



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, 13 de Junio 2023

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

**Jessica Lorena Pardo Salamanca**, con C.C. No.1083903892, y **Karen Vanessa Pardo Salamanca**, con C.C. N° 1083917211.

Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado o Titulado EVALUACIÓN DE LIXIVIADO ORGÁNICO OBTENIDO DEL RAQUIS DE PLATANO PARA EL CONTROL FÚNGICO EN *Musaceae*

presentado y aprobado en el año \_\_\_\_2023\_\_\_\_ como requisito para optar al título de

\_\_\_\_Ingeniero Agrícola\_\_\_\_;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.



**CARTA DE AUTORIZACIÓN**

**CÓDIGO**

**AP-BIB-FO-06**

**VERSIÓN**

**1**

**VIGENCIA**

**2014**

**PÁGINA**

**2 de 2**

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

*Karen Vanessa Pardo S.*

Firma: \_\_\_\_\_

*Jessica Lorena Pardo S.*

Firma: \_\_\_\_\_



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

<b>CÓDIGO</b>	<b>AP-BIB-FO-07</b>	<b>VERSIÓN</b>	<b>1</b>	<b>VIGENCIA</b>	<b>2014</b>	<b>PÁGINA</b>	<b>1 de 3</b>
---------------	---------------------	----------------	----------	-----------------	-------------	---------------	---------------

**TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO:**

EVALUACIÓN DE LIXIVIADO ORGÁNICO OBTENIDO DEL RAQUIS DE PLATANO PARA EL CONTROL FÚNGICO EN *Musaceae*

**AUTOR O AUTORES:**

Primero Y Segundo Apellido	Primero Y Segundo Nombre
Pardo Salamanca	Jessica Lorena
Pardo Salamanca	Karen Vanessa

**DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:**

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Amorocho Cruz	Claudia Milena

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:** Ingeniera Agrícola

**FACULTAD:** Ingeniería

**PROGRAMA O POSGRADO:** Ingeniería agrícola

**CIUDAD:** Pitalito

**AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2023

**NÚMERO DE PÁGINAS:** 38

**TIPO DE ILUSTRACIONES** (Marcar con una X):

Diagramas  Fotografías  Grabaciones en discos  Ilustraciones en general  Grabados   
Láminas  Litografías  Mapas  Música impresa  Planos  Retratos  Sin ilustraciones   
Tablas o Cuadros

**SOFTWARE** requerido y/o especializado para la lectura del documento:

**MATERIAL ANEXO:**



PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

Español

Inglés

- |                      |                    |
|----------------------|--------------------|
| 1. Musáceas          | <i>Musaceae</i>    |
| 2. Fitogatógenos     | phytopathogens     |
| 3. Lixiviado         | leachate           |
| 4. Control Biológico | biological control |
| 5. Anti fúngico      | antifungal         |

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

La producción de plátanos y bananos está adquiriendo fuerza de forma constante, ya que el interés por estos productos aumenta de forma significativa tanto a nivel nacional e internacional. La mayor parte de producción se destina a exportación, ya que estos productos son fundamentales para la seguridad alimentaria y son importantes para la alimentación familiar. No obstante, los problemas fitosanitarios provocados por plagas y enfermedades son excepcionalmente normales en las regiones productoras de plátanos y bananos, donde los alcances del efecto dependen de las circunstancias naturales y del manejo de los cultivos. En la siguiente investigación se analizó una muestra del pseudotallo de una planta de plátano con presencia de alguna enfermedad para identificar el hongo fitopatógeno que afecta el buen desarrollo de los cultivos de musáceas. Se identificó un hongo perteneciente al género *Fusarium* donde se demostró que la especie aislada fue *Fusarium sp.*, la cual fue expuesto *in vitro* ante cuatro tratamientos, donde el tratamiento 1 estaba compuesto por un producto comercial, el tratamiento 2 por lixiviado de raquis de plátano al 100%, el tratamiento 3 por lixiviado de raquis de plátano al 82% + ácido hipocloroso y el tratamiento 4 por el 50% de lixiviado de raquis de plátano + ácido hipocloroso. Los resultados de la investigación brindan la posibilidad de adoptar el lixiviado orgánico como agente antifúngico en los cultivos de musáceas, con el fin de disminuir la utilización de agroquímicos tóxicos para el ambiente, así mismo, contribuir con la economía de los agricultores de musáceas.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 3
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

The production of plantains and bananas is steadily gaining strength as interest in these products increases significantly both nationally and internationally. Most of the production is destined for export since these products are essential for food security and are important for family nutrition. However, phytosanitary problems caused by pests and diseases are exceptionally normal in plantain and banana-producing regions, where the scope of the effect depends on natural circumstances and crop management. In the following investigation, a sample of the pseudostem of a banana plant with the presence of some disease was analyzed to identify the phytopathogenic fungus that affects the proper development of *Musaceae* crops. A fungus belonging to the genus *Fusarium* was identified where it was shown that the isolated species was *Fusarium sp*, which was exposed *in vitro* to four treatments, where treatment 1 was composed of a commercial product, treatment 2 by leaching of 100% banana rachis, treatment 3 by leaching of 82% banana rachis + hypochlorous acid and treatment 4 by 50% of leaching of banana rachis + hypochlorous acid. The results of the research offer the possibility of adopting organic leaching as an antifungal agent in *Musacea* crops, to reduce the use of toxic agrochemicals for the environment, likewise, contribute to the economy of *Musacea* farmers.

**APROBACION DE LA TESIS**

Nombre Jurado:

Karen Tatiana Salas Calderon

Firma:

Nombre Jurado:

Henry Eduardo Jimenez Castellanos

Firma:

# **EVALUACIÓN DE LIXIVIADO ORGÁNICO OBTENIDO DEL RAQUIS DE PLATANO PARA EL CONTROL FÚNGICO EN *Musaceae***

Trabajo de grado presentado al departamento de Ingeniería Agrícola  
como requisito para optar al título de: Ingeniero Agrícola

Autores

JESSICA LORENA PARDO SALAMANCA: 20141127224

KAREN VANESSA PARDO SALAMANCA: 20141128254

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA**

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Agrícola

Pitalito, Huila, Colombia.

2022

Director: PhD. CLAUDIA MILENA  
AMOROCHO CRUZ

Codirector: PhD. JOSÉ JULIAN APRAEZ  
MUÑOZ

Nota de aceptación

---



---

Jurado: **Karen Tatiana Salas Calderón**



---

Jurado: **Henry Eduardo Jimenez Castellanos**

# EVALUACIÓN DE LIXIVIADO ORGÁNICO OBTENIDO DEL RAQUIS DE PLATANO PARA EL CONTROL FÚNGICO EN *Musaceae*

## RESUMEN

La producción de plátanos y bananos está adquiriendo fuerza de forma constante, ya que el interés por estos productos aumenta de forma significativa tanto a nivel nacional e internacional. La mayor parte de la producción se destina a la exportación, ya que estos productos son fundamentales para la seguridad alimentaria y son importantes para la alimentación familiar. No obstante, los problemas fitosanitarios provocados por plagas y enfermedades son excepcionalmente normales en las regiones productoras de plátanos y bananos, donde los alcances del efecto dependen de las circunstancias naturales y del manejo de los cultivos. En la siguiente investigación se analizó una muestra del pseudotallo de una planta de plátano con presencia de alguna enfermedad para identificar el hongo fitopatógeno que afecta el buen desarrollo de los cultivos de musáceas. Se identificó un hongo perteneciente al género *Fusarium* donde se demostró que la especie aislada fue *Fusarium sp.*, la cual fue expuesta *in vitro* ante cuatro tratamientos, donde el tratamiento 1 estaba compuesto por un producto comercial, el tratamiento 2 por lixiviado de raquis de plátano al 100%, el tratamiento 3 por lixiviado de raquis de plátano al 82% + ácido hipocloroso y el tratamiento 4 por el 50% de lixiviado de raquis de plátano + ácido hipocloroso. Los resultados de la investigación brindan la posibilidad de adoptar el lixiviado orgánico como agente antifúngico en los cultivos de musáceas, con el fin de disminuir la utilización de agroquímicos tóxicos para el ambiente, así mismo, contribuir con la economía de los agricultores de musáceas.

**Palabras clave:** Musáceas, fitopatógenos, lixiviado, control biológico, antifungico.

## ABSTRACT

The production of plantains and bananas is steadily gaining strength as interest in these products increases significantly both nationally and internationally. Most of the production is destined for export since these products are essential for food security and are important for family nutrition. However, phytosanitary problems caused by pests and diseases are exceptionally normal in plantain and banana-producing regions, where the scope of the effect depends on natural circumstances and crop management. In the following investigation, a sample of the pseudostem of a banana plant with the presence of some disease was analyzed to identify the phytopathogenic fungus that affects the proper development of *Musaceae* crops. A fungus belonging to the genus *Fusarium* was identified where it was shown that the isolated species was *Fusarium sp.*, which was exposed *in vitro* to four treatments, where treatment 1 was composed of a commercial product, treatment 2 by leaching of 100% banana rachis, treatment 3 by leaching of 82% banana rachis + hypochlorous acid and treatment 4 by 50% of leaching of banana rachis + hypochlorous acid. The results of the research offer the possibility of adopting organic leaching as an antifungal agent in *Musacea* crops, to reduce the use of toxic agrochemicals for the environment, likewise, contribute to the economy of *Musacea* farmers.



**Keywords:** *Musaceae*, phytopathogens, leachate, biological control, antifungal.

## INTRODUCCIÓN

Los bananos y plátanos son plantas monocotiledóneas pertenecientes al género *Musa* (*Musaceae*, *Zingiberales*) (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2007). Los países latinoamericanos son los principales exportadores de productos naturales y frescos a Estados Unidos y Europa, en dicho movimiento sólo se envía en 15% de la producción y el resto se destina a la utilización e industrialización local (Manzo-Sánchez *et al*, 2014).

La producción de plátano y banano cada día toma más fuerza ya que la demanda de dichos productos aumenta de manera considerable tanto a nivel nacional como internacional. En Colombia, Minagricultura en 2020 reportó una producción de 4.805.629 ton de plátano, siendo el cultivo más sembrado en el país y 2.140.642 ton de banano, donde cerca del 91% de la producción Nacional es destinado a la exportación, afirmando que estos productos son fundamentales en la seguridad alimentaria y hacen parte de la canasta familiar y por ende de muchos países (Martínez y Rey, 2021).

