

Evaluación del efecto de extractos vegetales como alternativa de manejo a la sigatoka negra en el cultivar Gran Enano (AAA)

Evaluation of the effect of plant extracts as alternative to black sigatoka management of the cultivar Grand Nain (AAA)

Lilián Marisol Morales Romero¹, Marcos Antonio Ullauri Espinoza², y Xiomara Rojas Moya¹.

1. Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT).
2. Universidad Central de Las Villas (UCLV).

E-mail: ullauri@uclv.edu.cu, lili@inivit.cu

RESUMEN. La Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) es una enfermedad clave, ya que es el hongo más destructivo del plátano y del banano en el mundo. Con el desarrollo de resistencia del hongo a diversos fungicidas, la búsqueda de biofungicidas es una necesidad. Se buscó un aporte al control de este hongo mediante el empleo de extractos vegetales como alternativas para reducir la incidencia de daños por la enfermedad, utilizando cuatro especies de plantas. Con el objetivo de evaluar el efecto de extractos vegetales como alternativa para el control de la enfermedad en el cultivar 'Gran Enano' (AAA) mediante la inoculación artificial con suspensiones conidiales de *P. fijiensis* se realiza el presente estudio en el período comprendido entre junio y diciembre 2010. Los extractos vegetales de Cundeamor (*Momordica charantia* L.), Salvia (*Salvia officinalis* L.) y Caña Santa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (90 mL de EV + 10 mL de aceite Neem) asperjados en plantas de 'Gran Enano' (AAA) mostraron un efecto antifúngico a *M. fijiensis* en condiciones semicontroladas, con respuesta similar al tratamiento con Maconzeb PH (80%).

Palabras clave: Biofungicidas, extractos vegetales, manejo, *Mycosphaerella fijiensis*.

ABSTRACT. Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet.) is the most destructive fungal disease for plantain and banana in the world. With the development of fungal resistance to several fungicides, the biofungicides's search become necessity. We look for a contribution to the control of this fungus by using plant extracts as alternatives to reduce the incidence of disease damage, four species of plants were used. In order to evaluate the effect of plant extracts as an alternative for disease control in the Grand Naine (AAA) by inoculation with conidial suspensions of *P. fijiensis* this work were performed in the period between June and December 2010. Cundeamor plant extracts, sage and lemongrass (90 mL + 10 mL EV Neem oil) sprinkled on the cultivar 'Grand Nain' (AAA) showed an antifungal effect *M. fijiensis* under controlled conditions, with similar response to treatment Maconzeb PH (80%).

Key words: Biofungicides, plant extracts, management, *Mycosphaerella fijiensis*.

INTRODUCCIÓN

La Sigatoka negra (SN) es producida por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (*Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton, anamorfo). También se conoce como el Estriado negro de la hoja y es considerada la enfermedad foliar más destructiva y costosa de los plátanos y bananos a nivel mundial (Carlier et al., 2000, Pasberg-Gauhl et al., 2000).

La SN se controla fundamentalmente mediante la aplicación de fungicidas, ya que las restantes alternativas no han brindado un control aceptable en el contexto productivo (Herderson *et al.*, 2006). Sin embargo, el alto costo de los fungicidas, la no disponibilidad de éstos para los pequeños agricultores, la continua resistencia del patógeno a los fungicidas convencionales, el impacto medioambiental negativo que provoca su utilización, exigen medidas de control más eficientes.

Esto conduce a los investigadores a retomar los antiguos métodos de manejo de enfermedades, como la utilización de extractos vegetales, que en el marco de proyectos de Manejo Integrado permiten una producción agrícola más sostenible y menos contaminante (Vergara, 1994; Villa, 1999).

Las especies de plantas representan un potencial para disminuir el uso de agroquímicos, que no solo

atentan contra la ecología y la salud, sino que además, permanecen en el medio ambiente por años (Castillo 2004).

Con el objetivo de evaluar el efecto de extractos vegetales como alternativa para el control de la enfermedad en el cultivar ‘Gran Enano’ (AAA), mediante la inoculación artificial con suspensiones conidiales de *P. fijiensis*, se realizó este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la selección de las plantas se consideraron los resultados obtenidos por diversos autores que demuestran el efecto alelopático y la actividad antifúngica con efectos significativos sobre la reducción del crecimiento micelial y desarrollo de colonias de *P. fijiensis*.

