

INTERSEDES

Revista Electrónica de las Sedes Regionales de la Universidad de Costa Rica



Vista aérea de manglar de Sierpe. Boca Zarate.

“Efecto del Bio-carbón sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* y el desarrollo de plantas de banano (*Musa AAA*)”

Ricardo A. Pérez Salas - Ana Cecilia Tapia Fernández -- Gabriela Soto - Tamara Benjamin

www.intersedes.ucr.ac.cr

ISSN 2215-2458

Vol. XIV, N°27 (2013)

Consejo Editorial Revista InterSedes

Director de la Revista:
Dr. Edgar Solano Muñoz. Sede de Guanacaste

Consejo Editorial:

M.Sc. Jorge Bartels Villanueva. Sede del Pacífico. Economía
M.Sc. Oriester Abarca. Sede del Pacífico. Derecho. Filosofía
Dra. Ethel García. Sede de Occidente. Historia.
Dra. Magdalena Vásquez. Sede Occidente. Literatura
M.L. Guillermo González. Sede Atlántico. Filología
M.Ph. Jimmy Washburn. Sede Atlántico. Filosofía. Bioética
M.L. Mainor González Calvo. Sede Guanacaste. Filología
Ing. Ivonne Lepe Jorquera. Sede Limón. Administración. Turismo
Dra. Ligia Carvajal. Sede Limón. Historia

Editor Técnico: Bach. David Alonso Chavarría Gutiérrez. Sede Guanacaste.
Editora: Sigrid Orellana Villafuerte. Sede Guanacaste

Fotografía de caratula: Manglar Boca de Sierpe. Cortesía Omar Lizano.

Consejo Científico Internacional

Dr. Raúl Fornet-Betancourt. Universidad de Bremen, Alemania.
Dra. Pilar J. García Saura. Universidad de Murcia.
Dr. Werner Mackenbach. Universidad de Potsdam, Alemania. Universidad de Costa Rica.
Dra. Gabriela Marín Raventós. Universidad de Costa Rica.
Dr. Mario A. Nájera. Universidad de Guadalajara, México.
Dr. Xulio Pardelles De Blas. Universidad de Vigo, España.
M.Sc. Juan Manuel Villasuso. Universidad de Costa Rica.

Indexación: Latindex / Redalyc/ SciELO

Licencia de Creative Commons

Revista Electrónica de las Sedes Regionales de la Universidad de Costa Rica, todos los derechos reservados.

Intersedes por intersedes.ucr.ac.cr está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Costa Rica License.



“Efecto del Bio-carbón sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y el desarrollo de plantas de banano (Musa AAA)”

The BioCarbon effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and the banana plant development (Musa AAA)

Ricardo A. Pérez Salas ¹

Ana Cecilia Tapia Fernández ²

Gabriela Soto ³

Tamara Benjamin ⁴

Recibido: 04.06.12

Aprobado: 27.07.12

Brief

The effect of the incorporation of BioCarbon to the soil over the incidence of the pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and the development of the rooting system in banana plants was assessed. The research took place in the university glasshouse (Universidad de Costa Rica, Atlantic Branch) and the plants used were Gros Michel Musa (AAA) 5 months old and a BioCarbon made of wood-base *Gmelina arborea*. To assess the pathogen incidence certain variables were taken into account like the disease hatchery period and the presence of external symptoms of it. Aside that, the severity was evaluated using a damage degree based on external and internal symptoms, which were visually estimated. The plants development was determined considering: plant height and the girth of the pseudo stem; the fresh and dry weight of roots, the aerial part, and the roots length were analyzed. The result analysis established that the presence of BioCarbon in the soil created no effect in the pathogen development due to the presence of symptoms of the disease during the same period of time not only in the treatments soil plot + inoculum and the soil treatments + inoculum + BioCarbon. Then, regarding the banana plants development, these responded positively to the presence of the BioCarbon. The plants with BioCarbon treatment showed bigger heights and a tendency for a pseudo stem with a bigger diameter, and also these ones had more aerial dry weight as well as in the root.

Key Words: biocarbon-banana plant- roots length

¹ Costarricense. Estudiante de Licenciatura de Agronomía. Sede del Atlántico. Universidad de Costa Rica. alexis2crp@hotmail.com

² Costarricense. Docente. Sede del Atlántico. Universidad de Costa Rica. ana.tapia@ucr.ac.cr.

³ Costarricense. Investigadora-Docente. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. gabisoto@catie.ac.cr.

⁴ Estadounidense. Investigadora-Docente. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. tamara@catie.ac.cr

Resumen

Se evaluó el efecto de la incorporación del Bio-carbón al suelo sobre la incidencia del patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y el desarrollo del sistema radical en plantas de banano. La investigación se realizó en los invernaderos de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico y se utilizaron plantas de la variedad Gros Michel Musa (AAA) de 5 meses de edad y un tipo de Bio-carbón elaborado a base de madera de *Gmelina arborea*. Para la evaluación de la incidencia del patógeno se tomaron en cuenta variables como el periodo de incubación de la enfermedad, la presencia de síntomas externos de la enfermedad. Además se tomó en cuenta la severidad, evaluándola por el grado de daño expresado tanto en síntomas externos como internos, los cuales se estimaron visualmente. El desarrollo de las plantas se determinó tomando en cuenta variables como: altura de planta y circunferencia del pseudotallo, se determinó el peso fresco y seco de raíces y parte aérea de las plantas y se analizó la longitud de raíces. El análisis de los resultados estableció que la presencia del Bio-carbón en el suelo, no presentó un efecto en el desarrollo del patógeno en el suelo, esto debido a la presencia de los síntomas de la enfermedad en un mismo periodo de tiempo tanto en los tratamientos testigo suelo + inóculo y los tratamientos suelo + inóculo + Bio-carbón. En cuanto al desarrollo de las plantas de banano, estas presentaron una respuesta positiva a la presencia del Bio-carbón. Las plantas de los tratamientos con Bio-carbón presentaron alturas mayores y una tendencia a un mayor diámetro de pseudotallo, también se logró obtener plantas con mayor peso seco aéreo y de raíz.

Introducción

El banano (*Musa* sp) está considerado como uno de los principales cultivos a nivel mundial, principalmente en los países que se encuentran situados en zonas tropicales y subtropicales (Jones 2000). Durante los años 2000 y 2001 la siembra de este cultivo abarcó 9 millones de hectáreas con una producción anual de 92 a 99 millones de toneladas en el mundo. Para el año 2008 el área sembrada con banano llegó a los 10 millones de hectáreas con una producción de 104 millones toneladas de fruta, equivalentes a 4.500 y 5.000 millones de dólares americanos en el comercio internacional (FAO 2004, FAO 2009).

En este cultivo, las plagas y enfermedades son consideradas como limitantes de gran importancia para la producción (Moore *et al.* 1995, Zambrano *et al.* 2007, Lara 2009) a nivel convencional y de forma orgánica. Entre las enfermedades que afectan a este cultivo, la conocida como El Mal de Panamá o marchitez causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* es considerada como una de las más destructivas para la producción comercial y ha generado grandes pérdidas económicas en la mayoría de los países donde se cultivan musáceas (Pardo 1989, Pérez 2004).

El patógeno procede del sureste de Asia, y ha coevolucionado junto a las musáceas en su centro de origen (Bentley *et al.* 1998). Alrededor del año 1912, la enfermedad se extendió por el Caribe y Suramérica, con la excepción de la costa este de Colombia. Durante los primeros años del siglo XX, más de 40 468 hectáreas de banano fueron destruidas por este patógeno (Pardo 1989). En

el año 1913, la enfermedad fue informada por Ashby en América Central. Según Ploetz y Pegg (2000), la distribución global de la enfermedad se debe a un componente antropocéntrico, debido a que el patógeno fue introducido por medio de rizomas infectados, que con frecuencia no presentan síntomas y eran utilizados como material de siembra en nuevos terrenos libres de la enfermedad.

En Costa Rica, el patógeno provocó que la United Fruit Company se trasladara a la vertiente del Pacífico en 1920, además, que casi todos los países tuvieron que cambiar el cultivar Gros Michel por los bananos del subgrupo Cavendish (Pardo 1989, Moore *et al.* 1995).

