor desarrollo del parámetro. La mayor diferencia se evidenció en el tratamiento 4 ($Ca_2 B_2$), que presentó el promedio más bajo. (Gráfico 3). La importancia de los elementos estudiados en el desarrollo foliar ha sido discutida previamente por Redondo, *et al.* (2007) y Navarro, (2003).

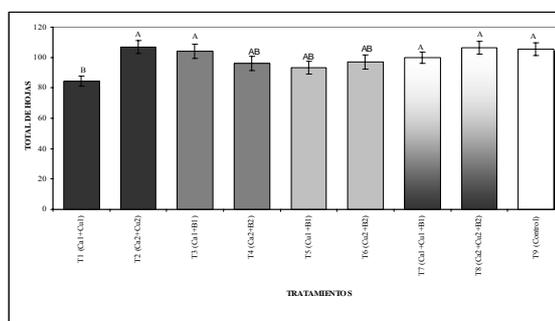


Gráfico 2. Área Bajo la Curva (ABC) del parámetro número de hojas ($n = 15$) que crecieron en condiciones controladas durante 45 días. Los tratamientos fueron aplicados en el medio base MS, representando al control. Barras

con iguales letras no difieren estadísticamente por la prueba de Duncan ($p>0.05$).

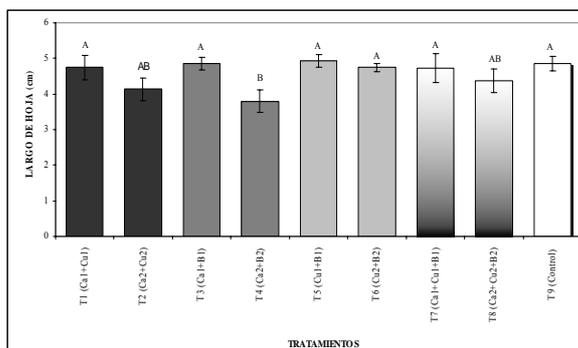


Gráfico 3. Parámetro largo de hojas ($n = 15$) que crecieron en condiciones controladas durante 45 días. Los tratamientos fueron aplicados en el medio base MS, representando al control. Barras con iguales letras no difieren estadísticamente por la prueba de Duncan ($p>0.05$).

En los parámetros relacionados con el sistema radical se pudo también evidenciar diferencias estadísticas significativas entre tratamientos y control. Los tratamientos con concentraciones altas (T2, T4 y T6) influyeron positivamente sobre el número de raíces, no así los tratamientos con concentraciones medias de los elementos y sus combinaciones (T1, T3 y T5). La presencia de los tres elementos en estudio representados en los tratamientos 7 y 8 mostraron un comportamiento superior al resto, independientemente de la concentración de cada elemento (Gráfico 4).

La longitud de la raíz principal fue uno de los parámetros de crecimiento con mayor diferencia estadística entre los tratamientos evaluados (Gráfico 5). La combinación Ca-B fue la de mayor diferencia entre los tratamientos: la concentración media de ambos elementos (T3) presentó los promedios más elevados de longitud de la raíz principal, mientras que los menores promedios de longitud radical de este estudio, fueron observados con las concentraciones altas (T4). Un patrón similar se ha observado en los siguientes tratamientos que incluyeron: Ca-Cu (T1 y T2) y Ca-Cu-B (T7 y T8). La combinación Cu-B, sin embargo exhibió un patrón inverso, aunque sin diferencias significativas entre los resultados de ambos tratamientos (T5 y T6). Los resultados obtenidos sobre la estimulación de raíces y las diferencias de longitud de la raíz principal muestran el efecto de los elementos estudiados sobre el desarrollo radical in vitro-plántulas de banano y pueden relacionarse con la participación de los tres elementos mencionados en diferentes procesos metabólicos, entre ellos las relaciones hormonales, tal como han señalado

Ríos, *et al.* (1999). Por otra parte, los resultados informados por Janez, (2002) y Redondo, *et al.* (2007), aunque obtenidos en condiciones diferentes de experimentación, son comparables a los presentados en este trabajo.