De estos resultados reportados en la literatura, tomados como referencia para la selección del material vegetal empleado en el estudio, sobresalen el empleo de Cundeamor (Arciniegas et al. 2002), Caña Santa (Obledo et al. 2004), Limoncillo y Salvia (Marín et al. 2008).

Tabla 1. Especies botánicas empleadas como fuente de los extractos evaluados

Nombre vulgar	Nombre Científico	Familia
Cundeamor	<i>Motorbike charantia</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>
Caña Santa	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	<i>Poaceae</i>
Salvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	<i>Lamiáceas</i>
Limoncillo	<i>Swinglea glutinosa</i> (Blanco) Merr	<i>Retiree</i>

Colecta y preparación del material vegetal

El material vegetal fue colectado en áreas del “campus” universitario de la Universidad Central “Martha Abreu” de Las Villas, Santa Clara, provincia Villa Clara. Creciendo sobre un suelo Pardo Sialítico (Hernández et al., 2006), entre las 9:00 am y 11:00 am en el período de Junio a Julio de 2010.

De las plantas colectadas se utilizaron las partes aéreas (hojas jóvenes y viejas), en fases fenológicas de floración y/o fructificación. El proceso de secado tardó 72 horas en condiciones naturales y un ligero secado a 60°C en estufa durante 24 horas según la metodología planteada por Puente (2007). Posteriormente dichas muestras se molinaron mecánicamente, hasta obtener partículas de 0,5 mm de diámetro según la metodología de (Arora et al., 2003; Hoque et al., 2004; Macías et al., 2005).

El proceso de preparación del material vegetal se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Alelopatía

en el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), perteneciente a la Universidad Central “Martha Abreu” de La Villas.

Obtención de los extractos

El proceso de extracción se realizó siguiendo la metodología descrita por An et al. (1997); Sandoval (2005); y Palma et al. (2006), para lo cual se tomaron 100g del material seco y molido de cada una de las especies de plantas especificadas (Tabla 1) y se le adicionaron 2000 mL de agua destilada a cada una de estas. Luego las soluciones acuosas obtenidas se colocaron en un baño ultrasónico (Branson1500, México) durante 30 min. a una frecuencia de 72 Hz, y fueron filtrados a través de un papel de filtro 389 de filtración rápida (Filtrak, Alemania) con el objetivo de eliminar los restos de tejidos vasculares de las plantas, para posteriormente ser envasados en recipientes plásticos y almacenados en refrigeración, hasta el momento de su aplicación. De esta forma quedaron preparados los extractos.

Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas

El estudio se realizó en el Laboratorio de Manejo de Plagas del INIVIT, para lo cual se utilizó el aislado CCIBP-Pf5 de *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton perteneciente a la colección de cultivos microbianos del Laboratorio de Fitopatología del Instituto de Biotecnología de las Plantas. El medio de cultivo utilizado para su multiplicación fue Agar Papa y Dextrosa (BioCen) (Mourichon *et al.*, 1987; Leiva *et al.*, 2004).

Se inocularon 300 μ l de una suspensión micelial (10^5 fragmentos micelio. mL^{-1}) en tubos de ensayo de 150 x 22 mm con 15 mL del medio de cultivo PDA. Estos se incubaron a 27°C en una incubadora Memmert (Alemania) durante 20 días.

Transcurrido este período de tiempo, se adicionaron a los tubos cinco mL de agua desionizada estéril más Tween 80 al 0.05%. Se removieron en agitador Vortex (Heidolph Top Mix 94 323) a siete rpm durante un minuto para la separación de los conidios del micelio del hongo.

Se evaluó la concentración de conidios. mL^{-1} en el medio de cultivo empleado; se determinó en cámara de Neubauer por observación al microscopio óptico Olympus (aumento 100x).

Inoculación de plantas en condiciones semicontroladas

Se utilizaron plantas del cultivar 'Gran Enano' de tres meses de edad que tenían aproximadamente 30 cm de altura, con más de tres hojas activas, sembradas en bolsas de polietileno (15 x 20 cm.) con orificios para el drenaje del agua de riego y que contenían un sustrato compuesto por 50% de cachaza, 30% humus de lombriz y 20% de zeolita. Las plantas procedían de la fase de aclimatización de la Biofábrica ubicada en la provincia Sancti Spiritus.