Los problemas fitosanitarios causados por plagas y enfermedades son muy comunes en las zonas productoras de plátano y banano, y la incidencia y magnitud del impacto dependen de las condiciones ambientales y del manejo del cultivo (DANE, 2016). Esto se debe a factores climáticos altamente inestables donde aumentan el riesgo de la aparición de diversos géneros y especies de patógenos. Existen patógenos que no se centran en una sola área de la planta, y atacan el área foliar, radicular, tallo y su sistema vascular (Jacome, 2020), convirtiéndose en un factor riesgoso para el desarrollo del cultivo (Moreno *et al*, 2021).

El banano y el plátano al ser un cultivo sensible requiere el monitoreo constante y procesos eficientes para que la plantación tenga un desarrollo adecuado. Con la presencia de la enfermedad provoca un efecto cadena que afecta directa e indirectamente a miles de familias que están relacionadas con el manejo de este cultivo. Ya que los trabajadores al momento de realizar labores como el corte de la fruta dejan al descubierto heridas por la cual el patógeno podría encontrar las vías de acceso necesarias para su infección (Jacome, 2020), además Vera, (2017) destaca en la producción de los monocultivos de plátano y banano requiere de un alto uso de agroquímicos para el control de malezas, enfermedades y protección de la fruta.

En el momento de tomar una decisión de control químico se deben considerar varios aspectos como ser: emplear productos registrados para el cultivo en cuestión, que sea eficiente para la plaga que queremos controlar y que el tiempo de carencia posibilite reiniciar la cosecha sin que esto produzca pérdidas y peligros de intoxicación para los operarios y/o consumidores (Pinto *et al*, 2017).

En esta circunstancia única, la investigación relacionada con la utilización de la variedad hereditaria intra-específica cercana se está creando como otro dispositivo para supervisar las

plagas y enfermedades, ya que cuanto más altos sean los grados de biodiversidad intraespecífica en una parcela, más notables serán las fuentes de obstrucción accesible (Marcillo, 2014).

Como alternativa para estos problemas, está el adecuado reconocimiento de estos factores fitosanitarios y los diferentes métodos de control: cultural, biológico y químico. En este sentido, el manejo integrado de plagas y enfermedades se encamina a lograr una producción sostenible, al implementar armónicamente prácticas o métodos de control, considerando las variables ambientales, sociales y tecnológicas (DANE, 2016). En la actualidad estos métodos alternativos de control cada vez se hacen más dispendiosos, ya que la diseminación de los diversos patógenos se dan por prácticas no favorables como lo son; el movimiento y transporte de suelo infectado, el uso de herramientas de cultivos enfermos a cultivos sanos, por medio de los afluentes, por el paso de animales domésticos e insectos entre cultivos, entre otros.

Las principales enfermedades de importancia al que enfrentan estos cultivos ya están identificadas, entre ellas está la mancha foliar (*Mycosphaerella eumusae*) (Arzanlou *et al*, 2008), mal de panamá (*Fusarium oxysporum f. sp.*) (Ploetz, 2015), Moko del plátano (*Ralstonia Solanacearum*) (Álvarez *et al*, 2013), entre otros. Por tal motivo cada vez es más importante para los productores poder tener un producto que ayude al control fitosanitario de manera eficiente y amigable con el medio ambiente.

Como alternativa para mitigar las afectaciones causadas por estas enfermedades expertos sugieren el uso de lixiviados orgánicos, los lixiviados del raquis se suman a la alimentación de las propias parcelas de plátano, básicamente en el compromiso extraordinario de potasio, el suplemento más significativo y clave para la mejora de los productos orgánicos. Correlativamente, pequeñas cantidades de estos lixiviados pueden dar una variedad más prominente de suplementos (N, Fe, Mn, Na, Cu) a la tierra para conseguir una mejora del rendimiento, los propósitos de estos lixiviados además de ayudar al sustento con la conserva moderan igualmente la frecuencia de ciertas enfermedades; e lixiviado de raquis de plátano puede ser un fantástico suplemento en el tratamiento de los cultivos de plátano, por la variedad de suplementos que presenta, en consecuencia, se suma para aliviar la consolidación de altas centralizaciones de abonos y permite la recuperación ambiental de los suplementos a la tierra y las redes de formas de vida que la ocupan (Chávez *et al*, 2017).

Por tal motivo este proyecto tiene como finalidad evaluar el lixiviado orgánico obtenido del raquis de plátano para el control fúngico en *Musaceas* junto con ácido hipocloroso mediante varios tratamientos, donde se acudirá a un software libre llamado ImageJ (versión 1.48q) el cual con sus herramientas se podrá hacer seguimiento al crecimiento *in vitro*, además de esta herramienta se realizarán pruebas estadísticas Tukey para analizar y respectivamente llegar a los resultados esperados dándole una posible solución al problema fitosanitario que afecta a los productores de plátano y banano.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar el lixiviado orgánico obtenido del raquis de plátano sobre el control en la proliferación *in-vitro* de enfermedades de origen fúngico en *Musaceae*

### **Objetivos específicos**

Comparar la concentración del lixiviado más ácido hipocloroso para el control de los patógeno de importancia en las musáceas

Determinar la acción antimicrobiana del producto desarrollado, mediante la evaluación del crecimiento *in vitro* de las diferentes cepas aisladas, con el software imageJ.

Desarrollar un prototipo de origen orgánico con potencial fungicida en el control de enfermedades de importancia agrícola en el cultivo de plátano y banano.

### **MARCO CONCEPTUAL**

#### ***Musaceas***

La planta de plátano y banano pertenecen a la familia de las musáceas presentando características especiales que despiertan el interés científico de estudios en esta disciplina; tal como describen Barrera *et al*, (2011) este tipo de planta es una categoría duradera, que debe pasar por una etapa de formación que le permita fabricar el crecimiento de la raíz subterránea para los ciclos de ingestión, y las hojas para la ósmosis (fotosíntesis). Cuando estos diseños están enmarcados, almacena carbohidratos y diferentes sustancias en los cormos para la descarga de los brotes, la floración y el consiguiente llenado de productos naturales. La planta debe estructurar todo el tiempo la región de las hojas y las raíces importantes para mantener un equilibrio incesante con la mejora de estos órganos, así como controlar sus ciclos fisiológicos para mantener el desarrollo vegetativo y producir el producto natural al mismo tiempo.

Según Lescot, (2008) en todo el mundo, las musáceas (bananas y plátanos) son de extraordinaria cuantía, entre las naciones con la creación se destacan India, Uganda, Brasil, China, Filipinas, Ecuador y Colombia, individualmente. Esta agrupación tiene a los surtidos Hartón, Dominico Hartón y Dominico como los más delegados, son igualmente los más comercializados y los más utilizados en los ciclos agro modernos.

El cultivo del plátano en Colombia es posiblemente de los más distintivos y prometedores de la nación, ya que se produce en todas las zonas y a lo largo del año. Es la ocupación de miles de familias en Colombia y por su beneficio alimenticio se utiliza tanto para el uso humano como para la alimentación de los animales (Agudelo y Flores, 2019).

Camayo (2015), expresa que los cultivos de plátano en Colombia están expuestos a varios factores de riesgo, plagas, organismos microscópicos, cambios ecológicos extremos, estaciones secas e inviernos extensos. Factores que en su mayoría ocurren dentro del patrón de creación del plátano.

#### **Enfermedades**

Desde algún tiempo atrás, la seguridad que el cultivo de plátano *Musa paradisiaca* suministra a los pequeños, medianos y grandes productores, se ha visto amenazada por un conjunto de plagas que aquejan a la planta y sus respectivos frutos (Jiménez y Rodríguez, 2014). Álvarez *et al.*, (2013a), afirma que las enfermedades que influyen en el plátano y la banana son un gran problema en todo el mundo, ya que se desprenden de todas las piezas de la planta y son provocadas por organismos, microorganismos e infecciones. Restrepo (2021) asegura que los flujos de viento, especialmente durante los periodos de turbulencia, contribuyen a la propagación de distancias significativas. Diferentes circunstancias, por ejemplo, fertilización deficiente, la ausencia de canales de infiltración, el aplazamiento de las diligencias sociales, como, la evacuación de las hojas, el procedimiento agrícola, la alimentación y la administración de las malas hierbas se suman a las circunstancias climáticas, haciendo que la operación fitosanitaria sea más compleja.

La propagación de la enfermedad es rápida y se transmite con facilidad por contacto (instrumentos de campo) produciendo pérdidas considerables. Se ha encontrado que va tras todos los genotipos de plátano sin rumbo. Las fuentes de inóculo son las acumulaciones de plantas enfermas, el suelo contaminado y los artículos utilizados para el intercambio. La enfermedad puede iniciarse por contaminaciones de plantas enfermas a flores masculinas de plantas sólidas, a través de salpicaduras de gotas de lluvia, de rizomas obtenidos de plantas contaminadas o a través de la transmisión por contacto en plantas no florecientes, de las que se crean marchitamiento, deterioro de productos naturales y marchitez mortal (Manzo-Sánchez, 2013).

## SIGATOKA NEGRA

Las musáceas son vulnerables a las enfermedades provocadas por organismos microscópicos, fitonemátodos, así como crecimientos, entre ellos *Pseudocercospora fijiensis*, que es el especialista causante de la infección conocida como Sigatoka negra. Esta enfermedad está ampliamente difundida en todo el mundo y se considera el principal problema fitosanitario en la producción de plátanos, ya que causa daños, por ejemplo, la disminución del tejido fotosintético, el envejecimiento prematuro del producto orgánico, la pérdida de peso del racimo, entre otros. Las ascosporas son la principal vía de contaminación debido a su sencilla propagación por el viento y el agua; entran a través de los estomas siempre que se guarden en la capa externa del envés de la hoja bandera, donde los estados de alta precipitación y las temperaturas entre 26-28°C inciden directamente en el avance de la enfermedad (Benavides, 2019).

La gravedad de esta enfermedad se amplía en un marco, por ejemplo, el de las musáceas, en el que el desarrollo de un clon hereditario uniforme en enormes expansiones hace que el marco sea excepcionalmente indefenso ante los ataques epidémicos del agente (Manzo-Sánchez *et al.*, 2005).