Actualmente *Fusarium oxysporum* se ha convertido en un patógeno problemático, especialmente para pequeños productores que se dedican a la siembra de variedades susceptibles como Gros Michel en asocio con otros cultivos como el café y el cacao, así como en pequeñas fincas que se dedican a la producción de banano orgánico para mercados locales, donde son muy apetecidos por su sabor y aroma (Silagyi 2002, Pocasangre 2009).

No se han identificado productos químicos eficientes para el manejo de esta enfermedad a nivel de campo, por esta razón el control biológico y la incorporación al suelo de productos de origen orgánico, que además contribuyan con la nutrición de las plantas, se han convertido en una alternativa al manejo de esta enfermedad. Una de estas opciones de productos alternativos es el Biochar o Bio-carbón, el cual es elaborado a base de residuos generados de la producción agrícola y de biomasa (López 2008, NovaK 2009, Wolf 2010).

El creciente interés por estudiar los efectos del uso del Bio-carbón en la agricultura, sumado a la búsqueda de alternativas para el control de patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, han motivado toda una iniciativa mundial de investigación por lo que se planteo la presente investigación con el objetivo de determinar el efecto de la incorporación del Bio-carbón al suelo sobre la incidencia del patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y el desarrollo del sistema radical en plantas de banano.

Materiales y métodos

Ubicación de experimento, material vegetal y Carbón vegetal (Bio-carbón) utilizados en la investigación.

El ensayo se realizó en los invernaderos de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico ubicado a 620 msnm en la ciudad de Turrialba, Costa Rica. En la presente investigación se utilizaron plantas de la variedad Gros Michel Musa (AAA) de 5 meses de edad, reproducidas por la técnica de cultivo de tejidos en los Laboratorios de biotecnología de plantas del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).

También se utilizó un tipo de Bio-carbón (Bio-carbón CATIE) el cual es elaborado por Poderco Renewable Energy Costa Rica, a base de madera de melina (*Gmelina arborea*) en la Península de Osa, Costa Rica.

El Bio-carbón utilizado se caracterizó con la finalidad de determinar las características químicas y físicas que poseía. También se incluyó una prueba para determinar la presencia de alguna sustancia nociva que pudiera ocasionar algún efecto negativo sobre los organismos que habitan el suelo. Para su caracterización se realizaron las siguientes tres pruebas:

Pruebas de supervivencia con lombrices

Para esta prueba se procedió a colocar 50 lombrices (*Eisenia foetida*) en una mezcla de 30 gr de Bio-carbón + 3 kg de suelo y en 3 kg de suelo (testigo), y se evaluó 24 horas después de iniciada siguiendo la metodología propuesta por Werner y Cuevas (1996).

Análisis químico

Una muestra compuesta del Bio-carbón se analizó en el Laboratorio del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica con la finalidad de determinar el contenido de nutrientes presentes, esto por medio de un análisis químico completo por medio de la técnica de espectroscopia de emisión atómica con plasma (ICP-OES) (Horwitz 2000).

Al Bio-carbón también se le midió su conductividad eléctrica, para determinar el contenido de sales. Esta medición se realizó de manera indirecta por medio de un extracto de la muestra y la utilización de un puente de conductividad (Bertsch *et al.* 1995).

Composición porcentual según su granulometría

Para determinar la granulometría del material se procedió a pasar una muestra del 300 gr del Bio-carbón por un juego de tamices sobrepuesto de arriba hacia abajo de No 4, 6, 10, 20 y 40 mesh, posteriormente se procedió a calcular el porcentaje del material (peso en seco) que quedó retenido en cada uno de los tamices.

Preparación de la mezcla suelo-Bio-carbón

En la presente investigación se utilizó una mezcla de suelo y Bio-carbón. Para ello se usó suelo no infestado con *Fusarium oxysporum* proveniente de una plantación de banano de la zona de Turrialba. La mezcla suelo/Bio-carbón se hizo de forma manual dos semanas antes de efectuar la siembra de las plantas, procurando que la misma quedara lo más homogénea posible. La investigación se realizó en dos condiciones de suelo: suelo solarizado y suelo sin solarizar. Para la

solarización, el suelo utilizado permaneció por tres semanas dentro de un invernadero y cubierto con plástico negro para asegurarse que la temperatura se elevara y se mantuviera constante durante todo el periodo de acuerdo a lo descrito por Navarro *et al.* (1991).

Cálculo de las dosis de Bio-carbón

En este ensayo se utilizó una dosis de 20 toneladas/ha de Bio-carbón elaborado a base de madera de Melina (*Gmelina arborea*). Esta dosis fue seleccionada con base en los resultados publicados por Major *et al.* (2010), en la cual se recomienda la dosis de 20 ton/ha como la que presentó los mejores resultados en producción a largo plazo.

Para determinar la cantidad de Bio-carbón a mezclar con 3 kg de suelo se procedió de la siguiente manera:

1. Se calculó el peso del suelo de una hectárea a una profundidad de 0,20 m y una densidad aparente de 1,0 g/cm³ (1000 kg/m³).
2. Se calculó de la cantidad de Bio-carbón a utilizar por medio de la siguiente fórmula:

Gramos de Bio-carbón = [(20 000 kg de Bio-carbón / 2 000 000 kg suelo) * 3 kg suelo] * 1 000=
30 gr Bio-carbón

De esta forma se estimó la incorporación de 30 gr de Bio-carbón por cada 3 Kg de suelo utilizado.

Activación del Bio-carbón

Otro de los parámetros que se han considerado en el uso del Bio-carbón es su uso después de un proceso de activación. En este caso se utilizaron dos tipos de Bio-carbón, uno activado y otro sin activar (sin ningún tratamiento previo).

La activación del Bio-carbón se realizó previa a la mezcla con el suelo, utilizando 1 L de Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂), a una concentración del 5%, y se dejó reposar al sol por un periodo de 2 días con el propósito de que se eliminara el exceso de líquido y se incorporase el producto con el Bio-carbón.

Inoculación de Fusarium oxysporum f. sp. cubense.

1-Preparación del inóculo de Fusarium oxysporum f. sp. cubense (Foc)

El inóculo de Foc utilizado provino de cultivos monospóricos extraídos de tejido vegetal infectado del tallo de plantas de Gros Michel ubicados en el cantón de Turrialba. El aislamiento seleccionado para este ensayo fue utilizado previamente en plantas del cultivar Gros Michel, las cuales presentaron los síntomas típicos de la enfermedad, comprobando la patogenicidad de la cepa (Pérez y Tapia 2011).

La propagación de los cultivos monospóricos se realizó en platos petri con el medio de cultivo PDA (papa-dextosa-agar) más el antibiótico chloramphenicol, colocando micelio de los aislamientos seleccionados. Cada plato petri se incubó durante una semana hasta que el crecimiento del micelio cubriera la totalidad del área del plato.

Finalizado dicho periodo se procedió a tomar círculos de micelio de 0.5 cm de diámetro los cuales se colocaron en un erlenmeyer que contenían 26 gr de arroz (previamente esterilizado en dos ocasiones) con el propósito de que el hongo creciera sobre el arroz. Cada erlenmeyer fue colocado en una incubadora a una temperatura de 28° C por espacio de 15 días hasta que las esporas del patógeno cubrieron por completo el arroz.

2-Inoculación de las plantas con Foc

Las plantas de banano con 5 meses de edad fueron inoculadas con las esporas de *Foc* de los granos de arroz. Para la inoculación se procedió a tomar 1gr del arroz colonizado por el patógeno para ser distribuido en forma homogénea en cuatro hoyos de 1 cm de profundidad realizados alrededor de la planta. Finalizada la inoculación se procedió a humedecer el suelo para procurar la dispersión de las esporas dentro de cada pote.