Las mismas se inocularon con suspensiones conidiales (10^5 conidios. mL^{-1}) con gelatina al 1%. La inoculación se realizó con un pincel sobre el envés de las tres hojas más jóvenes totalmente extendidas según la metodología descrita por Leiva *et al.* (2004).

Se esperaron dos horas hasta que se secaran las suspensiones inoculadas en las hojas, luego se elevó la

humedad relativa al 100% durante tres días y después se garantizó una humedad relativa entre el 70-90%. Se inocularon 10 plantas por tratamiento y, además, se incluyeron 10 plantas inoculadas sin tratar para ser utilizadas como controles. Las mismas se ubicaron completamente al azar en una casa de cultivo perteneciente al INIVIT. Diariamente se registró la temperatura y la humedad relativa mínima y máxima mediante un Higrotermógrafo Alemán marca Fitcher.

Los tratamientos (T) que se utilizaron en esta investigación fueron los siguientes:

T₁ = 90 mL extracto de Cundeamor + 10 mL de aceite de Neem.

T₂ = 90 mL extracto de Salvia + 10 mL de aceite de Neem.

T₃ = 90 mL extracto de Caña Santa + 10 mL de aceite de Neem.

T₄ = 90 mL extracto de Limoncillo + 10 mL de aceite de Neem.

T₅ = 3.84 g de Maconzeb PH (80%) en 500 mL de agua.

Control = Aplicación con agua

Con el fin de evitar el fácil lavado de los productos naturales al momento de la aplicación se empleó como adherente natural en la aplicación de los extractos. Se realizaron cinco aplicaciones de los productos (EV y fungicida), con intervalos de 15 días, iniciando en octubre y finalizando en diciembre de 2010. El experimento se evaluó cada siete días, desde la inoculación hasta los 71 días posteriores a ésta (dpi).

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

Período de incubación: Tiempo entre la infección y la aparición de las primeras lesiones puntiformes por el envés de la hoja (días).

Período de transición o tiempo de evolución de los síntomas: Número de días entre la aparición de los primeros síntomas (lesiones puntiformes) y la aparición de manchas necróticas con centros secos. (días).

Desarrollo de la enfermedad en el tiempo: Período entre la inoculación y la aparición de lesiones maduras (manchas necróticas con centros secos). (días).

Para la evaluación cualitativa del desarrollo de los síntomas se utilizó la escala propuesta por Alvarado *et al.*, (2003).

Estado	Descripción de los síntomas
0	Hoja sin síntoma
1	Hoja con pequeñas lesiones puntiformes de coloración rojiza por el envés y sin síntomas por el haz
2	Hoja con manchas de contornos regulares o irregulares de coloración pardo-rojiza por el envés de la hoja y sin síntomas por el haz
3	Hoja con manchas de contornos regulares o irregulares de coloración pardo-rojiza por el haz
4	Hoja con manchas negras (elípticas o redondeadas) con bordes cloróticos y halo acuoso. La hoja mantiene áreas de tejido verde
5	Hoja con manchas negras con centros secos grises, las hojas pueden estar completamente necrosadas y colgar del pseudotallo

Los datos se analizaron estadísticamente mediante el análisis de varianza de clasificación simple. En el caso de la evaluación que se realizó a los ocho días, los datos sufrieron una transformación igual a $\sqrt{x+0.5}$ por la presencia de ceros en la muestra. La comparación múltiple de medias se realizó según

la dócima de Dunett´C por no encontrarse homogeneidad de varianza. Para esto se utilizó el paquete estadístico SPSS/PC ver. 9.00 para Windows. Todo el procesamiento estadístico se realizó en el Laboratorio de Biometría del INIVIT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del efecto de los Extractos vegetales como alternativa de manejo de la enfermedad

Los resultados de la evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos se aprecian en la Tabla 2. Los

tratamientos (T1), (T2), (T3), (T4), y (T5) no presentaron diferencias estadísticas significativas para ($p < 0,05$) en relación con el control, a los ocho y 15 días después de realizada la primera inoculación conidial.