## MAL DE PANAMÁ

Como su nombre indica, la marchitez por *Fusarium* se describe por una contracción continua de las plantas, que puede pasar en medio mes o meses, debido a la obstrucción del entramado vascular provocada por el microbio. Se ha visto que la indefensión de la planta aumenta a medida que se acerca la floración, en cuyo caso el haz puede surgir, pero no crece ordinariamente. En las plantas afectadas, la posteridad puede parecer típica o animada en su desarrollo, dando la presencia de ser sana, sea como sea, están manchadas y esto amplía el riesgo de propagación de la enfermedad.

En el interior, se observan regiones de color marrón a tierra tenue en las raíces y el cormo. En el pseudotallo, los paquetes vasculares se vuelven de color marrón claro a marrón rojizo y deben ser visibles a lo largo de todo el pseudotallo y, sorprendentemente, en el pseudoesporo y la vena focal de la hoja. (Carr *et al*, 2017). Los efectos secundarios externos se manifiestan al principio como un amarillamiento en los bordes de las hojas más experimentadas, que se extiende a las más jóvenes. Se descomponen lentamente, oscilando desde la base del nervio medio alrededor del pseudotallo. Las hojas más jóvenes son las últimas en mostrar los efectos secundarios y suelen permanecer erguidas. También pueden crearse roturas longitudinales en el pseudotallo. La mejora de la planta no es capturada por la enfermedad y son más modestas y manchadas para surgir las hojas (Martínez *et al*, 2019). La raza 4 de *F. oxysporum f. sp. cubense* es, sin duda, la que tiene mayor potencial para crear problemas tanto al comercio del plátano como a los pequeños productores, ya que una gran parte de los surtidos de plátanos y bananas desarrollados están indefensos ante la enfermedad (Manzo-Sánchez, 2013).

## MOKO

Es una enfermedad altamente infecciosa, ya que tiene la capacidad de invadir de manera sistemática todos los órganos de la planta hospedera, provocando el taponamiento de los haces vasculares, lo que induce finalmente a la marchitez y muerte de la unidad de producción. De esta manera, se provoca una disminución significativa del rendimiento por hectárea de las plantaciones. La enfermedad del Moko se caracteriza por afectar a todos los órganos de la planta en cualquier etapa de su desarrollo. Los síntomas suelen presentarse en una de las tres hojas más jóvenes, avanzando progresivamente hacia las más viejas las hojas afectadas presentan al inicio una tonalidad verde pálida o amarilla, luego se marchitan, se sacan y terminan por doblarse en o cerca del punto de unión del limbo con el peciolo (Sotomayor *et al*, 2014).

## Lixiviado de raquis de plátano

El lixiviado del plátano está formado por una combinación de sustancias no húmicas (azúcar, aminoácidos, polisacáridos, proteínas) y sustancias húmicas, que son combinaciones de varios grupos macromoleculares, e incluye la actividad de microorganismos responsables del deterioro microbiano (Arenas *et al.*, 2004). Su impacto inhibitorio sobre los fitopatógenos examinados, por ejemplo, *Mycosphaerella fijiensis*, *R. Solanacearum* y *Sphaerotheca pannosa*, se atribuye a la actividad cooperativa de mezclas bioquímicas con impacto antimicrobiano, como los ácidos fenólicos, las saponinas, las naftoquinonas y los terpenoides, en su mayor parte (Mainer, 2009).

Chaves *et al*, (2017) expresan que los lixiviados de los raquis contribuyen a una gran nutrición del suelo y, por consiguiente, a los cultivos de plátanos. En el estudio realizado, los suplementos fundamentales obtenidos en los lixiviados fueron Nitrógeno (N), Potasio (K), Fósforo (P), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Hierro (Fe), Cobre (Cu) y Sodio (Na), entre otros. Las principales cantidades en la obtención de lixiviados del raquis de plátano Dominicano se adquirieron después de 20 días, mientras que el surtido de lixiviados en el surtido Morado se hizo después de 26 días de fermentación, lo que exhibe la viabilidad del fluido vegetal.

Álvarez *et al*, (2013) afirman que las opciones que se han planteado por la administración sintética pueden crear problemas ecológicos y humanos, las prácticas, por ejemplo, las rotaciones de cultivos no han sido totalmente eficaces, la capacidad de los patógenos para resistir durante mucho tiempo en la materia natural, el suelo o los huéspedes sustitutos. La utilización de estos

elementos electivos sustituyó a la utilización de formaldehído, un elemento profundamente nocivo que era utilizado por los agricultores en sus fincas.

En estudios donde se ha evaluado el lixiviado de raquis de plátano por Álvarez *et al*, (2013a) en fincas del Quindío durante 3 años, tuvieron la opción de disminuir el número de habitantes en *Ralstonia solanacearum* causante del Moko en un 32%, con utilizaciones de lixiviados no adulterados en el suelo en dosis de 27.000 litros por cada hectárea. En las utilizaciones aeronáuticas del lixiviado al 20% de concentración, se notó una mejoría foliar, donde la planta puede introducir hasta tres hojas sólidas en el momento de la cosecha y con menor gravedad de la Sigatoka Negra. La naturaleza del lixiviado no queda totalmente resuelta por el tratamiento de la cosecha, puesto que influye en la naturaleza del raquis, la convención y el tiempo de creación, y la etapa de curado, ya que sugieren una temporada de incubación prevista de 40 días (maduración anaeróbica), que se aplicará más tarde.

Mogollón y Zapata (2010) estudiaron el efecto de los lixiviados del raquis del plátano a los 15 días de la siembra, tuvo una disminución más notable en el número y tamaño de los estados de crecimiento de *P. fijiensis* con el uso de los lixiviados con 90% de agua disipada como para los diferentes tratamientos, mientras que la esporulación y germinación de conidias con este tratamiento disminuyeron de igual manera que con los fungicidas, los cuales frenaron totalmente el desarrollo del organismo. Eso es lo que mostraron los resultados, a medida que se ampliaba la agrupación del lixiviado, disminuía la mejora de *P. fijiensis*.

Por otro lado, las investigaciones se han extendido a nivel mundial, acompañando al lixiviado de raquis de plátano con otras sustancias que probablemente tendrían mayor efecto anti fúngico.

## **Ácido hipocloroso**

Según Soto y Gonzáles (2016), el ácido hipocloroso (HClO) es una partícula no disociado de cloro y es el principal responsable de la acción bactericida de los demás subordinados del cloro. Es importante para otro grupo de sustancias microbicidas conocidas como "partículas antimicrobianas no antiinfecciosas" que, debido a su amplia gama, su rápida actividad y su amplio margen de bienestar, pueden utilizarse para controlar y prevenir un gran número de enfermedades de la piel y las mucosas.

Además, evaluaron dos grupos de vacas de Holstein, uno con un pre sellador a base de ácido hipocloroso y el segundo grupo con un pre sellador a base de amonio cuaternario, con una diferencia de tiempo en su aplicación de 20 y 30 segundos. Como resultado de este estudio demostraron que el ácido hipocloroso tuvo una efectividad alta en coliformes y moderada contra hongos y levaduras, además de esto comprobaron que no genera ningún tipo de residuos en leche, por tal motivo concluyen que el ácido hipocloroso puede ser utilizado como desinfectante-presellador en vacas.

Henaó *et al* (2003), afirman que el ácido hipocloroso como desinfectante bactericida, penetra fácilmente en las células bacterianas a través de la membrana citoplasmática, actúa sobre proteínas y ácidos nucleídos de los microorganismos, oxida grupos sulfhídricos (-SH) y ataca grupos aminos, índoles y al hidroxifenol de la tirosina. La acción bactericida del hipoclorito de sodio se debe al ácido hipocloroso y al cloro gaseoso que se forman cuando el hipoclorito es diluido en agua, a pH menores de 7,5 se favorece la generación del ácido hipocloroso y a pH mayores tiende a generar ion hipoclorito, el cual tiene una actividad reducida debido a su carga eléctrica y no atraviesa fácilmente la membrana celular.

Ordoñez *et al*, (2021) investigaron como propósito principal evaluar la eficacia de varios desinfectantes comerciales, en función de la concentración y el tiempo de contacto, frente a un

amplio espectro de cepas de *Fusarium spp*, con el fin de contribuir a la implementación de procesos de bioseguridad en puntos de ingreso especialmente a las bananeras. Un total de 5 desinfectantes comerciales fueron seleccionados y su actividad fue evaluada luego de 30 segundos, 1 minuto y 5 minutos de exposición a una suspensión de macroconidios y otra de clamidosporas (10<sup>6</sup> /mL), (...) aquel producto compuesto por ácido hipocloroso 0,05 % (neuthox) presentó mayor efectividad en todas las cepas en general a focos más notables o equivalentes a la fijación sugerida, a partir de un momento de apertura contra los macroconidios y de 5 minutos de apertura contra las clamidosporas. Ninguno de los desinfectantes de dióxido de cloro fue convincente para reprimir (inhibir) el avance de *Fusarium spp*.

### **Software imagej (versión 1.48q)**

ImageJ es un programa de manejo de imágenes computarizado situado principalmente en las ciencias del bienestar. Es una programación de espacio público de código abierto creada en lenguaje Java en National Institutes of Health en los Estados Unidos. Incorpora naturalmente activos integrales para alterar, manejar y examinar imágenes de prácticamente cualquier tipo y configuración. No obstante, su mayor prudencia radica en su extensibilidad: Las funcionalidades de ImageJ pueden ser alcanzadas para resolver prácticamente cualquier problema avanzado de manejo de imágenes (Sánchez Valenciano, 2014).

Shindelin *et al*, (2015) afirman que desde que los equipos de imágenes digitales ingresaron al mundo de la ciencia, los científicos de la vida han colaborado con los científicos informáticos para aplicar técnicas de procesamiento de imágenes para analizar datos biomédicos. La finalidad es utilizar procesos computacionales para acelerar tareas repetitivas y, al mismo tiempo, obtener resultados cuantitativos, ya que los resultados estadísticos son mucho más convincentes, científicamente hablando, que las observaciones cualitativas. A medida que maduró el campo del procesamiento de imágenes (Castleman, 1996), los expertos en visión artificial desarrollaron técnicas especializadas que podrían aplicarse a las imágenes biomédicas.