Determinación del peso fresco y seco de raíces y parte aérea de las plantas

Esta evaluación se realizó 101 días después de haber realizado la siembra de las plantas en la mezcla suelo/Bio-carbón. Para esto se procedió a tomar tres plantas por tratamiento, las que fueron extraídas de las macetas que las contenían para proceder a lavar sus raíces con agua para eliminar todo el suelo adherido a ellas, posteriormente se procedió a separar las raíces del cormo utilizando un bisturí, para así poder pesar de forma separada, la parte aérea y las raíces de cada planta, utilizando para esto una balanza electrónica. Luego las plantas se colocaron en estufas por un periodo de 5 días a una temperatura constante de 70°C.

Análisis de la longitud de raíces

Este análisis se realizó 77 días después de haber realizado la siembra de las plantas en la mezcla suelo/Bio-carbón, tomando al azar las raíces de 3 plantas por tratamiento. Las raíces de estas plantas fueron lavadas con agua potable para eliminar la totalidad del suelo. El cálculo de la longitud de raíces fue realizado con el programa WinRhizo Pro versión 2004, fabricado por Regent Instruments.

Recuento e identificación de hongos, bacterias y actinomicetes

De cada uno de los tratamientos se procedió a tomar muestras de suelo de tres repeticiones para ser procesadas de acuerdo con la metodología de recuento directo propuesta por Weaver *et al.* (1994) con el fin de contabilizar las unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos, bacterias y actinomicetes. Este recuento se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico. Para el crecimiento de hongos se utilizó el medio papa agar dextrosa (PDA), al cual se le adicionó antibiótico (cloranfenicol), y para el crecimiento de las bacterias se utilizó agar nutritivo.

Las UFC están expresadas en número de UFC g-1 de suelo seco, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = (\text{UFC} \times \text{C})/\text{PS}$$

Donde: UFC = UFC contadas en la placa petri; C = concentración de la dilución; y PS = peso seco de la muestra de suelo.

El peso seco se determinó pesando 100g de suelo húmedo, en bolsas de papel, las cuales posteriormente fueron colocadas en una estufa a 80°C durante 48 horas, seguidamente se pesaron para determinar tanto el peso seco, como el contenido de humedad.

Evaluación de la incidencia y severidad de la enfermedad

El periodo de incubación de la enfermedad se determinó al contabilizar el número de días que transcurrieron desde que las plantas fueron inoculadas con el patógeno hasta la aparición de los primeros síntomas externos característicos de la enfermedad. Para el cálculo de la incidencia se procedió a contabilizar las plantas que presentaban los síntomas de la enfermedad. Los resultados se expresan en términos de porcentaje de plantas enfermas. Estas evaluaciones fueron realizadas semanalmente hasta el término del ensayo.

La severidad se evaluó por el grado de daño expresado tanto en síntomas externos como internos, los cuales se estimaron visualmente con la escala propuesta por Orjeda (1998.) Los síntomas externos se evaluaron cada semana; mientras que los internos se evaluaron al finalizar el ensayo, para lo cual se les realizaron cortes longitudinales a nivel del cormo a las plantas. Adicionalmente durante las evaluaciones semanales se registraron variables de crecimiento de las plantas: altura de planta y circunferencia del pseudotallo.

Tratamientos

Para la presente investigación se utilizaron: dos tipos de Bio-carbón (activado con peróxido de hidrógeno y sin activar), un aislamiento de *Fusarium oxysporum* y dos condiciones suelo (solarizado y sin solarizar).

Los tratamientos fueron los siguientes:

Cuadro 1. Tratamientos del Bio-carbón y el suelo utilizados en la investigación. 2011

Tratamiento	Código	Descripción del tratamiento
1	SNA20i	20 ton de Bio-carbón no activado + suelo solarizado + inóculo
2	NSNA20i	20 ton de Bio-carbón no activado + suelo sin solarizar + inóculo
3	SA20i	20 ton de Bio-carbón activado+ suelo solarizado + inóculo
4	NSA20i	20 ton de Bio-carbón activado+ suelo sin solarizar + inóculo
5	SA20	20 ton de Bio-carbón activado + suelo solarizado
6	NSA20	20 ton de Bio-carbón activado + suelo sin solarizar
7	SNA20	20 ton de Bio-carbón no activado + suelo solarizado
8	NSNA20	20 ton de Bio-carbón no activado + suelo sin solarizar
T1	SOL	Suelo solarizado
T2	NSOLi	Suelo sin solarizar + inóculo

Cada uno de los tratamientos contó con 6 repeticiones para un total de 60 plantas evaluadas.

Diseño estadístico

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar conformado por 6 repeticiones por cada uno de los tratamientos. Para el análisis estadístico de las variables, altura de plantas, circunferencia del pseudotallo, se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{k(i)} + M_k + TM_{jk} + \varepsilon_{k(ij)}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta

μ = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

$\varepsilon_{k(i)}$ = Error debido al tratamiento

M_k = Efecto de la k -ésima medición

TM_{jk} = Efecto de la interacción tratamiento - media

$\varepsilon_{k(ij)}$ = Error debido a la medición

Para el análisis de las variables, peso seco aéreo, longitud de raíz peso seco raíz y unidades formadoras de colonias se utilizó el siguiente modelo estadístico.

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

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

ε_{ij} = Error debido al tratamiento

Las evaluaciones de las variables altura de planta y circunferencia se realizaron una vez por semana durante 8 semanas seguidas a diferencia de las evaluaciones de las variables peso seco aéreo y de raíz, longitud de raíz y unidades formadoras de colonias, las cuales se realizaron en una sola ocasión durante el desarrollo de la presente investigación. Por este motivo es que se utilizan 2 modelos estadísticos diferentes para el análisis de los datos recolectados.

Resultados

*Caracterización del Bio-carbón**1-Análisis químico y porcentaje de sobrevivencia de lombrices*

La activación del Bio-carbón con peróxido de hidrogeno no provocó cambios en las características químicas del Bio-carbón, ni en los niveles de pH y de conductividad eléctrica (Cuadro 2). Es importante mencionar, que no se encontró en la literatura información sobre Bio-carbón elaborado a base de madera de *Gmelina arborea*, por lo que no se cuenta con un punto de referencia con el cual comparar los resultados obtenidos en el análisis químico.

Cuadro 2. Nutrientes presentes en el Bio-carbón de *Gmelina arborea* (activado y no activado)

Trat	%							mg/Kg				H ₂ O	mS/cm	
	N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	C	Z	M	B			
1	0,4	0,0	1,0	0,1	0,7	0,0	133	6	47	30	1	6	9,4	0,7
	5	4	8	5	5	2	0				4			
2	0,4	0,0	1,0	0,1	0,7	0,0	119	6	48	27	1	6	9,0	0,7
	5	7	7	4	2	2	4				4			

1- Bio-carbón no activado, 2- Bio-carbón activado

Para el caso de la conductividad eléctrica presentada por el Bio-carbón, si se compara su valor con los utilizados para interpretar los valores de conductividad eléctrica presente en suelos, ésta estaría dentro del rango de no salino (Bertsch *et al.* 1995), lo cual indica que no representa un riesgo para el desarrollo de las raíces y podría ser recomendado para la elaboración de almácigos.

La evaluación de la sobrevivencia de lombrices como un parámetro de toxicidad de la mezcla formulada, demostró que el Bio-carbón (activado y sin activar) no presenta efectos negativos en estos organismos, por lo que la sobrevivencia fue del 100% al finalizar el periodo de evaluación. Este resultado muestra la inocuidad de la mezcla suelo/Bio-carbón utilizados.

2-Composición porcentual del Bio-carbón según su granulometría

El Bio-carbón utilizado granulométricamente se encuentra conformado en un mayor grado por partículas de tamaño muy fino menores a 0,42 mm (figura 1). Este tamaño de las partículas del Bio-carbón facilitó su mezcla con el suelo, lo que permitió la conformación de una mezcla homogénea de ambos componentes.