Tabla 2. Evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos a los 8,15, 22, 29, 36 y 43 días de evaluados

Tratamientos	Evaluaciones						
	8 días		15 días	22 días	29 días	36 días	43 días
	Media	Media transf.					
T1	0,50	0,97 a	1,00a	1,38 b	1,63 b	1,75 b	1,88 c
T2	1,00	1,22 a	1,00a	1,25 b	1,50 b	2,13 ab	2,13 bc
T3	0,88	1,16 a	1,00a	1,13 b	1,88 ab	2,00 ab	2,00 bc
T4	0,75	1,10 a	1,00a	1,50 ab	2,00 ab	2,00 ab	2,38 bc
T5	1,00	1,22 a	1,00a	1,33 b	1,78 ab	2,44 a	2,56 b
Control	0,71	1,08 a	1,00a	2,00 a	2,29 a	2,57 a	3,57 a
ES \pm	-	0,08ns	-	0,21*	0,04*	0,19*	0,21*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ($p < 0,05$)

En la tercera evaluación (realizada a los 22 días) se observaron que los T1, T2, T3 y T5 no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos, pero no así el T4 y el control que sí presentaron diferencia estadística significativa con relación al resto.

Para la cuarta evaluación, a los 29 días, los T1 y T2 no presentaron diferencias estadísticas significativas para ($p < 0,05$) entre ellos. De igual manera se manifestaron los tratamientos (T3, T4 y T5), quienes no mostraron diferencias estadísticas

significativas. Mientras que el control, manifestó diferencias estadísticas significativas para ($p < 0,05$), con relación al resto de los tratamientos.

A los 36 días de iniciado el experimento, es decir en su quinta evaluación, se observó que el T1 registró el valor más bajo, mostrando así diferencias

estadísticas significativas con el resto de los tratamientos y con el control. Los tratamientos T2, T3 y T4, no manifestaron diferencia estadística significativa entre ellos, pero sí lo hicieron para el T5 y el control, quienes a su vez no llegaron a presentar diferencias estadísticas significativas para ($p < 0,05$) entre ambos.

Tabla 3. Evaluación del efecto de cada uno de los tratamientos a los 50, 57, 64 y 71 días de evaluados

Tratamientos	Evaluaciones			
	50 días	57 días	64 días	71 días
T1	2,13 c	2,25 c	2,25 c	2,25 c
T2	2,13 c	2,13 c	2,13 c	2,13 c
T3	2,13 c	2,38 c	2,38 c	2,38 c
T4	2,88 b	3,25 b	3,63 b	3,88 b
T5	2,56 c	2,56 c	2,56 c	2,56 c
Control	3,71 a	4,71 a	5,00 a	5,00 a
ES ±	0,18*	0,23*	0,24*	0,23*

(a,b,c,d) medias con letras no comunes en una misma columna difieren por Duncan a ($p < 0,05$)

A partir de la séptima evaluación, es decir de los 50 días en adelante hasta su culminación, los valores de los tratamientos T1, T2, T3 y T5; se mantuvieron de forma constante sin manifestar diferencias estadísticas significativas para ($p < 0,05$) entre ellos, presentando deferencias altamente significativas con respecto al T4 y el control, cuyos valores fueron en ascenso llegando a poner de manifiesto el último grado de la escala propuesta por Alvarado *et al.* (2003) y citada por Leiva *et al.* (2004), al momento de su culminación.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio, se corroboran con los realizados por Marín *et al.* (2008), quienes demostraron que el hongo *M. fijiensis* presenta susceptibilidad a las aplicaciones de extractos naturales de Salvia y Neem, que en el caso de este último se utilizó más como un adherente natural que como un tratamiento. De igual manera, citando al mismo autor, en el caso del Limoncillo, en relación a nuestro trabajo no se obtuvo el resultado esperado, aunque cabe indicar que los resultados alcanzados por Marín *et al.* (2008), se lograron en evaluaciones de campo y no en condiciones semicontroladas.

Para el caso de Caña Santa, nuestros resultados se corroboran con los obtenidos por Obledo *et al.*

(2004), quienes evaluaron la actividad antifúngica aunque en condiciones “*in vitro*” del extracto sobre Sigatoka negra, siendo seleccionado éste por su eficiente actividad y bajo costo; aunado a esto fue sugerido en esa investigación como producto comercial, en sustitución de los químicos Clorotalonilo, Tridemorf y Propiconazol.