Además expresaron que la comunidad de ImageJ también dio un ejemplo de cómo la investigación puede ser más efectiva, al establecer un foro interdisciplinario donde se difunde el conocimiento y las preguntas que pueden parecer difíciles para los expertos en un campo científico pueden ser respondidas fácilmente por un experto en otro campo que van desde biólogos experimentales hasta paleontólogos, astrónomos e informáticos, así mismo, cada vez más científicos reconocen el hecho de que el software juega un papel tan importante en la investigación como los materiales y los métodos.

## **METODOLOGÍA**

## LOCALIZACIÓN

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en la Universidad Surcolombiana Sede Pitalito en los laboratorios de biología y suelo, ubicada en el kilómetro 1 vía Vereda El Macal, en las instalaciones del Tecnoparque nodo Pitalito, sede Yamboró en los laboratorios de biotecnología, ubicado en la Vereda Chillurco del municipio de Pitalito y en la Finca El Paraíso, propiedad del señor Nicolás Molina Medina, ubicada en la vereda Danubio perteneciente al municipio de Pitalito- Huila, localizada a  $1^{\circ}52'49.32''$  N y  $76^{\circ}5'14''$  O, donde se encuentran los cultivos de plátano y banano. El municipio de Pitalito posee una temperatura promedio de  $23^{\circ}\text{C}$  con una humedad relativa de 80%. La investigación llevada a cabo se dividió en tres fases, las cuales fueron necesarias para adecuada ejecución de la misma (Ilustración 1).

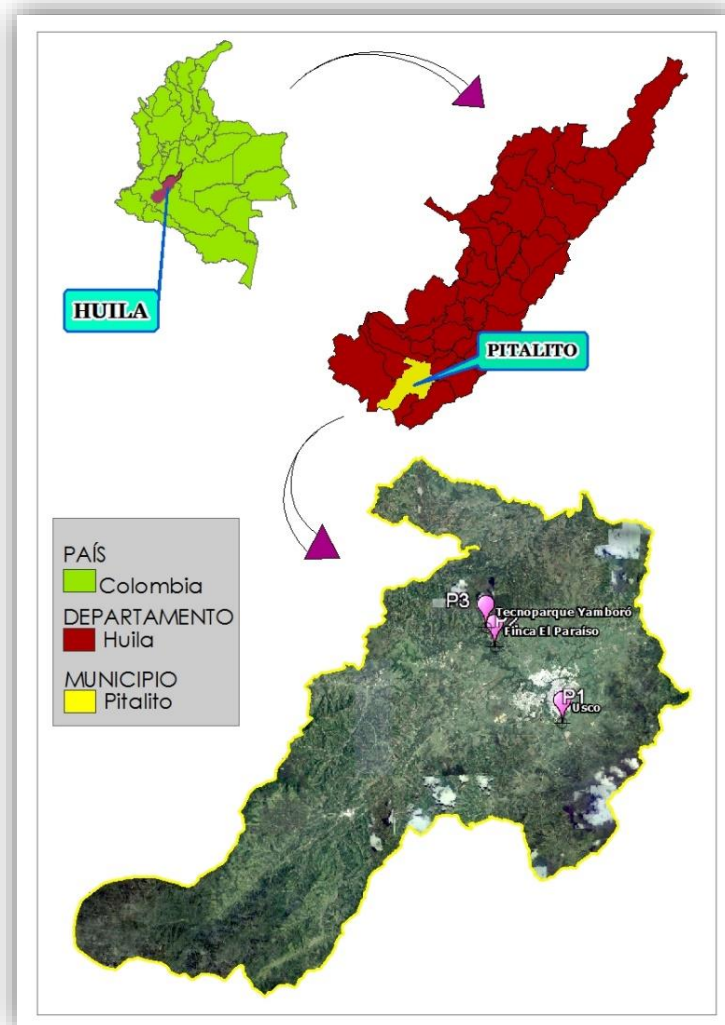


Ilustración 1. Ubicación áreas de trabajo



## **FASE 1**

### **LIXIVIADO DE RAQUIS DE PLÁTANO**

#### **Recolección materia prima**

La colecta del raquis de plátano se realizó en la plaza de mercado minorista de Cálamo del municipio de Pitalito-Huila, donde se obtuvo un aproximado de 20 kg.

#### **Procesamiento del raquis de plátano**

Los raquis de plátano se depositaron en recipientes para hacer el debido proceso de lavado con agua potable, así mismo por un lapso de 30 minutos se dejaron en reposo para escurrir el agua sobrante. Luego se trasladó al área de molienda, donde se utilizó un molino convencional de mano para moler el material en fresco. Mediante este proceso de molienda se extrajo el líquido para llevar almacenar.

#### **Fermentación del lixiviado**

Al obtener el líquido del proceso de molienda, se almacenaron aproximadamente tres litros a temperatura ambiente en frascos de vidrio con tapa plástica para evitar la corrosión, dichos frascos se llevaron a incubación en cuarto oscuro evitando posibles movimientos y luz solar a temperatura promedio de 23°C y humedad en el laboratorio de 90%. El proceso de fermentación del lixiviado se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología del Tecnoparque nodo Pitalito.

## **FASE 2**

Esta fase se llevó a cabo en base a la metodología realizada por Mogollón y Castaño-Zapata (2010), donde se usó principalmente el método de la siembra directa de las respectivas muestras y aislamiento en medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar), teniendo en cuenta alguna modificación por las condiciones en laboratorio.

## MUESTRA CONTAMINADA

### Reconocimiento en campo

En la finca La Esperanza se realizó la inspección de los cultivos de plátano y banano donde se pudo identificar la presencia de enfermedades fúngicas que estaban atacando las plantaciones por la sintomatología que demostraban (Ilustración 2).



*Ilustración 2. 1. Planta cortada por enfermedad. 2. planta con presencia de enfermedad en el área foliar. 3. planta enferma en pseudotallo. 4. hijuelo enfermo en pseudotallo y área foliar. 5. planta joven con inicios de enfermedad. 6. plantas enfermas totalmente.*

### Recolección de muestra.

Se extrajo la muestra de tejido vegetal realizando un corte transversal al pseudotallo de una planta de plátano, donde se pudo evidenciar posible enfermedad al interior de la misma como se observa en la Ilustración 3, para trasladarla a laboratorio.



*Ilustración 3. Pseudotallo de planta de plátano enferma (corte transversal).*

## **PROCESO EN LABORATORIO**

### **Asepsia implementos de laboratorio**

Se manipuló una cantidad de 100 cajas Petri la cual se le realizó el siguiente procedimiento:

**Lavado:** Las cajas Petri se lavaron con agua potable y jabón líquido neutro, donde se les retiró todo tipo de sedimentos de experimentos anteriores, seguidamente se secaron con toallas de papel, dejándolas en reposo por 30 minutos.

**Desinfección:** Después del proceso de lavado y secado se desinfectaron con alcohol antiséptico al 70%, en seguida se marcaron las tapas superiores de las cajas Petri para evitar confusiones con otros experimentos en los laboratorios.

**Esterilización:** Luego de tener las cajas Petri desinfectadas se organizaron en secciones de diez unidades, donde se envolvieron en papel de estraza y cinta papel (Ilustración 4), teniendo de este modo todas las cajas Petri se llevaron a esterilizar mediante autoclave, según el Instituto Nacional de Gestión Sanitaria (2013), éste proceso de esterilización se hace con el fin de inactivar todos los virus y bacterias, actúa coagulando las proteínas de los microorganismos llevando así su destrucción.



*Ilustración 4. 1. Cajas Petri empacadas para esterilizar en Autoclave. 2. Autoclave*

## **Preparación medio de cultivo**

**Agua destilada:** Inicialmente se midió la cantidad de mililitros que podía contener una caja Petri, dando como resultado 30 ml por cada una, en efecto se requerían tres litros para las 100 cajas Petri que anteriormente se esterilizaron.

**Papa Dextrosa Agar:** La mezcla se realizó con base a la metodología de Mogollón & Castaño-Zapata (2010) con algunas modificaciones en las diluciones y la aplicación de los productos en Papa Dextrosa Agar, además siguiendo las especificaciones del fabricante, se debía preparar 39 gr de PDA por cada litro de agua purificada o destilada, por ende, para los tres litros de agua destilada se utilizó 117 gr de PDA.

**Mezcla:** En dos beakers de 1.5 lt se agregó 58.5 gr de PDA con 1500 ml de agua destilada. Luego de mezclar los dos elementos mencionados se realizaron pruebas de pH dando como resultado 5.35, por esta razón se agregó en pocas cantidades NaOH con el fin de subir el pH de la mezcla hasta 7.2 (neutro).

La mezcla se llevó a la plancha de agitación, proporcionando una temperatura de 150° C y 600rpm, la cual requirió de 35 minutos para llegar a punto de ebullición, al mismo tiempo se agregó 9 gr de oxiclورو de Cobre en cada beaker, como complemento para prevenir la contaminación por otros hongos fitopatógenos siendo uno de los fungicidas agrícolas más antiguo del mercado y de amplio

espectro además de ser el más económico, seguidamente se llevó a autoclave para la respectiva esterilización, luego se incorporó en cada caja Petri los 30 ml de la mezcla preparada. A partir de esto se dejó en reposo 24 horas en la cabina de flujo laminar (Ilustración 5).



Ilustración 5. 1. Medio nutritivo PDA. 2. Mediciones con pH-metro. 3. Plancha de calentamiento. 4. Cajas Petri con medio nutritivo. 5. Cabina de flujo laminar.

## Siembra

Teniendo la muestra recolectada en campo ya en laboratorio, se lavó con agua destilada con el fin de retirar sedimentos de la muestra. En segunda instancia se le realizó cortes muy pequeños, aproximadamente de 1 cm, para luego hacer la siembra colocando cada trozo de muestra en las cajas Petri con el respectivo cultivo. Finalmente, las cajas Petri se dejaron en reposo durante 72 horas en incubación a temperatura de 23°C y una humedad de 90%, después de ver el crecimiento de los hongos se hacía verificación pasando un día.