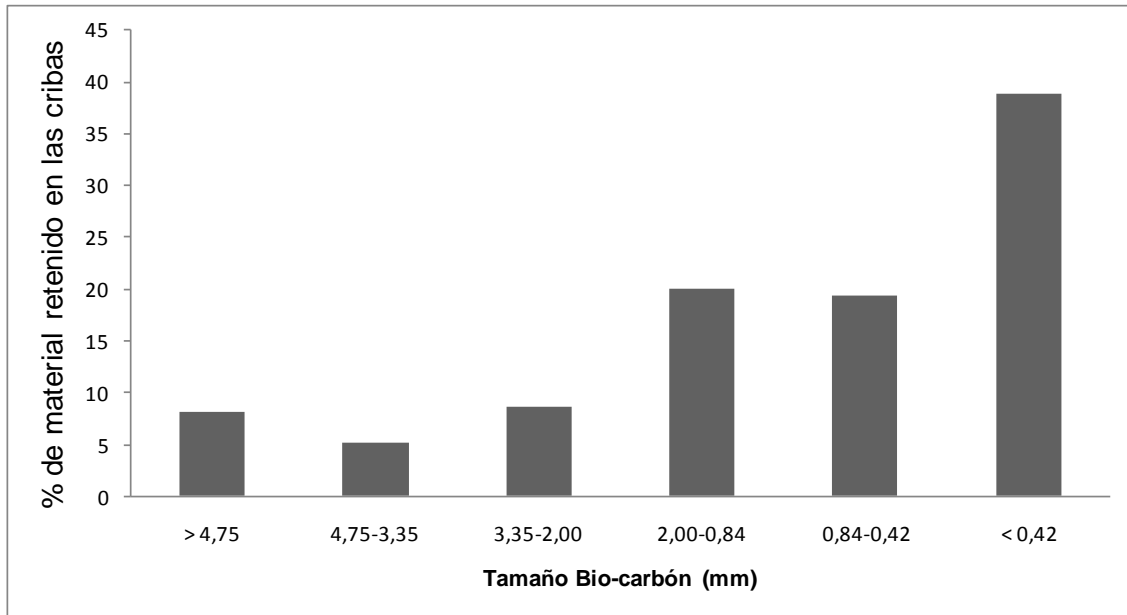


Figura 1. Composición porcentual del Bio-carbón según su granulometría

Evaluación del desarrollo de la enfermedad

1-Evaluación de la incidencia

Los primeros síntomas de la enfermedad se presentaron de manera generalizada en todos los tratamientos, 42 días después de la inoculación del patógeno (ddi) (Figura 2), este periodo se asemeja con lo descrito por otros autores que consideran que el periodo de incubación de la enfermedad de 30 días en condiciones óptimas de temperatura y humedad. (Pérez y Tapia 2011).

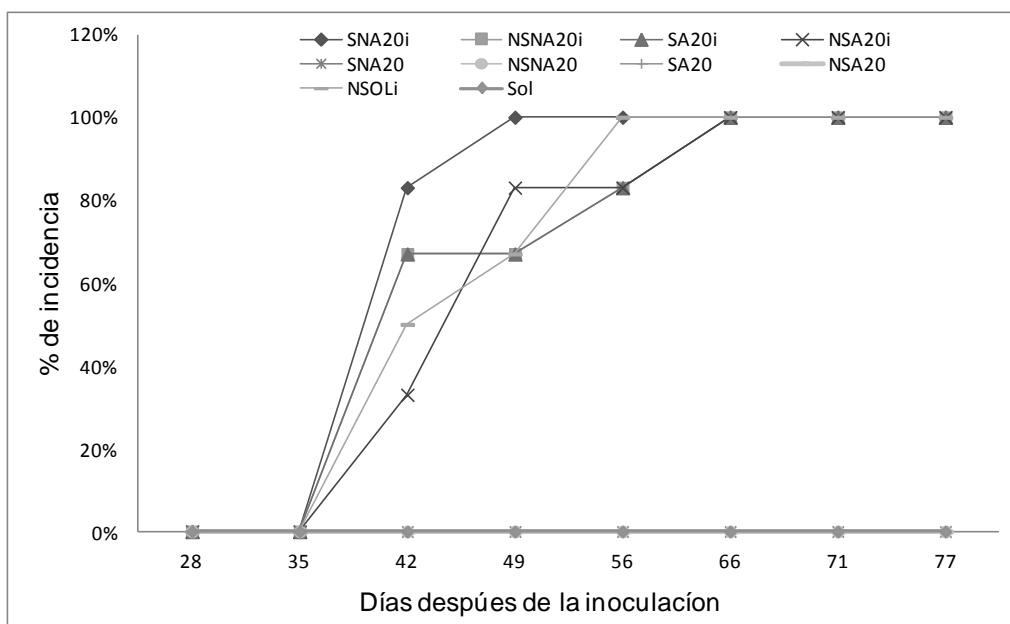


Figura 2. Evolución de la incidencia de Foc en los tratamientos evaluados

En los tratamientos con Bio-carbón (activado y sin activar) y en el tratamiento testigo, los síntomas de la enfermedad se presentaron de manera simultánea, pero con variaciones de incidencia entre los tratamientos. La incorporación del Bio-carbón en el suelo se realizó 47 días antes de la inoculación de los tratamientos con el patógeno Foc. Esto hace suponer que la presencia del Bio-carbón en el suelo, o su activación, no resultaron efectivos en el control o en la prevención del desarrollo del patógeno en el suelo, ni evitan que este complete el proceso de infección hasta la formación de los síntomas

A partir de los 42 ddi los síntomas externos que empezaron a manifestarse fueron el amarillamiento de la lámina foliar, presentándose de manera más acentuada en las venas de la hoja más nueva, además se presentó la deformación por reducción en el ancho de las hojas, tomando una apariencia más erecta y lanciolada.

A partir del día 49 se comenzó a presentar otro síntoma en el tratamiento NSOLi, este nuevo síntoma fue una ruptura de tejidos en el pseudotallo de las plantas. Esta ruptura se observó en dirección de los tejidos externos a los internos y de la base hacia arriba del pseudotallo.

La evaluación de síntomas internos se realizó en dos momentos: 57 y 80 ddi, tomando al azar 3 repeticiones por tratamiento, logrando observar la presencia de síntomas solo en la evaluación realizada a los 57 días. En esta evaluación, a pesar de que las plantas de los tratamientos SNA20i, NSNA20i, SA20i Y NSA20i presentaban síntomas como la decoloración y deformación de las hojas, solo se logró observar la presencia de síntomas internos en el tratamiento NSOLi en solo una planta. Los síntomas se presentaron en forma de lesiones de una coloración morada en los

haces vasculares del pseudotallo, iniciando en el cormo y avanzando en dirección de las bases de las hojas, con un tamaño de 15,2 cm y se dio en una planta que además presentaba la ruptura de los tejidos externos del pseudotallo.

2-Severidad de la enfermedad

Según la escala de Orjeda (1998), la severidad de la enfermedad presentó un nivel 4 (para amarillamiento de hojas) el cual se determinó entre los 42 y 77 después de realizada la inoculación del patógeno, para todos los tratamientos evaluados. En cuanto a la marchitez de las hojas esta solo se presentó en el tratamiento testigo NSOLi en las hojas bajas de la planta (anexo 1).

En la evaluación de la severidad de los síntomas internos los tratamientos SNA20i, NSNA20i, SA20i Y NSA20i no presentaron síntomas en ninguna de las evaluaciones realizadas. El tratamiento testigo NSOLi sí presentó síntomas en la evaluación realizada a los 57 alcanzando un valor 3 en la escala de Orjeda (1998).

A pesar de que las plantas inoculadas con el patógeno presentaron síntomas característicos de la enfermedad, no se presentó la muerte de plantas en ninguno de los tratamientos (incluso en el testigo) debido posiblemente a que no se dejó más tiempo como se ha observado en otras investigaciones (Pérez y Tapia 2011).

Efecto del Bio-carbón en el desarrollo de las plantas

1-Efecto del Bio-carbón sobre la altura de planta y circunferencia de pseudotallo

El análisis de las variables altura de planta y circunferencia de pseudotallo muestran una respuesta a la presencia del Bio-carbón en el suelo (Figuras 3 y 4). La respuesta que presentan estas variables es a la primera de las evaluaciones, la cual se realizó 45 días después de haber trasplantado las plantas a la mezcla suelo/Bio-carbón (activado y no activado).