Resultados similares fueron obtenidos por Arciniegas *et al.* (2002), quienes realizaron la evaluación de varios extractos etanólicos entre los que se encontraba el Cundeamor, donde se estudiaron bajo condiciones “*in vitro*” y se midió el efecto de la actividad antifúngica contra *M. fijiensis*, donde mostraron actividad antifúngica, tanto en germinación de esporas como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis*, y en algunos casos eran más efectivos que el fungicida comercial Propiconazole, coincidiendo así con los resultados obtenidos en el presente estudio, aunque en condiciones semicontroladas.

Evaluación de variables cuantitativas de la enfermedad en condiciones semicontroladas

Al inocular suspensiones conidiales de *P. fijiensis* sobre hojas del cultivar Gran Enano se logró reproducir la respuesta de éste frente a la enfermedad en condiciones naturales.

Tabla 4. Resultados de variables cuantitativas evaluadas en el cultivar Gran Enano, inoculado con *P. fijiensis* CCIBP-Pf5) en casa de cultivo

Tratamientos	Variables		
	PI (días)	TES (días)	DE (días)
T ₁	15	Nes	nde
T ₂	15	Nes	nde
T ₃	15	Nes	nde
T ₄	15	50	nde
T ₅	15	43	nde
Control	15	36	57

nes= no evolución del síntoma **nde**= no desarrollo de la enfermedad

Como se puede observar en la Tabla 4, para cada uno de los tratamientos evaluados y el control, los primeros síntomas se observaron a los 15 días después de la inoculación (periodo de incubación), coincidiendo así con los resultados alcanzados por Leiva *et al.*, (2004), en este mismo cultivar en condiciones semicontroladas.

En inoculaciones artificiales, Mourichon *et al.* (1987) determinaron que el período de incubación para plantas “*in vitro*” de Gran Enano, Fougamou y Yangambi km 5 fue de 19 días. Por su parte Mouliom-Pefoura (1995) al inocular plantas provenientes del cultivo “*in vitro*” de Gran Enano con suspensiones conidiales de *P. fijiensis* determinó que el período de incubación fue de 17 días.

En el cultivar Gran Enano los síntomas (estado 1), después de su aparición, evolucionaron hacia manchas con contornos regulares e irregulares de coloración pardo rojiza por el haz, (estado 3) en el caso del T5 con 43 días, que posteriormente evolucionaron hacia manchas necróticas (estados 4 ó 5) en 36 días para el caso del control, coincidiendo así con lo propuesto por Leiva *et al.*, (2004).

Tabla 5. Estados de los síntomas en el cultivar Gran Enano (desde los ocho hasta los 71 días de inoculados) con suspensiones conidiales de *P. fijiensis*

Cultivo Gran enano	Estado de los síntomas*							
	15d	29d	36d	43d	50d	57d	64d	71d
T1	1	2	2	2	2	2	2	2
T2	1	2	2	2	2	2	2	2
T3	1	2	2	2	2	2	2	2
T4	1	2	2	2	3	3	4	4
T5	1	2	2	3	3	3	3	3
Control	1	2	3	4	4	5	5	5

En lo concerniente al T4 se extendió a 50 días (estado 3), tomando en cuenta el efecto ejercido por el extracto natural.

En cuanto al control, los resultados al final del periodo de evaluación (57 días) difieren de los alcanzados por Leiva *et al.*, (2004), que expresaron un periodo de 49 días, debido a las condiciones de temperatura y humedad expresadas en la casa de cultivo (anexo 11), las cuales influyeron en la evolución del síntoma, alargando sus muestreos por siete días más.

Para los restantes tratamientos (T1, T2 y T3) no pudieron ser calculados el Tiempo de Evolución de los Síntomas y el Tiempo de Desarrollo de la Enfermedad, ya que solamente llegaron a expresar el estado 2 de la enfermedad, dado esto por la acción antifúngica ejercida por los extractos naturales sobre *M. fijiensis*, resultados que coinciden con Marín *et al.* (2008), Obledo *et al.* (2004) y Arciniegas *et al.* (2002), aunque en condiciones diferentes de evaluación.