## Muestras

Las muestras obtenidas luego del proceso de observación, fueron escogidas, de las cuales se seleccionaron 25 unidades, para el respectivo estudio, estas muestras fueron divididas en 5

subgrupos en relación al crecimiento micelial, esto con el fin de que cada grupo se le fuera asignado un tratamiento.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
<b>TRATAMIENTO 1</b>	Producto químico comercial al 100%.
<b>TRATAMIENTO 2</b>	lixiviado de raquis de plátano al 100%.
<b>TRATAMIENTO 3</b>	lixiviado de raquis de plátano al 82% + HClO
<b>TRATAMIENTO 4</b>	lixiviado de raquis de plátano al 50% + HClO

*Tabla 1. Concentraciones de cada tratamiento*

### **Preparación Tratamientos**

Los tratamientos que se prepararon se realizaron de acuerdo a la metodología propuesta de la siguiente manera:

Cada tratamiento fue almacenado en frascos de vidrio a temperatura ambiente, listos para la fase de aplicación (Ilustración 6).



*Ilustración 6. Tratamientos.*

### **Aplicación de los tratamientos**

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante aspersión con atomizador Spray, dicha aplicación se realizó a cada grupo que correspondía a los tratamientos asignados en 15 sesiones programadas (cada tres días).

### **Producto comercial**

Según la empresa fabricante del producto comercial PRATICO® SC (ADAMA agricultura Perú S.A.), donde describe el producto con función fungicida-insecticida fundamental y de contacto a base de flutriafol e imidacloprid. Su impacto insecticida viene dado por el fijador dinámico imidacloprid, que sigue el sistema sensorial focal de los insectos, impidiendo los receptores de acetil-colina. Su actividad fungicida se obtiene del flutriafol, que modifica la biosíntesis del ergosterol en los fitopatógenos, provocando la ruptura de las paredes celulares e impidiendo el avance de las hifas.



Ilustración 7. Producto químico comercial

## ESPECIFICACIONES TÉCNICAS



INGREDIENTE ACTIVO	Imidacloprid – Flutriafol
--------------------	---------------------------

CONCENTRACIÓN	250 G/L + 200 G/L
---------------	-------------------

MODO DE ACCIÓN	Contacto e ingestión
----------------	----------------------

REGISTRO NACIONAL ICA	1610
-----------------------	------

CATEGORÍA TOXICOLÓGICA	III Moderadamente peligroso
------------------------	-----------------------------

GRUPO QUIMICO	Neonicotinoide + Triazol.
---------------	---------------------------

BENEFICIOS	Alta sistemicidad
	menor riesgo en la aplicación
	seguro para el cultivo
	Efecto tónico

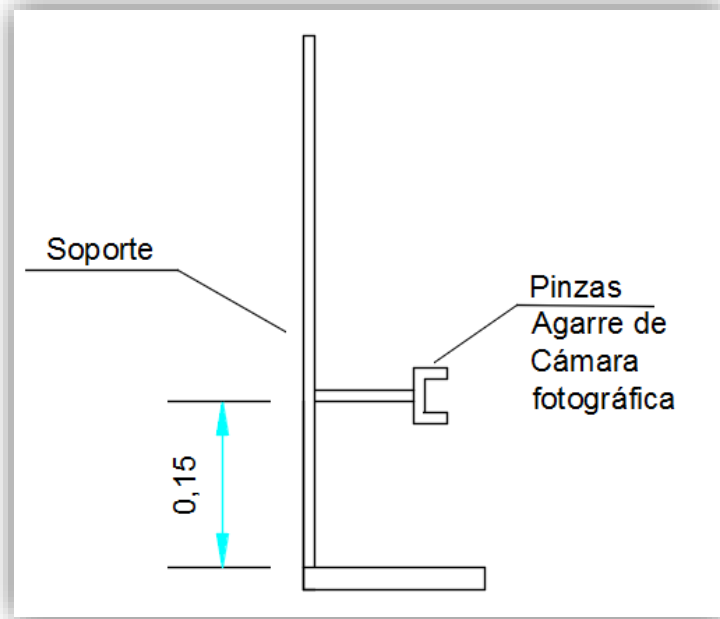
Tabla 2. Componentes producto comercial PRATICO SC.



### FASE 3

#### Montaje para aplicación

En la aplicación de los tratamientos se requería de un seguimiento fotográfico, por tal motivo se implementó un montaje para captar cada cambio que ocurría durante las sesiones de aplicación.



*Ilustración 8. Esquema montaje fotográfico.*

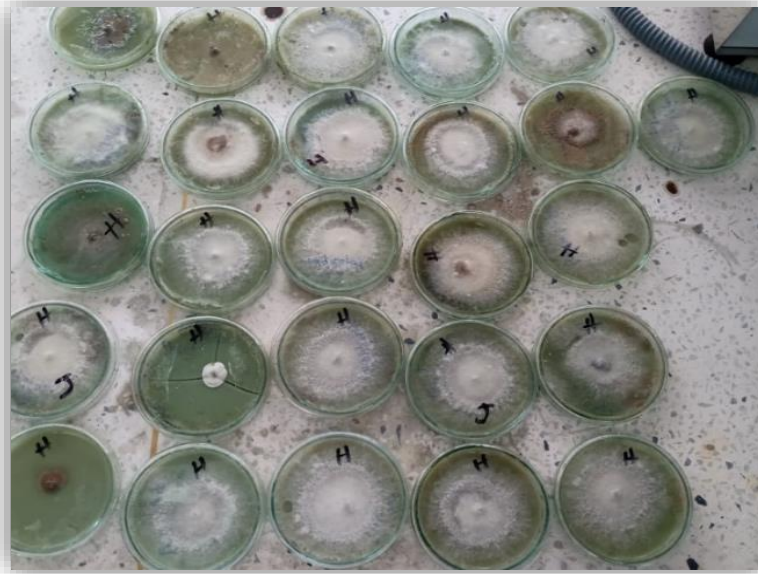
Se utilizó un soporte con pinzas para instalar la cámara fotográfica CANON SX500 IS (ilustración 8, 9) a una altura de 15 cm desde la base donde se colocó la muestra para ser captada por la misma, después de hacer cada registro fotográfico se procedió a realizar la aplicación de los tratamientos, dicho procedimiento se repitió durante 15 sesiones (una sesión cada tres días). El registro fotográfico fue almacenado de forma organizada de tal manera que se pudiera observar con exactitud los cambios que ocurrían tras cada aplicación.



*Ilustración 9. Toma de registro fotográfico*

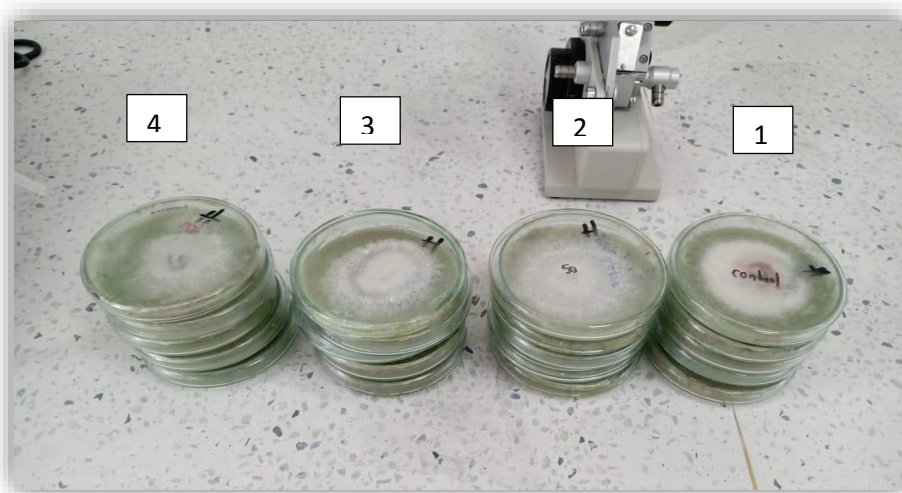
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El seguimiento se realizó durante 42 días, observándose crecimiento micelial lentamente cada día, tal como se evidencia en la ilustración 10.



*Ilustración 10. Muestras de Hongos.*

Para cada tratamiento se emplearon cinco placas con crecimiento micelial (ilustración 11).



*Ilustración 11. Grupos de muestras*

## Identificación

La identificación del patógeno que se formó en las cajas Petri se hizo mediante comparación de estudios como el de Moreno *et al*, (2021) dando como resultado *Fusarium sp.* En tal sentido se pudo apreciar las características del micelio con textura algodonosa y pigmentos de color blanco, en ese mismo contexto las características morfológicas son similares a las expuestas por Moreno *et al*, (2021) en donde se identificaron la presencia del hongo en los frutos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) en el municipio de Pitalito Huila

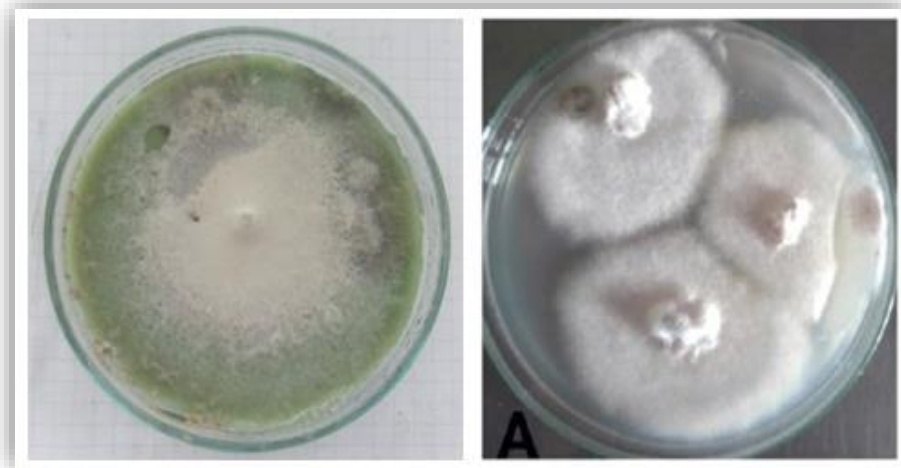


Ilustración 12. Comparación del hongo *Fusarium sp.*, 1. Muestra obtenida en laboratorio de planta de plátano 2. muestra obtenida por moreno et al, (2021) de cáscara de pitahaya.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el desarrollo de esta investigación se realizó un análisis de varianza en un modelo estadístico de diseño irrestrictamente al azar (DIA) con cuatro fuentes de variación (tratamientos), cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$\mu$ : Promedio.