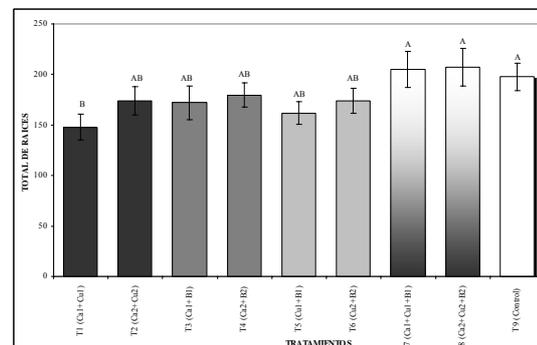


Gráfico 4. Área Bajo la Curva (ABC) del parámetro número de raíces ($n = 15$) que crecieron en condiciones controladas durante 45 días. Los tratamientos fueron aplicados en el medio base MS, representando este el control. Barras con iguales letras no difieren estadísticamente por la prueba de Duncan ($p>0.05$).

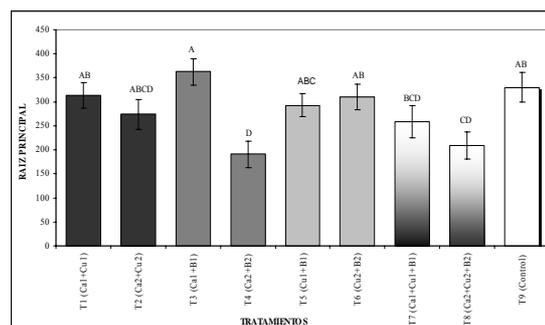


Gráfico 5. Área Bajo la Curva (ABC) del parámetro largo de raíces ($n = 15$) que crecieron en condiciones controladas durante 45 días. Los tratamientos fueron aplicados en el medio base Murashig Shook, representando este el control. Barras con iguales letras no difieren estadísticamente por la prueba de Duncan ($p>0.05$).

4.2. Efecto de la concentración de calcio, cobre y boro sobre el desarrollo de la infección por conidias y concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis* en tejidos foliares de vitro-plántulas de banano.

Las inoculaciones dirigidas con conidias de *M. fijiensis* sobre los discos de hojas de las plántulas de banano (Figura 4) tratadas con las combinaciones de micronutrientes y el grupo de plantas control, no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, en el (Gráfico 6), se puede observar que los tratamientos 1 (Ca₁ Cu₁), 2 (Ca₂ Cu₂), así como el control (T9, MS) presentaron valores más altos de

infección que los restantes. Diversos autores han señalado que la presencia de calcio, cobre y boro puede disminuir el ataque de plagas y enfermedades en las plantas. Por otra parte, Jiménez (2008) ha puesto de manifiesto la interacción existente entre la nutrición de plantas de banano adulta y el desarrollo de la Sigatoka negra, e inclusive el efecto directo de algunos microelementos sobre el agente causal. Nuestros resultados corroboran las modificaciones que pueden ocurrir en el índice de severidad de la infección de plantas de banano *in vitro* cuando se varían concentraciones y combinaciones de nutrientes, lo que refuerza los resultados obtenidos por otros autores en evaluaciones en invernadero y campo. También se puso de manifiesto la factibilidad de reproducir la enfermedad a nivel *in-vitro* mediante inoculaciones con conidias de manera similar a la que se produce a nivel *in-vivo*. Se ratifica así una vez más la importancia de esta fuente de inóculo, tal como ha señalado Burt, *et al.* (1997).

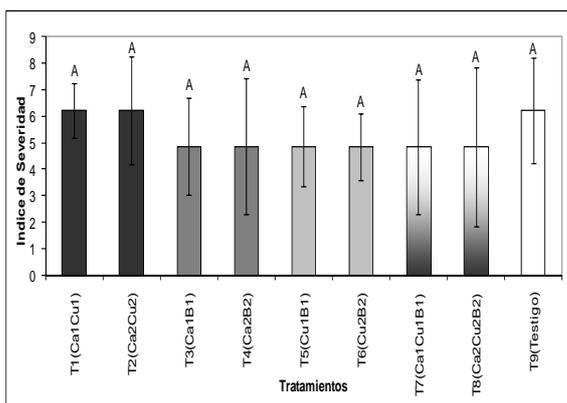


Gráfico 6. Mediana de los tratamientos a partir del Área Bajo la Curva (ABC) del Índice de severidad para las inoculaciones con conidias 25 µl (3000conidias/ml) de *M. fijiensis*. (n = 15), bajo condiciones controladas durante 60 días. Mediante pruebas no paramétricas (k-w) se evidencia que no existen diferencias estadística entre los tratamientos ($p > 0.05$).