Las variables Tiempo de Evolución de los Síntomas y Tiempo de Desarrollo de la Enfermedad han sido utilizadas para evaluar genotipos de *Musa* spp. en campo (Mobambo *et al.* 1994; Gauhl *et al.*, 2000), pero poco se han empleado en casas de cultivo con plantas provenientes del cultivo “*in vitro*”. Molina y Castaño (2003) las usaron para evaluar la resistencia de cultivares FHIA frente a *M. fijiensis* y *M. musicota* inoculados con suspensiones conidiales de estos patógenos. Estos investigadores obtuvieron tiempos de evolución de los síntomas en FHIA-01 y FHIA-17 superiores a los 55 días para el primer patógeno.

La escala de evaluación cualitativa permitió diferenciar cada uno de los tratamientos con respecto al testigo en el cultivar ‘Gran Enano’ en casa de cultivo (Tabla 5).

Los datos representan el estado de síntoma predominante en el material vegetal inoculado al momento de la evaluación d-días después de la inoculación.

En las evaluaciones realizadas se observó que en las hojas inoculadas predominó un mismo estadio de síntoma. Además, se distribuyeron uniformemente sobre toda la superficie foliar. Esto evidenció que el tipo de inóculo (suspensiones conidiales) y el método de inoculación utilizados (aplicación con pincel sobre el envés de la hoja) fueron válidos para la obtención de síntomas de la enfermedad sobre plantas “*in vitro*” en casa de cultivo.

Estos aspectos unidos a las condiciones ambientales donde se mantuvo una humedad relativa por encima del 60% y la temperatura media de 27°C, sentaron las bases para profundizar en el estudio de la inoculación artificial con el patógeno como vía para conocer la respuesta de cultivares de Musa a la enfermedad.

En la literatura científica sobre el tema cuando se refiere el uso de suspensiones conidiales, generalmente se hace alusión a la concentración de conidios sin tener en cuenta el número de fragmentos de micelio que pueden estar presentes debido al procedimiento por el cual se hayan colectado (Fullerton y Olsen, 1995). Sin embargo, en este estudio el método utilizado para separarlos del micelio (aplicación de Vortex) garantizó que solo se inocularan dichas estructuras de reproducción asexuales.

CONCLUSIONES

1. Los extractos vegetales de Cundeamor, Salvia y Caña Santa (90 mL de EV + 10 mL de aceite Neem) asperjados en el cultivar ‘Gran Enano’ (AAA) mostraron un efecto antifúngico a *M. fijiensis* en condiciones semicontroladas, con respuesta similar al tratamiento con Maconzeb PH (80%).

2. El extracto vegetal de Limoncillo (90 mL de EV + 10 mL de aceite Neem) asperjados en el cultivar ‘Gran Enano’ (AAA) no manifestó el efecto esperado contra *M. fijiensis* en condiciones semicontroladas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carlier, J, Fouré E, Gauhl F, Jones D, Lepoivre P, Mourichon X, Pasberg-Gauhl C y Romero R (2000) Black Leaf Streak. En: Jones, D (Ed.) Disease of Banana, Abacá and Enset, pp. 3779. CAB International, Wallingford.
2. Pasberg-Gauhl, C, Gauhl F y Jones D (2000) Fungal diseases of foliage. Sigatoka leaf spots. Black leaf streak, distribution and economic importance. En: Jones, D (Ed.) Disease of Banana, Abacá and Enset, pp. 37-44. CAB International, Wallingford.
3. Henderson J, Pattemore JA, Porchun SC, Hayden HL, Van-Brunschot S, Grice RE, Peterson RA, Thomas-Hall SR, Aitken EAB (2006) Black Sigatoka disease: new technologies to strengthen eradication strategies in Australia. Australasian Plant Pathology 35: 181–193.
4. Vergara, R (1994). Investigación sobre extractos de plantas con propiedades insecticidas. Memorias Primer Seminario Nacional de Plantas Aromáticas. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. p. 48-51, 54, 59-60.
5. Villa, M. (1999). Potencial de extractos vegetales. Aconteceres Entomológicos. Segundo seminario, Medellín. p. 32-40.
6. Castillo, J. (2004). Determinación de Metabolitos Secundarios en Plantas Silvestres del Parque Nacional Terepaima, Municipio Palavecino, estado Lara. Tesis. Universidad Centro occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 103 pp.
7. Arciniegas A. y Riveros A. (2002). Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo in Vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas. Memorias XV reunión internacional ACORBAT, Cartagena, 617p.
8. Leiva, (2004). Evaluación en casa de cultivo de la respuesta a la Sigatoka negra de dos cultivares de Musa mediante la inoculación artificial de suspensiones conidiales de *Pseudocercospora fijiensis*. Biotecnología Vegetal Vol. 4, No. 2: 77 - 84.
9. Marín O, Mass Marelis, Barrera J. y Robles Juana (2008), Evaluación de extractos vegetales para el control de *Mycosphaerella fijiensis* en plátano en Tierralta – córdoba. Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural.