$T_i$ : Efecto del tratamiento sobre patógeno.

$E_{ij}$ : Error experimental asociado al tratamiento i, repetición j.

Durante las 15 sesiones de aplicación y seguimiento fueron sometidas a un análisis de medición mediante el software ImageJ, donde claramente se pudo evidenciar el crecimiento del micelio algodonoso de *Fusarium sp.* alrededor de cada muestra obtenida del pseudotallo de una planta de plátano cultivado en PDA, de este modo fue posible medir el área micelial de cada muestra, por consiguiente, se adquirieron los datos expuestos en la tabla 4, la cual demuestra el valor promedio del crecimiento cada tres días para cada uno de los tratamientos y la desviación estándar del parámetro evaluado por cada tratamiento.

Tabla 3. Resultados del crecimiento micelial de los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO MICELIAL (cm <sup>2</sup> )	DÍAS DE EVALUACIÓN														
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42
1	0.93	0.8	0.7	0.65	0.61	0.51	0.45	0.4	0.33	0.29	0.23	0.21	0.15	0.11	0.07
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.18	0.16	0.14	0.14	0.18	0.16	0.19	0.17	0.16	0.14	0.09	0.04	0.01	0.008	0.02
	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1	a1
2	1.2	1.18	1.01	0.84	0.74	0.67	0.6	0.5	0.45	0.42	0.4	0.37	0.29	0.11	0.18
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.18	0.35	0.07	0.06	0.04	0.04	0.04	0.10	0.09	0.06	0.04	0.03	0.05	0.002	0.013
	a2	a3	a4	a3	a3	a2	a2	a2	a2	a3	a3	a4	a3	a1	a3
3	1.23	1.38	0.93	0.82	0.73	0.71	0.65	0.56	0.49	0.39	0.34	0.29	0.25	0.23	0.2
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.09	0.27	0.24	0.22	0.23	0.21	0.25	0.21	0.21	0.23	0.23	0.22	0.22	0.22	0.24
	a3	a4	a3	a2	a2	a3	a3	a3	a3	a2	a2	a2	a2	a3	a4
4	1.54	0.99	0.88	0.82	0.76	0.74	0.72	0.64	0.58	0.54	0.4	0.35	0.29	0.17	0.12
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0.22	0.15	0.11	0.14	0.11	0.11	0.11	0.08	0.04	0.76	0.11	0.05	0.08	0.04	0.05
	a4	a2	a2	a2	a4	a4	a4	a4	a4	a4	a3	a3	a3	a2	a2

\*Letra **a** con diferentes números (1, 2, 3 o 4) indican diferencias significativas para los tratamientos (test de Tukey).

La tasa de decadencia del hongo *Fusarium sp.* al ser expuesto durante el tiempo de aplicación osciló para el tratamiento 1 entre 0.93 cm<sup>2</sup> y 0.07 cm<sup>2</sup>, para el tratamiento 2 fue de 1.2 cm<sup>2</sup> y 0.18 cm<sup>2</sup>, para el tratamiento 3 fue de 1.23 cm<sup>2</sup> y 0.2 cm<sup>2</sup> y en el tratamiento 4 fue de 1.54 cm<sup>2</sup> y finalizó con 0.12 cm<sup>2</sup>, tal como lo expone la tabla 4 y el gráfico 1, donde se observa la inhibición constante del crecimiento micelial tomado cada tres días durante el lapso de tiempo de 42 días (15 sesiones).

### CRECIMIENTO MICELIAL DE *fusarium*.

El comportamiento del crecimiento micelial de *Fusarium sp.* fue generalmente disminuyendo durante el tiempo de aplicación tal como se demuestra en la gráfica de líneas, véase gráfico 1, demostrando en los primeros tres días de aplicación valores fluctuantes, en los siguientes días de aplicación el crecimiento fue reduciendo progresivamente en todos los tratamientos.

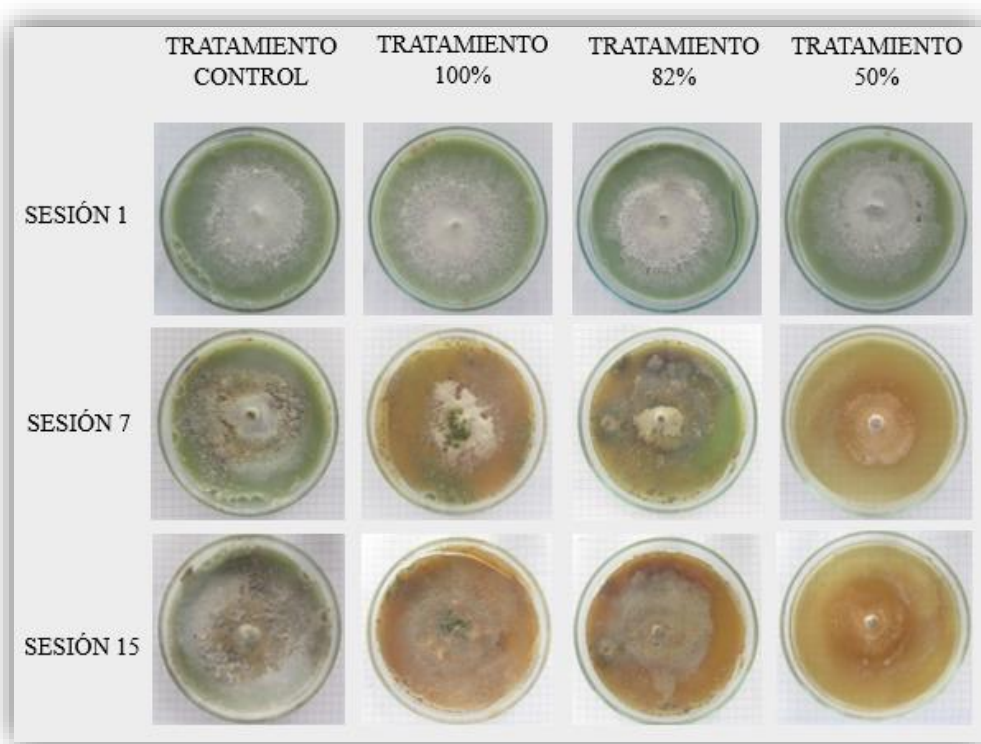
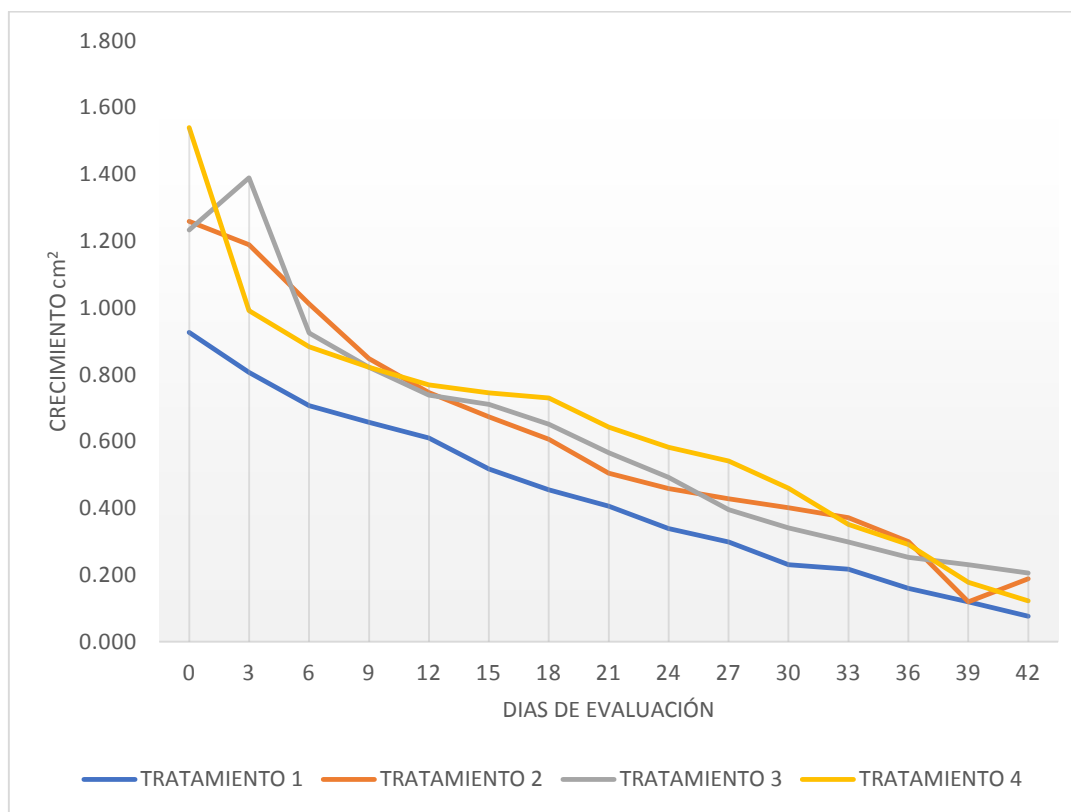


Ilustración 6. Muestras tratadas con antifungico comercial y los tratamientos con raquis de plátano

Gráfico 1. Comportamiento de *Fusarium sp.* ante la aplicación de los cuatro tratamientos



Las pruebas de comparación de medias de Tukey se realizaron con la finalidad de hallar una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre cada tratamiento durante los 45 días de aplicación, tales diferencias se observan en la tabla 4, donde a1 indica área de crecimiento micelial mínima y a4 el área micelial máxima.

Desde el primer día que se hizo el aislamiento de los hongos y la aplicación de los tratamientos se presentó diferencias en la proliferación del hongo en la caja Petri como se observa en la ilustración 13.

En el día 3 (sesión 2) como segunda aplicación de los tratamientos después de la medición no se notó una diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) ver anexo test de tukey, entre los tratamientos tal como se puede evidenciar en la tabla 4, donde en el tratamiento 3 aumentó la proliferación del hongo lo que indica que no fue eficiente el tratamiento en su primera aplicación, por el contrario, el tratamiento 4 disminuyó de manera considerable el crecimiento micelial del hongo, como lo comprobó Osorio *et al* (2012), donde evaluaron la eficacia *in vitro* de lixiviado de plátano sobre *Fusarium sp.* dando como resultado que la concentración de lixiviado con el

50% + agua evaporada redujo significativamente el crecimiento micelial y la tasa de crecimiento del hongo, además la esporulación y la germinación fueron inhibidas por completo.