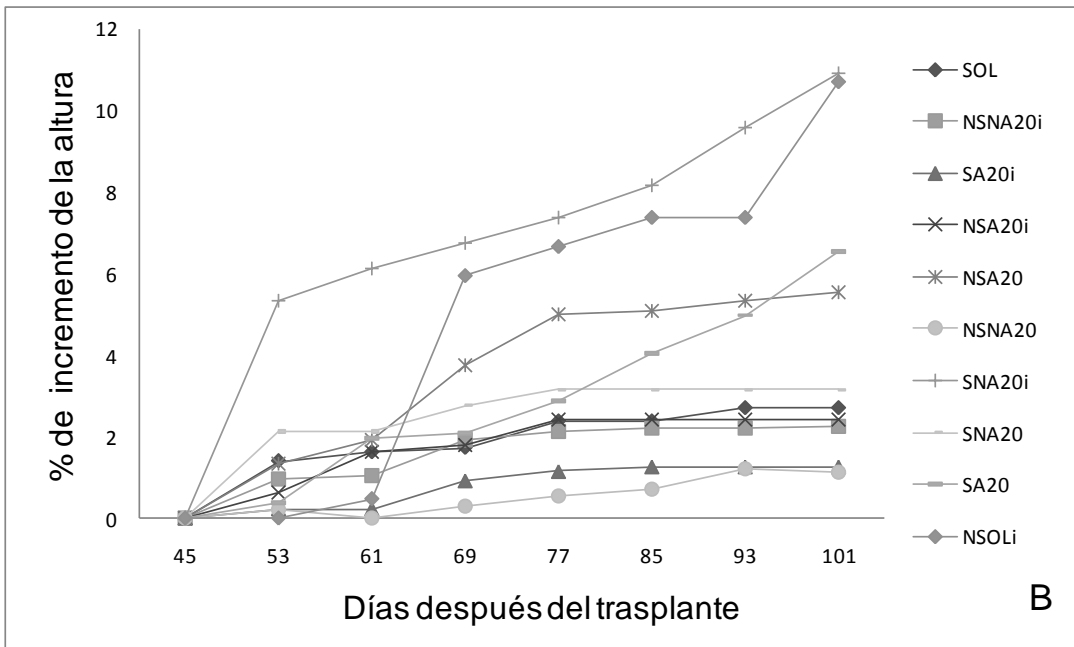
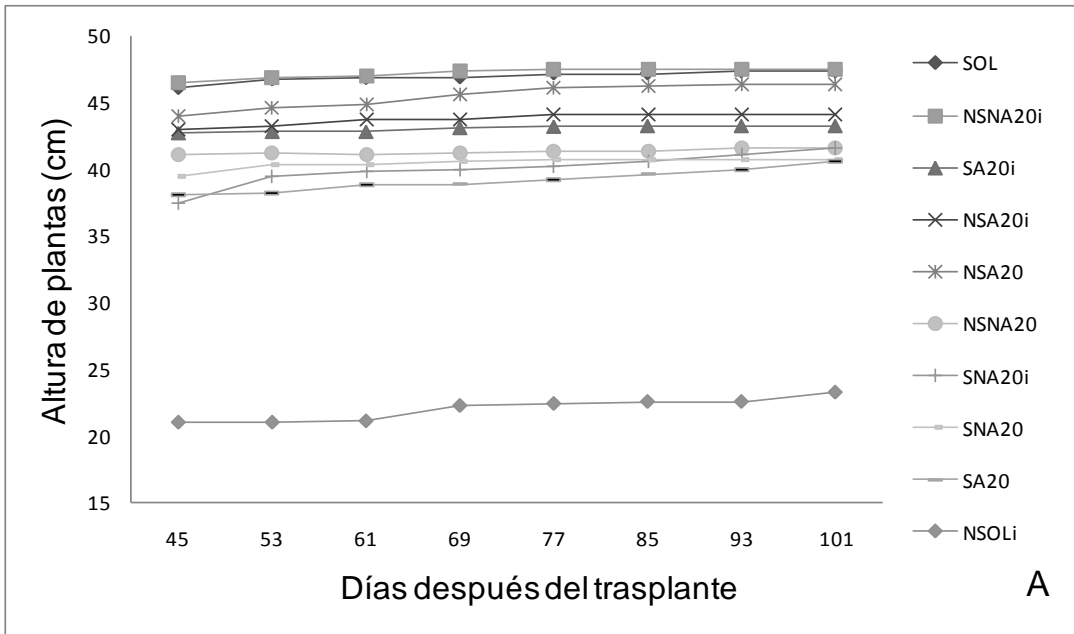


Figura 3. Efecto del Bio-carbón sobre la altura de plantas: A-altura de planta, B-% de incremento de la altura.

Para el caso de la variable altura de la planta, los valores promedio (Figura 3 A) que presentan las plantas de los tratamientos que contenían Bio-carbón (activado y sin activar) difieren estadísticamente con los presentados por el testigo NSOLi (anexo 2), el cual presenta la menor altura en cada una de las evaluaciones. Los valores de altura que presentan las plantas que se desarrollaron en presencia del Bio-carbón activado, no difieren estadísticamente con los valores de las plantas que contenían el Bio-carbón sin activar, en ninguna de las evaluaciones (anexo 2).

En cuanto al porcentaje de incremento de la altura, las plantas de los tratamientos SNA20i y NSOLi presentan un incremento de altura del 10% entre los días 45 y 101 después del trasplante (Figura 8 B), las plantas de estos tratamientos presentan un incremento de altura del 5% entre los días 45 y 69, luego continúan creciendo con cambios de altura de menos del 1% entre las evaluaciones. Las plantas de los tratamientos SA20 y NSA20 presentan un incremento de altura del 6,6% y 5,6% respectivamente al finalizar el periodo de evaluación. En los tratamientos SNA20, SOL, NSA20i, NSNA20i, SA20i y NSNA los incrementos de altura que presentan las plantas no sobrepasan el 3,2%, presentándose los menores incrementos de altura en los tratamientos SA20i y NSNA20 con valores del 1,3% y 1,1% respectivamente (Figura 8 B).

En la evaluación del grosor de pseudotallo, medido por medio de la circunferencia del pseudotallo, no se presentan diferencias estadísticas entre tratamientos en las diferentes evaluaciones realizadas a partir del día 45 después del trasplante (anexo 2). A pesar de no haberse presentado diferencias estadísticas en esta variable, se logra observar una tendencia de mayor grosor de pseudotallo en los tratamientos que crecieron en presencia del Bio-carbón con relación al testigo NSOLi, esta tendencia se logra apreciar desde los 45 días después del trasplante (Figura 8 A)