10. Hernández, A., Pérez, J.M. y Bosch, I. D. 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ciudad de la Habana.
11. Puente, I. Mayra. (2007). “Efecto de diversos extractos de plantas sobre los hongos fitopatógenos del suelo *Rhizoctonia solani* (Kuhn) y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.)”. Tesis para la obtención de grado de Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias Agropecuarias, pp. 97. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara, Cuba.
12. Macías, F.; Torres, A.; Maya, C. and Fernández, B. (2005). “Natural biocides from citrus waste as new wood preservatives (Consultado Enero 2010). Disponible en: http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/2/2482_torresa.htm.
13. Hoque, A.; Ahmed, R. and Uddin, Hossain (2004). “Allelopathy effects of different concentration of water extract of *Eupatorium odoratum* leaf on germination and growth behavior of six agriculture crop”. *Allelopathy Journal* 13 (1): 264 pp.
14. Arora, C.; and Kaushik, R. (2003). Fungicidal activity of plants extracts from Uttaranchal hills against soybean fungal pathogens. *Allelopathy Journal*. 11 (2): 217-228 pp.
15. An, M.; Prately, J. and Haig, T. (1997). “Phytotoxicity of vulpia Residues: Investigation of aqueous extracts”, *Journal of Chemical Ecology*; 23 (28): 1980-1993 pp.
16. Palma, M.; Piñeiro, Z.; Rostagno, M. and Barroso, C. (2006). “Ultrasound-Assisted Extraction of Compounds From Foods.” *Ultrasonics Sonochemistry* 4: 135-138 pp.
17. Sandoval, F. (2005). *Caracterisation de la Production et Optimisation du Processus d'Extraction des Colorants de la Plantae de Añil (Indigofera suffruticosa MILL)*.
18. Alvarado, Y, Leiva M, Rodríguez MA, Acosta M, Cruz M, Portal N, Kosky R, García L, Bermúdez I, Padrón J (2003) Early evaluation of Black leaf streak resistance on *Musa* spp. breeding program by the use of mycelial suspension of *Mycosphaerella fijiensis*. En: Jacome, L, Lepoivre P, Marín D, Ortiz R, Romero R y Escalant V (eds) *Mycosphaerella leaf spot disease of bananas, present status and outlook*. pp 169-175. *Proceeding of the Workshop on Mycosphaerella leaf spot disease held in San José, Costa Rica*. INIBAP. Montpellier.
19. Mourichon, X, Peter D, Zapater M (1987) Inoculation expérimentale de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, sur jeunes plantules de bananier issues de culture in vitro. *Fruit*. 42 (4):195-198
20. Mouliom-Pefoura, A (1995) Les cercosporioses des bananiers et plantains (*Mycosphaerella musicola* Leach et *M. fijiensis* Morelet). *Epidémiologie et Ecologie dans le contexte des zones de production du Cameroun*. Ph.D. Thesis. University of Dschang, Cameroon.
21. Molina, O y Castaño, J (2003) Resistencia en los FHIA híbridos a *Mycosphaerella* spp Infomusa 12 (2): 25-27
22. Mobambo, K, Pasberg-Gauhl C, Gauhl F, Zuofa K (1994) Early screening for black leaf streak / black Sigatoka disease resistance under natural inoculation conditions. *Infomusa* 3 (2): 14-17.
23. Fullerton, RA y Olsen TL (1995) Pathogenic variability in *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, cause of black Sigatoka in banana and plantain. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23:39-48.

Recibido: 12/09/2010

Aceptado: 16/02/2011