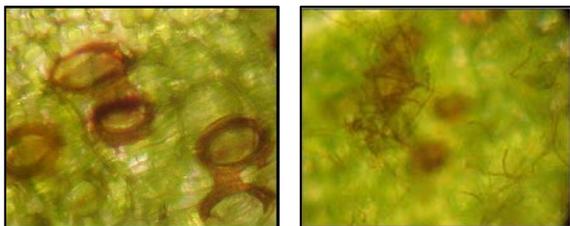


Figura 4. Síntomas causados en los tejidos foliares por las inoculaciones con conidias de *M. fijiensis*.

En el caso de las inoculaciones con concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis*, los

resultados reflejaron diferencias estadísticas entre los tratamientos y el control (Gráfico7). La combinación de concentraciones altas de los tres elementos bajo estudio (T8) presentó el menor daño del tejido después de la inoculación con el concentrado crudo tóxico del patógeno, mostrando el efecto beneficioso o protector de esta combinación (Figura 5). Estos resultados corroboran que la nutrición mineral no sólo está relacionada con el crecimiento y desarrollo de las plantas, sino que un manejo adecuado de las concentraciones y combinaciones de nutrientes, como los estudiados en este trabajo, puede producir un efecto de fortalecimiento en las membranas celulares impidiendo la destrucción de las células por factores adversos, aún cuando se trate de plantas *in vitro*.

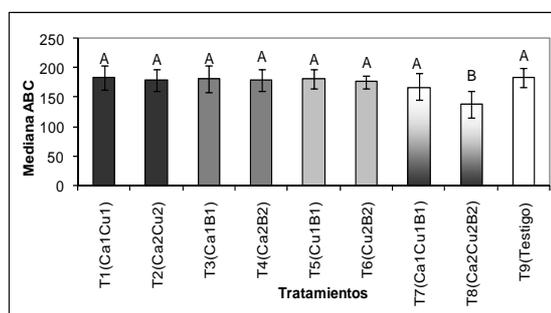


Gráfico 7. Mediana de los tratamientos, a partir del Área Bajo la Curva (ABC) de las inoculaciones con concentrado crudo tóxico (2µl) de *M. fijiensis*. (n = 15), bajo condiciones controladas durante 48 horas. Mediante pruebas no paramétricas (k-w) se evidencia que existen diferencias estadística entre los tratamientos ($p < 0.05$).

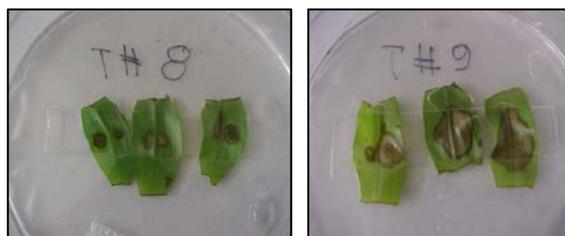


Figura 5. Síntomas causados en el tratamiento 8 y en el control tratamiento 9 por las inoculaciones dirigidas con concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis*.

5. Conclusiones y Perspectivas

5.1 Conclusiones

1. Se evidenció el efecto de las diferentes concentraciones y combinaciones de los elementos calcio, cobre y boro sobre los parámetros de desarrollo de las vitro-plántulas de banano variedad "Williams".
2. Las concentraciones medias de los elementos evaluados demostraron un efecto positivo

sobre el desarrollo del parámetro altura en el material vegetal bajo las condiciones ensayadas.

3. Los tres elementos estudiados en concentraciones medias y altas incrementaron la producción de raíces en las vitro-plántulas de banano, variedad Williams.
4. La concentración menor de la combinación calcio- boro resultó mejor para el desarrollo de la raíz principal, mientras que la concentración mayor, de manera general, influyó negativamente en algunos de los parámetros agronómicos evaluados.
5. La combinación de los elementos cobre y boro, en ambas concentraciones, favorecieron de manera similar el desarrollo del largo de hojas.
6. El desarrollo de la Sigatoka negra en las muestras inoculadas con conidias se vio afectada por la combinación y concentración de los tres elementos estudiados.
7. La combinación y concentración mayor de los tres elementos bajo estudio impidió el desarrollo de grandes lesiones producto de la inoculación con el concentrado crudo tóxico de *M. fijiensis*.