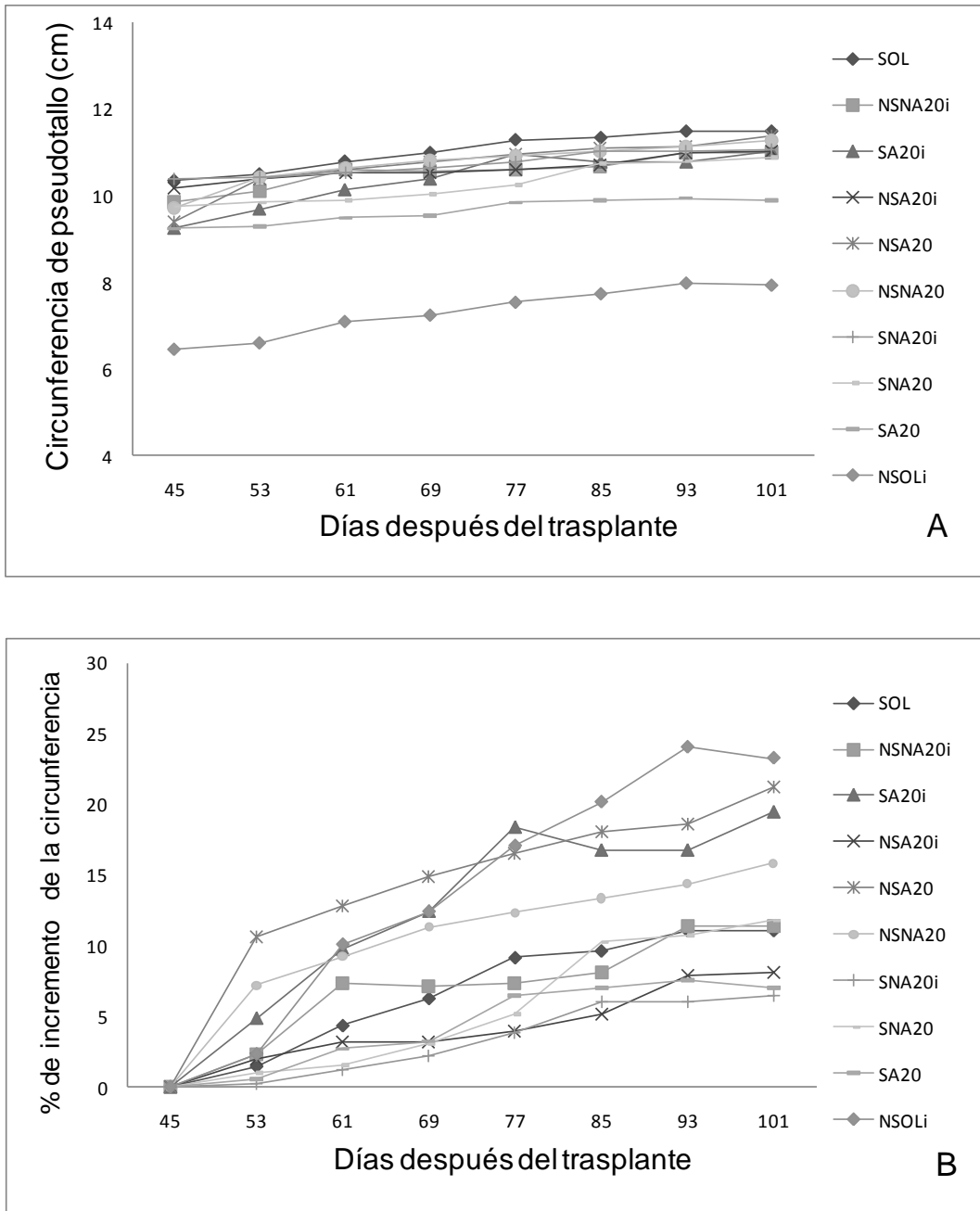


Figura 9. Efecto del Bio-carbón sobre la circunferencia del pseudotallo: A-circunferencia de pseudotallo, B-% de incremento de la circunferencia.

A los 101 días después del trasplante, las plantas de los tratamientos NSA20 y NSOLi son las que presentan el mayor porcentaje de incremento de circunferencia, incrementado su grosor en un 21,3% y 23,3% respectivamente (Figura 9 B). Los tratamientos que presentaron el menor porcentaje de incremento son el SA20 y SNA20i, en estos tratamientos se presentaron valores del 7,1% y 6,5% al momento de finalizar el periodo de evaluación. Aunque se dio la presencia de síntomas externos de la enfermedad, los valores de altura y diámetro de pseudotallo de los tratamientos que contenían Bio-carbón (activado y sin activar) + inoculo no muestran diferencias estadísticas con los valores obtenidos en los tratamientos Bio-carbón (activado y sin activar) sin inoculo (anexo 2), lo cual podría sugerir que el efecto de la enfermedad sobre estas variables de crecimiento, no era perceptible a los días en que se efectuaron las evaluaciones.

En el análisis de estas variables se presentó un comportamiento superior del tratamiento testigo SOL sobre el testigo NSOLi. Abu Irmaileh (2004), menciona que muchos de los patógenos de las plantas, semillas de las malezas y otras plagas presentes en el suelo son destruidos de forma directa o indirecta por las temperaturas a las que se llega durante el calentamiento solar del suelo húmedo, propiciando a la planta un medio casi ideal para su crecimiento y desarrollo, esta condición y el no haber inoculado el patógeno podría explicar el comportamiento observado en las plantas del tratamiento SOL.

2-Efecto del Bio-carbón sobre el peso seco aéreo

La evaluación del peso seco aéreo se realizó 101 días después de la siembra de las plantas en la mezcla suelo/Bio-carbón. En esta evaluación se logró encontrar diferencias estadísticas entre los tratamientos que contenía con Bio-carbón (activado y sin activar) y el tratamiento testigo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores promedio de peso seco de plantas 101 días después del trasplante (edad de la planta 8 meses)

Tratamiento	Peso seco (g)
NSA20	89,51 a
SNA20	82.49 ab
NSNA20i	81,58 ab
SA20	79,57 ab
NSNA20	78,31 b
SOL	73,47 bc
SNA20i	67,16 c
NSA20i	64,41 c
SA20i	63,78 c
NSOLi	31,16 d
valor de p	<0,0001

Todos los tratamientos que contenían la mezcla suelo/Bio-carbón (activado y sin activar) y suelo/Bio-carbón (activado y sin activar)+inoculo, superaron en peso al tratamiento testigo NSOLi; obteniendo el mejor resultado con el tratamiento NSA20 (Cuadro 3).

Los resultados obtenidos se asemejan a los observados por Van Zwieten *et al.* (2010) en sus estudios. Dichos autores evaluaron el efecto de una dosis de 10 ton/ha de Bio-carbón producido con desechos de la producción de papel (solo y en combinación con un fertilizante) en dos tipos de suelo (suelo A: suelo rojo con presencia de sesquióxidos de hierro y aluminio; suelo B: suelo rico en carbonato de calcio) en los cuales sembraron sorgo (*Sorghum bicolor*), rábano (*Rhapanus sativus*) y trigo (*Triticum aestivum*). Como resultados, en el suelo A, lograron obtener una respuesta positiva en la producción de biomasa para los cultivos de sorgo y rábano, en presencia del Bio-carbón y que además recibió la aplicación del fertilizante. En el suelo B, solo el cultivo de sorgo presentó respuestas positivas al estar presente el Bio-carbón sin el fertilizante.

Elad *et al.* (2010), indican que la respuesta en la mejora de la cosecha, observada como resultado de la utilización del Bio-carbón como enmienda al suelo puede atribuirse al contenido nutrientes que se encuentran presentes en el Bio-carbón y otros factores, como una mayor retención de nutrientes, mejoramiento del pH, una capacidad creciente del intercambio catiónico y la neutralización de compuestos fitotóxicos presentes en el suelo a demás de mejoras en las características físicas del mismo.

En el Cuadro 3 se puede apreciar como las plantas que crecieron en presencia del Bio-carbón activado y las que lo hicieron con el Bio-carbón sin activar, no difieren estadísticamente, lo que indica que cualquiera de las formas del Bio-carbón utilizadas en la presente investigación pueden ser incorporadas al suelo.

Al comparar los pesos secos de los tratamientos que contenían Bio-carbón (activado y no activado) inoculados con el patógeno *Foc*, con los pesos de los tratamientos con Bio-carbón (activado y sin activar) sin inóculo, se aprecia que la presencia del patógeno afectó el peso de los tratamientos. Los pesos presentados por los tratamientos NSNA20i, SNA20i, SA20i y NSA20i presentan pesos estadísticamente menores a los presentados por los tratamientos NSNA20, SNA20, SA20 y NSA20 (Cuadro 3).

Desarrollo del sistema radical: efecto del Bio-carbón sobre el peso seco y la longitud de raíz

El resultado del análisis de la variable peso seco de raíz, muestra que las plantas de los tratamientos suelo + Bio-carbón (activado y sin activar) presentan un mayor peso seco en comparación al peso seco que presenta el tratamiento testigo NSOLi. El mayor peso seco se presentó con el tratamiento NSNA20 (Cuadro 4).

Los pesos de raíz obtenidos en los tratamientos que contenían Bio-carbón activado, no presentan diferencias con los obtenidos en las raíces de los tratamientos con Bio-carbón no activado, lo que indica que bajo las condiciones de manejo de esta investigación, la activación del Bio-carbón no le confiere características que puedan realzar su efecto en el desarrollo de las raíces.