Seguidamente en el día 6, el tratamiento 2 tuvo una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) ver anexo test de tukey, ya que el tratamiento hizo efecto en la inhibición del crecimiento micelial del hongo junto con el tratamiento 3 donde descendió su propagación, aunque el tratamiento 2 seguía siendo el que contenía el mayor tamaño micelial a comparación de los otros tres tratamientos.

Para el día 9, el tratamiento 4 la reducción micelial fue mínima lo que produjo que el tratamiento 3 al tener un mejor comportamiento e inhibir el crecimiento micelial llegó al mismo tamaño que el tratamiento 4, así mismo, en el tratamiento 2 fue más notoria la reducción micelial como se puede evidenciar en la Tabla 4, lo que hace favorable la evolución y efectividad anti fúngica que demostraba este tratamiento siendo mayor porcentaje de composición orgánico, así mismo, se complementa la afirmación de Salmerón (2018) donde estableció que los abonos orgánicos líquidos pueden contener enormes cantidades de microorganismos benéficos que permiten regular el metabolismo vegetal y pueden llegar a ser un buen complemento de la fertilización, en dicha sesión no hubo una diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) ver anexo test de tukey,

En el día 12, los tratamientos 2 y 3 seguían demostrando su efectividad al inhibir el crecimiento micelial del hongo como se puede observar en la tabla de Tukey, donde se hace la comparación ante el tratamiento 1 (producto comercial) ya que sus comportamientos estaban siendo semejantes y donde se pudo evidenciar la diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento 2.

Así mismo para el día 15 se observó una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) ver anexo test de tukey, entre el tratamiento 1 y 2, ya que el tratamiento 2 continuó inhibiendo el crecimiento micelial de manera considerable e importante al estar compuesto de lixiviado al 100%, como en la investigación de Mogollón y Castaño (2010) el cual en sus resultados demostraron que a medida que se aumentó la concentración de los lixiviados, se redujeron los valores promedio del número y tamaño de colonias y esporulación con respecto al testigo, mientras que la germinación de las conidias de *P. fijiensis*, fue inhibida de manera absoluta.

De manera similar en el día 18, 21 y 24, el comportamiento de los cuatro tratamientos fue efectivo al disminuir la proliferación del hongo de manera constante, estos resultados concuerdan con los de Álvarez *et al* (2010), donde evaluaron el hongo *Mycosphaerella fijiensis* ante la exposición de tratamientos *in vitro* con concentraciones de lixiviado de raquis de plátano hasta del 75%, realizando evaluaciones a los 15 y 30 días de siembra, demostrando que las colonias no incrementaron de modo valioso el diámetro de crecimiento, por consiguiente, el hongo fue inhibido significativamente, además se evidenció diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) para el día 18 en el tratamiento 2, así mismo en el día 24 donde hubo diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento 4.

En el día 27, se no observó diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) ver anexo test de tukey, en los tratamiento, donde el tratamiento 3 (82% lixiviado de raquis de plátano) disminuyó más el tamaño del micelio notoriamente en comparación al tamaño del micelio del tratamiento 2, es indicativo que a mayor cantidad del lixiviado orgánico va ser mayor la reducción del crecimiento micelial del hongo, lo cual coincide con lo demostrado por Dita *et al*, (2010) donde el tratamiento con lixiviado de raquis de plátano al 10%, 25% y al 50% permitió incrementar el crecimiento del



diámetro de colonias, las colonias al 75% no incrementaron significativamente ( $p < 0.05$ ) su diámetro lo cual significa que el hongo fue inhibido apreciablemente.

Para el día 30, los tratamientos 3 y 4 tuvieron una disminución considerable, lo cual el tratamiento 4 redujo el crecimiento micelial demostrando su eficacia lentamente, aunque en comparación con el tratamiento 3 permanecía con un área micelial mayor y se encontró diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento 2.

En el día 33, se encontró una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos 1 y 2, donde disminuyeron significativamente, en consecuencia, el tratamiento 4 obtuvo un área micelial más pequeña que el tratamiento 2, por ello cambia de posición radicalmente en la tabla de Tukey (Tabla 4) lo que indica que el tratamiento compuesto por lixiviado de raquis de plátano acompañado con otro componente como lo es en este caso el ácido hipocloroso puede ser alternativo para evitar la proliferación del hongo, como lo demostraron Bautista *et al*, (2014) donde estudiaron el comportamiento de un cultivo de plátano con presencia de fitonematodos ante la exposición de las aplicaciones de lixiviado de raquis de plátano y lombricompost, demostrando ser una herramienta efectiva para el manejo de la plaga.

Para el día 36, el tratamiento 2 y 3 continuaron con la reducción del micelio, haciendo comparación entre ellos, el tratamiento 2 tuvo una reducción mayor, aunque conservaba un área micelial mayor al tratamiento 3, en dicho día se encontró una diferencia estadística significativa en el tratamiento 1 ( $p < 0.05$ ).

En el día 39, se puede observar en la tabla de Tukey el comportamiento a lo largo de los días presentó ciertas fechas clave como este día (sesión 14) donde en primera instancia se evidenció diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos 1, 2 y 4, además todos los tratamientos a base de lixiviado de raquis de plátano y ácido hipocloroso están muy cerca al tratamiento 1 (control) lo que asegura o significa que ese medio es alternativo y efectivo para ser utilizado para el control de los patógenos tal como lo describió Hernández *et al*, (2014) en la investigación realizada del hongo causante de la sigatoka negra *M. fijiensis* Morelet en condiciones *in vitro* con la utilización de lixiviado a base de raquis de plátano, notaron un impedimento más prominente de la germinación y el desarrollo del crecimiento, lo que podría convertirse en una opción económica y natural para el control de esta enfermedad, en el caso de que se supervisara de forma coordinada en los cultivos de musaceas.


Así como en el día 42 las diferencias estadísticas fueron para los mismos tratamientos del día 39, así mismo, se puede observar en la tabla de Tukey el tratamiento control fue de menos crecimiento a lo largo de la medición; sin embargo, cabe resaltar la acción de tratamiento 2 al inhibir el crecimiento micelial del hongo *Fusarium sp.*, siendo su componente el lixiviado de raquis de plátano al 100%.

En general, de acuerdo al análisis de varianza en Tukey al 5% realizado a los tratamientos (Tabla 1), indican que el tratamiento 1 (producto comercial) si tuvo diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), donde se identificó su eficacia anti fúngica al combatir el hongo *Fusarium sp.*, (mal de panamá) con una reducción del 92.4%, así mismo, el tratamiento 2 compuesto por lixiviado de raquis de plátano al 100% si tuvo diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) con un porcentaje de inhibición del 85% el cual lo hace beneficioso al ser totalmente orgánico, el tratamiento 3 compuesto por lixiviado de raquis de plátano al 82% + ácido hipocloroso si tuvo diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) ver anexo test de tukey, ya que fue la

concentración con menor reducción del hongo del 83.7%, en el tratamiento 4 (lixiviado de raquis de plátano al 50%+ ácido hipocloroso) tuvo mayor diferencia estadística significativa en comparación a los otros tres tratamientos, puesto que, dicho tratamiento demostró más inhibición del crecimiento micelial del hongo *Fusarium sp.*, del 92.2%.

## PROTOTIPO

La composición para el prototipo fue del 100% de lixiviado de raquis de plátano, ya que dicho tratamiento orgánico demostró semejanza al comparar su efectividad con el producto comercial, obteniéndose una efectividad del 92.2% y 92.4% respectivamente, al inhibir el desarrollo de *Fusarium sp.*

<b>FICHA TECNICA</b>			
<b>NOMBRE</b>	FUNGICIDA ORGÁNICO	<b>IMAGEN DEL PRODUCTO</b>	
<b>USOS</b>	Uso agrícola con propiedades anti fúngica en musáceas		
<b>PRESENTACIÓN</b>	Líquido		
<b>COMPOSICIÓN</b>	Lixiviado de raquis de plátano		
<b>PROPIEDADES FISICAS</b>	<b>MATERIAL</b>	<b>pH</b>	<b>COLOR</b>
	Orgánico	7.2	Pardo

<b>ALMACENAMIENTO</b>	Temperatura ambiente (17°C±26°C)	
<b>CUALIDADES DEL PRODUCTO</b>	Los principales beneficios que se demuestra al usuario es el bajo costo, ya que su composición es orgánica, por otro lado, este prototipo aparte de tener componentes fungicidas posee propiedades que actúan como fertilizante en las plantas de plátano y banano.	
<b>POBLACIÓN OBJETIVO</b>	Agricultores en general	

*Tabla 4. Ficha técnica prototipo*

## CONCLUSIONES

Se demuestra la efectividad de los tratamientos en relación con las concentraciones de lixiviado de raquis de plátano más HClO para el control fúngico en los cultivos de plátano y banano *in vitro* obteniéndose un porcentaje de inhibición mínimo del 83.7% (lixiviado de raquis de plátano al 82% + HClO) y máximo del 92.2% (lixiviado de raquis de plátano al 50% + HClO), en comparación al tratamiento compuesto de producto comercial, el cual tuvo una reducción del hongo del 92.4%.

El efecto antimicrobiano de cada uno de los tratamientos se determinó mediante un riguroso seguimiento por medio del software Image J, en el cual indicó la inhibición en gran medida del crecimiento del hongo *Fusarium sp.*

El prototipo fue elaborado con la concentración del 100% de lixiviado de raquis de plátano, ya que demuestra una efectividad del 85% al inhibir el desarrollo de *Fusarium sp.*, al ser un tratamiento totalmente orgánico cumple las expectativas propuestas durante el desarrollo del proyecto haciendo de este un producto viable económicamente y amigable con el ambiente.