5.2 Perspectivas

1. Profundizar las investigaciones en la temática, tanto *in-vitro* como en invernadero, a través de estudios histológicos que permitan determinar la contribución de los elementos nutricionales al desarrollo de la pared celular vegetal en banano.
2. Realizar estudios básicos de los mecanismos y los compuestos sintetizados por elementos nutricionales, tales como la lignina, celulosa, ácido ribonucleico, proteínas, relaciones hormonales, entre otros.
3. Realizar estudios en campo con el objetivo de evaluar programas de fertilización con diferentes niveles de macro y microelementos, en materiales de Musáceas con diferente expresión a la Sigatoka negra.

6. Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) por darme la oportunidad de realizar esta investigación y por todo lo que significa en mi vida profesional.

7. Referencias

- [1] Douglas, C. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo editorial Iberoamérica. México, México. pp. 70-112.
- [2] Navarro, G. 2003. Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. 2da edición. Publicado por Mundi-Prensa Libros. 487pp.
- [3] Sangster, J. 2001. Caracterización de la variación somaclonal generada en propagación masiva *in-vitro* de banano, var. Williams. Tesis de Ingeniero Agropecuario de la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. pp.40-59.
- [4] Chica, E. 2005. Evaluación del efecto del Butóxido de Piperonilo y de sus mezclas con tres fungicidas triazoles sobre el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en condiciones de laboratorio. Tesis de Grado. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. p. 95.
- [5] Redondo, M., Bonilla, I., and Bolaños, L. 2007. El boro (B) y la relación boro-calcio (B-Ca²⁺). Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.uam.es>
- [6] Santos, E. 2001. Estudio de la densidad y tamaño de estomas en variedades de (*Musa spp*) con distintos grados de resistencia a Sigatoka negra. Tesis de Ingeniero Agrónomo de la facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. p. 9.
- [7] Berry, *et al.* 1988. La arveja. Enfermedades bacterianas y virales. Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://arveja.awardspace.com>
- [8] Frison, E., and Sharrock, S. 2000. Biodiversidad y producción sostenible del banano. La importancia de los bananos y plátanos. Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.banafair.de>.
- [9] Agrios, G. 1995. Fitopatología. 2da ed. Editorial Limusa, S.A. México. p. 838
- [10] Burt, P., Rutter, J., and González, H. 1997. Short distance windborne dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain. *Plant pathology*. 46: pp. 451-458.
- [11] Ríos, R., and Corella, F. 1999. Manejo de la Nutrición y Fertilización del mango en

- Costa Rica. Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.mag.go.cr>.
- [12] Jiménez, M. 2008. Effect of the nutritional status of banana (*Musa spp.*) on leaf disease infestation by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in Ecuador. Ph.D thesis. Catholic University of Leuven. Leuven, Belgium. pp. 51-88.
- [13] MAGAP/ SIGAGRO. 2006. Unidad de banano. Quito- Ecuador. Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.sica.gov.ec>.
- [14] Jones, D. 2000. Introduction to banana, abaca and ensete, pp. 1-30. In: Jones D. (ed.), Disease of Banana, Abaca and Ensete. CAB International, Wallingford UK.
- (14) Redondo, M., Bonilla, I., and Bolaños, L. 2007. El boro (B) y la relación boro-calcio (B-Ca²⁺). Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.uam.es>
- [15] Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. Second edition. London., UK. Mills, H. A. and J. Benton Jones, Jr. 1996. Analysis handbook II Micro-macro publishing, Inc. USA, 492 pp.
- [16] Yáñez, J. 2002. Nutrición y regulación del crecimiento en hortalizas y frutales. Efecto de los nutrientes sobre la calidad de los productos y la resistencia físico química de las plantas a plagas, enfermedades y al estrés ambiental. Buenavista- Saltillo-Coahuila. Fecha de la última actualización (09/09/2009). Disponible en: <http://www.uaaan.mx>.
- [17] Dixon, G. 1996. Repression of the morphogenesis of *Plasmidiophora brassicae* Wor. by boron – A review. *Acta Horticulturae*. 407, pp. 393-401.
- [18] Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15: pp.473-497.
- [19] Yoder, O. 1980. Toxins in pathogenesis. *Annual. Rev. Plant Pathology*. 18: pp.103-29.