Cuadro 4. Valores promedio de peso seco de raíz 101 días después del trasplante (edad de la planta 8 meses).

Tratamiento	peso seco raíz (g)
NSNA20	38,19 a
NSA20i	36,63 ab
SA20	33,78 ab
SA20i	33,00 ab
NSA20	32,88 ab
NSNA20i	31,09 ab
SOL	30,64 ab
SNA20	30,18 ab
SNA20i	28,45 b
NSOLi	14,52 c
valor de p	0,0008

Para el caso de la evaluación de la longitud de raíz, el mejor resultado se presentó con las raíces del tratamiento NSNA20, el cual difiere estadísticamente con el resto de los tratamientos (Cuadro 5).

Aunque no se obtuvo diferencias estadísticas entre los tratamientos con Bio-carbón (activado y no activado) con y sin inoculo, se observa que los tratamientos inoculados presentan longitudes menores a la mayoría de los tratamientos sin inoculo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores promedio de longitud de raíz 77 días después del trasplante (edad de la planta 7,5 meses)

Tratamiento	Long. Raíz (cm)
NSNA20	7333,92 a
SNA20	5351,83 b
SOL	4487,30 b
NSNA20i	4483,83 b
NSA20	4444,50 b
SA20	4428,22 b
SA20i	4127,45 b
SNA20i	4127,45 b
NSOLi	3610,63 b
NSA20i	3548,99 b
Valor de p	0,0106

Efecto del Bio-carbón sobre las poblaciones de microorganismos presentes en el suelo

El análisis de los resultados para las poblaciones de hongos bacterias y actinomicetos, no muestra diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 6). Este resultado difiere con los observados en investigaciones realizadas por Lehmann *et al.* (2003), Topoliantz *et al.* (2005), Gundale y DeLuca (2006) y Yamato *et al.* (2006), los cuales indican la mejora en las poblaciones de microorganismos presentes en el suelo, principalmente en poblaciones de micorrizas. Las diferencias pueden estar en las características de los suelos utilizados en el presente trabajo, con los usados por estos investigadores (arena de río, suelos rojos con presencia de sesquióxidos de hierro y aluminio, y suelos ricos en carbonato de calcio).

Un factor que también puede haber influido es el tiempo de la incorporación del Bio-carbón en el suelo, si bien las evaluaciones de estos ensayos se realizaron en promedio 90 días después de realizada la siembra de los cultivos, no se especifica en qué momento se realizó la mezcla suelo-Bio-carbón, por lo que se desconoce el tiempo de contacto entre el suelo y el Bio-carbón. Esto muestra la importancia de realizar investigaciones en las que se evalúan diferentes periodos de contacto entre el suelo y el Bio-carbón.

Cuadro 6. Unidades formadoras de colonias presentes en el suelo 122 días después de realizada la mezcla suelo/Bio-carbón

Tratamiento	UFC g ⁻¹ suelo		
	Hongos	Bacterias	Actinos
NSA20	3,44 a	7,51 a	6,37 a
SNA20	3,33 a	7,20 ab	6,43 a
NSNA20	3,57 a	6,72 ab	5,67 a
NSNA20i	3,79 a	6,71 ab	4,32 a
SOL	3,43 a	6,51 ab	5,88 a
SA20	3,12 a	6,28 ab	5,97 a
NSOLi	3,26 a	6,27,ab	5,66 a
SA20i	3,63 a	6,27 ab	5,96 a
NSA20i	3,61 a	6,12 b	5,37 a
SNA20i	3,67 a	6,02 b	4,40 a
Valor de p	0,7188	0,1930	0,7922

Efecto del Bio-carbón sobre las propiedades químicas del suelo

La condición química del suelo se evaluó en dos momentos, el primer análisis se realizó antes de que el suelo fuera mezclado con el Bio-carbón y el segundo análisis se realizó 178 días después de realizada la mezcla del suelo con el Bio-carbón.

Cuadro 7. Características químicas del suelo al inicio del ensayo y 128 días después de efectuada la mezcla suelo-Bio-carbón.

	Día de análisis	H ₂ O	cmol(+)/l				mg/l
		pH	Acidez	Ca	Mg	K	P
Condición química del suelo al inicio del ensayo	0	6,75	0,05	11,40	1,06	0,58	14,6
Suelo solarizado + 20ton/ha Bio-carbón no activado	128	6,53	0,05	13,52	1,48	0,40	14,8
Suelo solarizado + 20ton/ha Bio-carbón activado	128	6,65	0,05	13,07	1,42	0,47	14,5
Suelo no solarizado + 20ton/ha Bio-carbón no activado	128	6,45	0,05	13,46	1,64	0,55	20,8
Suelo no solarizado + 20ton/ha Bio-carbón activado	128	6,58	0,05	13,64	1,41	0,47	21,8

A los 128 días después de realizada la mezcla suelo-Bio-carbón (activado y sin activar), no se presentaron cambios en la acidez del suelo. El pH presentó una tendencia a bajar en todos los tratamientos evaluados pero manteniéndose dentro del nivel considerado como óptimo para el desarrollo de los cultivos.

El efecto observado en el pH difiere con el observado en investigaciones realizadas por Novak *et al.* (2010) y Van Zwieten *et al.* (2010). Van Zwieten *et al.* (2010), reportan cambios en el pH del suelo de 4.20 a 5.93 cuando solo se aplico Bio-carbón al suelo, y de 4.13 a 5.73 cuando se aplicó Bio-carbón más fertilizante en el suelo.

El análisis químico muestra una tendencia al incremento de las concentraciones de los elementos Ca, Mg y P, siendo el P el elemento que presento una mayor tendencia a incrementar en los tratamientos suelo no solarizado más Bio-carbón (activado y sin activar)

La tendencia al incremento de las concentraciones de los elementos Ca y Mg se puede deber al aporte realizado por el Bio-carbón, al estar estos elementos presentes y disponibles en este producto (Cuadro 2). Lehmann *et al.* (2003) indica que el Bio-carbón puede adicionar de forma directa al suelo, diferentes nutrientes como el K, P y Ca, además puede evitar que estos y otros nutrientes presentes en el suelo se pierdan por lixiviación.

Conclusiones

Las plantas que se desarrollaron en los diferentes tratamientos con Bio-carbón activado y no activado, y que fueron inoculadas con *Fusarium oxysporum*, presentaron los síntomas externos típicos de la enfermedad lo cual sugiere que podría dejarse el Bio-carbón mayor número de días en contacto con el suelo para observar algún efecto sobre el patógeno.

Con respecto a las variables altura de planta, peso seco aéreo y de raíz, se observó el efecto de la incorporación del Bio-carbón tanto activado como no activado, presentándose en estos tratamientos valores superiores que los obtenidos en el testigo NSOLi.

Para el desarrollo del sistema radical se logró obtener diferencias estadísticas para el peso seco de raíz. Esta diferencia se dio entre los tratamientos con presencia de Bio-carbón (activado y sin activar) con y sin inóculo, y el tratamiento testigo NSOLi.

Con la presencia del Bio-carbón en el suelo, se observa una tendencia al incremento en las concentraciones de los elementos Ca, Mg, elementos que se encuentran disponibles en el Bio-carbón activado y sin activar, lo que indica el aporte que este producto puede hacer en la nutrición de los suelos.

Bibliografía

Abu Irmaileh, B. 2004. Manejo de malezas para países en desarrollo: Solarización del suelo. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación. Disponible en la World Wide Web: <http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s0g.htm>

Bertsch, F; Henríquez C., Salas R. 1995. Fertilidad de suelos – Manual de laboratorio. Primera Edición. San José, Costa Rica. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. Pág. 48, 49.