## Bibliografía

- Agudelo Valencia , J., & Flores Mogollon, V. C. (2019). *El moko (ralstonia solanacearum) en plátano y banano: incidencia y medidas alternativas de control en el contexto colombiano*. Risaralda: UNAD.
- Álvarez , E., Pantoja, A., Gañan, L., & Ceballos, G. (2013). *Estado del arte y opciones de manejo del Moko y Sigatoka negra en America latina y el caribe* . CIAT/ FAO.
- Álvarez, E., Ceballos, G., Gañán, L., Rodríguez, D., González, S., & Pantoja, A. (2013a). Producción de material de 'siembra' limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano. *CIAT*, 2.
- Álvarez, E., Cortés, J., & Ceballos, G. (2010). Alternativas para el manejo de la sigatoka negra en plátano Dominico Hartón (AAB), mediante el uso de lixiviado y productos biológicos. *En: Boletín Musalac, No. 1 (2)*, 3-5.
- Álvarez, E., Pantoja, A., Ceballos, G., & Gañán, L. (2013b). *Producción de lixiviado de raquis de plátano en el eje cafetero de Colombia*. CIAT/FAO.
- Arenas, A., Lopez, D., Álvarez, E., Llano, G., & Loke, J. (2004). Efecto de prácticas ecológicas sobre la población de *ralstonia solanacearum smith*, causante de moko en plátano. *Fitopatología Colombiana*.
- Arzanlou, M., Groenewald, J., Fullerton, R., Abeln, E., Carlier, J., Zapater, M.-F., . . . Crous, P. (2008). *Multiple gene genealogies and phenotypic characters differentiate several novel species of Mycosphaerella and related anamorphs on banana*.
- DOI: <https://doi.org/10.3767/003158508X302212>
- Barrera Violeth, J. L., Cardona Ayala, C. E., & Cayón Salinas, D. G. (2011). *El cultivo de plátano (Musa AAB Simmonds): ecofisiología y manejo cultural sostenible*. Cordoba-Colombia : Universidad de Córdoba.
- Benavides , I. (2019). *Cuantificación temprana de pseudocercospora fijiensis por medio de la qpcr en modelos predictivos de sigatoka negra en plantas de banano (musa aaa)*. costa rica: instituto tecnologico de costa rica.
- Bautista, L. G., Bolaños B, M. M., Asakawa, N. M., & Villegas, B. (2014). *respuesta de fitonematodos de plátano musa aab simmonds a estrategias de manejo integrado del suelo y nutrición*. colombia. doi.org/10.17151/luaz.2015.40.6

- Camayo, J. A. (2015). *estado actual del mejoramiento genético del plátano y del banano*. Popayán.
- Carr, C., Sánchez, M., Alfaro, F., Villalta, R., Sandoval, J., & Guzmán, M. (2017). *Marchitez por fusarium o mal de panamá del banano y otras musáceas*. Dirección de investigaciones sección de fitopatología .
- Chávez-Estudillo, V., Valencia-Ordoñez, A., Córdova-Nieto, C., Flores-Estevéz, N., Jarillo-Rodríguez, J., & Noa-Carrazana, J. (2017). *Lixiviados de Raquis de Plátano: Obtención y Usos Potenciales*. México: Cuadernos de Biodiversidad.
- DANE. (2016). Enfermedades y plagas del plátano (*Musa paradisiaca*) y el banano (*Musa acuminata*; *M. sapientum*) en Colombia. *Boletín mensual insumos y factores asociados a la producción agropecuaria*, 1-2.
- Dita, M., Garming, H., & Brown, D. (2010). Ensayo in vitro con lixiviado de raquis de platano (LRP). *Boletín Informativo Oficial de la Red de Investigación y Desarrollo de Banano y Plátano para América Latina y el Caribe*.
- Furtado, D. (2011). *SISVAR: a computer statistical analysis system*. Brasil: Universidad Federal de Lavras/UFLA.
- Hernández González, Y., Paredes Niño, C., & Cárdenas, H. (2014). *Sensibilidad in vitro de Mycosphaerella fijensis Morelet a fermentos de raquis de plátano y fungicidas*. Maracay: Agronomía Trop. vol.64 no.1-2.
- Henao, S., Sierra, C., & Gaitán , J. A. (2003). *Actividad bactericida del ácido hipocloroso*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia.
- Heslop-Harrison, J., & Schwarzacher, T. (2007). *Domestication, Genomics and the Future for Banana*. Oxford Journals.
- DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm191>
- Instituto Nacional de Gestión Sanitaria. (2013). *Guía para el manejo del Autoclave en la central de esterilización del Hospital Universitario de Ceuta*. Madrid: INGESA: 1.945.
- Jacome, S. (2020). *Identificación del agente patógeno causal de daños ocasionados en la fase de postcosecha del cultivo de banano (Musa Paradisiaca L.) en la empresa Reibanpac*. Quebedo- Ecuador.
- Jiménez , E., & Rodriguez, O. (2014). *Insectos Plagas de Cultivos en Nicaragua*. Universidad Nacional Agraria.
- Lescot, T. 2008. *La diversité génétique des bananiers en chiffres. Les Dossiers de Fruitrop 155: 29 - 33*.

Manzo-Sánchez, G. (2013). *Enfermedades de importancia cuarentenaria de bananos y plátanos*. México: Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 31 (Suplemento).

Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., & Canto-Canche, B. (2014). *Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano (Musa sp.) en México*. México.

Marcillo, J. (2014). *Contribución económica de la biodiversidad intraespecífica: Caso Musas spp., en El Carmen y La Maná a nivel del pequeño productor*. Madrid, España: Editorial Académica Española.

Martínez, G., Rey-Brina, J., Pargas, R., & Manzanilla, E. (2019). Marchitez por fusarium raza tropical 4. estado actual y presencia en el continente americano

Martínez, G. E., & Rey Brina, J. (2021). *Bananos (Musa AAA): Importancia, producción y comercio en tiempos de Covid-19*. Venezuela : Agronomía Mesoamericana

DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v32i3.43610>

Mogollón, A., & Castaño Zapata, J. (2010). Evaluación in vitro de lixiviados del raquis de plátano sobre *Paracercospora fijiensis (Morelet) Deighton*. Caldas. Colombia: Agronomía (Manizales)

Moreno, L. M., Luna, L. B., & Escobar, L. N. (2021). *Aislamiento e Identificación del Agente Causal de la Pudrición Basal en Frutos de Pitahaya (selenicereus megalanthus) Cultivada en el Departamento del Huila*. Colombia: Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura.

DOI: <https://doi.org/10.23850/raa.v7i1.3727>

Ordoñez, G., Toaza, A., Yáñez, J., & Marcial-Coba, M. (2021). *Evaluación de la eficacia de cinco desinfectantes comerciales, aplicables en la cadena productiva de musáceas, contra cinco cepas de Fusarium spp.* Tumbaco, Ecuador.: Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. 42(1): 11-25.

DOI: 10.26807/remcb.v42i1.884.

Osorio Gutierrez, L. A., Castaño Zapata, J., & Gutiérrez Rios, L. B. (2012). Eficacia in-vitro de lixiviados de plátano sobre *Fusarium oxysporum schlecht*, causante de la pudrición de raíces de arveja (*Pisum sativum Linneo*). *Agronomía* 20(1), 17-25.

Palencia C., G. E., Gómez Santos, R., & Martín S., J. E. (2006). *Manejo sostenible del cultivo de plátano*. Bucaramanga: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA –

Pinto Ruiz, G., Tarragó, J., & Álvarez, R. (2017). *Principios activos de bajo período de carencia para el control de plagas y enfermedades en verduras de hoja*. Argentina: Agrotecnia.

DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/agr.0262719>

Ploetz, R. C. (2015). *Fusarium wilt of banana*.

DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-15-0101-RVW>

Restrepo, W. (2021). *Evaluación del efecto antifúngico del extracto de moringa (Moringa Oleifera Lam.) para el control de la sigatoka negra (Mycosphaerella Fijensis Morelet) en el cultivo de plátano, municipio de Turbo- Antioquia*. Turbo- Antioquia.

Salmerón B. M. (2018). Instalación de un sistema de riego por aspersión para 88 ha de banano (Musa paradisiaca) en finca Monte Blanco, San Alberto, Siquirres, Limón. Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.

Sánchez Valenciano, D. (2014). *Análisis del software ImageJ para el análisis científico de imágenes*. Madrid- España : Universidad Politécnica de Madrid.

Shindelin, J., Rueden, C., Hiner, M., & Eliceiri, K. (2015). *The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis*. Madison, Wisconsin: Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin at Madison.

Soto, L., & Gonzalez, L. (2016). *Efecto del ácido hipocloroso como presellador en un grupo de vacas lecheras en la finca el logroño en soacha, cundinamarca*. Bogotá D.C.: Universidad de la Salle .

Sotomayor, I., Bustamante, A., & Delgado, R. (2014). *Programa nacional de banano, platano y otras musáceas*. INIAP.

Vera A., D. (2017). *Biodiversidad intraespecífica varietal para mejorar ambientes degradados por monocultivos en Musáceas, como medida de control de plagas y enfermedades*. Bellaterra: Universidad Autonoma de Barcelona.



## ANEXOS

Test de Tukey para los días 0, 21 y 42

**DIA:0**

---

### TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

---

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMIENT	3	0.186900	0.062300	1.0E+0009	0.0000
erro	0	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	3	0.186900			
CV (%) =	0.00				
Média geral:	1.2250000	Número de observações:		4	

---

---

Teste Tukey para a FV TRATAMIENT

---

**DMS: 0 NMS: 0,05**

---

Média harmonica do número de repetições (r): 1  
Erro padrão: 0

---

---

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.930000	a1
2	1.200000	a2
3	1.230000	a3
4	1.540000	a4

---

**DIA: 21**

-----  
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

-----

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMIENT	3	0.030700	0.010233	1.0E+0009	0.0000
erro	0	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	3	0.030700			
CV (%) =	0.00				
Média geral:	0.5250000	Número de observações:		4	

-----

-----  
Teste Tukey para a FV TRATAMIENT

DMS: 0 NMS: 0,05

-----

Média harmonica do número de repetições (r): 1  
Erro padrão: 0

-----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.400000	a1
2	0.500000	a2
3	0.560000	a3
4	0.640000	a4

-----

**DIA: 42**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMIEN	3	0.010475	0.003492	1.0E+0009	0.0000
erro	0	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	3	0.010475			
CV (%) =	0.00				
Média geral:	0.1425000	Número de observações:		4	

Teste Tukey para a FV TRATAMIEN

DMS: 0 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 1  
Erro padrão: 0

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.070000	a1
4	0.120000	a2
2	0.180000	a3
3	0.200000	a4