Elad, Y; Rav, D; Meller, Y; Borenshtein M; Ben, H; Silver, A and Graber, E. 2010 Induction of Systemic Resistance in Plants by Biochar, a Soil-Applied Carbon Sequestering Agent. The American Phytopathological Society Vol. 100, No. 9

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2004. La economía mundial del banano 1985-2002. Eds. Arias, P; Dankers, C; Lui, P; Pilkauskas. Roma. 104 p.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2009. Principales enfermedades del banano y plátano: información actualizada sobre su propagación, efectos y estrategias de repuestas. CCP:BA/TF 09/7. 9-11 de diciembre. FAO:Roma.

Gundale MJ; DeLuca TH .2006. Temperature and source material influence ecological attributes of Ponderosa pine and Douglas-fir charcoal. For Ecol Manag 231:86–93

Horwitz W. (Ed.). 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th Edition. AOAC Official Method 922.02 Plants. Chapter 3. Volume I.

Jones, D. R. 2000. The genera *Musa* and *Ensete*. In Ed: D.R. Jones. Diseases of banana, abaca and enset. Wallingford, Oxon, U.K. CAB International. p.1-36.

Lara, D. 2009. Uso de bacterias endofíticas para el control biológico del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense) en el cultivar Gros Michel (AAA) Tesis MSc. Turrialba, Costa Rica. CATIE p 1-2, 5-7.

Lehmann,J; Pereira da Silva, Jr; Nehls, T; Zech,W and Glaser, B. 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal Amendments Plant and Soil 249 (2003): 343–357.

López, L. 2008. Aprovechamiento energético e integrado por fraccionamiento de biomasa lignocelulósica forestal y agroindustrial. Caracterización de hemicelulosas, celulosas y otros productos del fraccionamiento. Boletín del CIDEU 5: p 7-19.

Major, J.; Rondon, M.; Molina, D.; Riha, S.; Lehmann, J. 2010. Maize yield and nutrition during 4 yerars after biochar application to a Colombian savanna oxisol. Plant Soil. 333:117-128.

Moore, N.Y.; Bentley, S.; Pegg, K.G. and Jones D.R, 1995 Marchitamiento del banano ocasionado por *Fusarium*. Hoja divulgativa N°5 INIBAP. Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y el Plátano, Montpellier, FRANCIA p 4.

Navarro, J.R.; Mora, D.; Días, J.; Vílchez, H.; Corrales, E. 1991. Efecto de la solarización del suelo sobre la población de malezas y del hongo *Rhizoctonia solani*, durante la estación lluviosa en Alajuela, Costa Rica. In Agronomía Costarricense: 15(1/2): 93-98.

Novak, J. 2009. Characterization of designer Biochar produced at different temperatures and their effects on a loamy sand. Annals of Enviromental Science. Vol 3, p 195-206.

Novak, J; Busscher, Watts, D; Laird, D; Ahmedna and Niandou M, 2010. Short-term CO2 mineralization after additions of biochar and switchgrass to a Typic Kandudult. Geoderma 154 (2010) 281–288

Orjeda, G. 1998. Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka y marchitamiento por *Fusarium*. Guías técnicas del INIBAP 3. Instituto internacional de los recursos fitogenéticos, Roma, Italia; Red internacional para el mejoramiento del banano y el plátano, Montpellier, Francia. p27.

Pardo, J. 1989. El cultivo del banano. San José, CR, UNED. P.26.

Pérez, G; Tapia, A. 2011. Caracterización del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cúbense*) en los bananos de cafetales. Jornadas de investigación 40 aniversario. Universidad de Costa Rica Sede del Atlántico. En imprenta.

Pérez, L. 2004. Fusarium Wilt (Panama disease) of bananas: An Updating Review of the Current Knowledge in the disease and its Causal Agent. In XVI REUNIÓN INTERNACIONAL ACORBAT (16, 2004, Oaxaca, México). 2004. Memorias. Eds. M. Orozco; J. Orozco; M. Robles; J. Velázquez; V. Medina; J.A Hernández. p 312.

Pocasangre, L. 2009. Estado actual y manejo del Mal de Panamá en América Latina y El Caribe. In Reunión de grupos de interés sobre los riesgos de la raza tropical 4 de *Fusarium*, BBTV y otras plagas de musáceas para la región del OIRSA, América Latina y El Caribe (2009, San Salvador, El Salvador). 2009. Resúmenes. Bioversity. 71 p.

Silagyi, A.J. 2002. A survey of the disease incidence and severity of *Fusarium* wilt, also known as Panama disease, in the banana cultivar Gros Michel caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in small-scale organic farms within 2 regions of Costa Rica: Talamanca (Limón Province) and Turrialba (Cartago Province). University of Florida. 12 p.

Topoliantz S; Ponge J-F and Ballof S. 2005. Manioc peel and charcoal: a potential organic amendment for sustainable soil fertility in the tropics. *Biol Fert Soils* 41:15–21

Van Zwieten, Kimber L; Downie, A; Joseph, S and Cowie, A. 2010. Effects of Biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant Soil* (2010) 327:235–246

Weaver, F; Angle, J; Botttomley, P. 1994. Methods of soil analysis. II Part. Microbiological and biochemical properties. Number 5. Soil Science Society of American Book Series. USA. p1121.

Werner, M.; Cuevas, J.R. 1996. Vermiculture in Cuba. *BioCycle*. 37 (6): 57-59.

Woolf, D. 2010. Sustainable Biochar to mitigate global climate change. Disponible en la World Wide Web:

<http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html>

Yamato, M; Okimori Y; Wibowo IF; Anshiori S and Ogawa M, 2006. Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia. *Soil Sci Plant Nutr* 52:489–495

Zambrano, A.Y; Martínez, G.; Gutierrez, Z. 2007. Marcador RAPD asociado a la resistencia a *Fusarium oxysporum* en *Musa*. INCI. [online]. nov. 2007, vol.32, no.11 [citado 02 Agosto 2010], p.775-779.

Disponible en la World Wide Web:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S03718442007001100011&lng=es&nr m=iso. ISSN 0378-1844.

Anexo 1

Metodología propuesta por Orjeda (1998) para la evaluación de la incidencia de *Fusarium oxysporum*, en plantas de banano (*Musa AAA*).

Cuadro 8: Síntomas externos a considerar para la evaluación de *F. oxysporum*

Valor	Síntomas externos		Síntomas internos
	Amarillamiento	Marchitez	Decoloración del cormo
1	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas
2	Amarillamiento en hojas viejas	Marchitez en hojas viejas	Puntos aislados de decoloración en el tejido vascular
3	Amarillamiento en hojas bajas	Marchitez en hojas bajas	Decoloración de hasta 1/3 del tejido vascular
4	Amarillamiento de las hojas jóvenes	Marchitez de las hojas nuevas	Decoloración de entre 1/3 y 2/3 del tejido vascular
5	Severo amarillamiento	Severa marchitez	Decoloración mayor a los 2/3 del tejido vascular
6	Muerte de la planta	Muerte de la planta	Decoloración total del tejido vascular

Para la evaluación de los síntomas internos en el pseudotallo se toma en cuenta la decoloración vascular que se presenta en el producto de la acción del patógeno. Para esto, al momento de la cosecha se cortara la planta en la base del pseudotallo; para determinar la extensión de la decoloración vascular, se realizaran cortes transversales desde la base del pseudotallo hacia arriba para examinar los tejidos internos que aparezcan después de cada corte. Se observara el punto en el cual la decoloración ya no sea visible y se anotara la distancia que exista entre este punto y la base del pseudotallo.

Anexo 2

Resultados del análisis de varianza para las variables altura de planta y circunferencia de pseudotallo.

Análisis de la varianza 45 días después del trasplante

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,76	0,60	11,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1024,54	9	113,84	4,90	0,0042
tratamiento	1024,54	9	113,84	4,90	0,0042
Error	325,04	14	23,22		
Total	1349,58	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 23,2170 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	46,47	3	A
SOL	46,10	2	A
NSA20	44,00	2	A
NSA20i	43,03	3	A
SA20i	42,75	2	A
NSNA20	41,10	3	A
SNA20	39,50	2	A
SA20	38,10	2	A
SNA20i	37,50	3	A
NSOLi	21,00	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,64	0,40	10,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	24,82	9	2,76	2,74	0,0445
tratamiento	24,82	9	2,76	2,74	0,0445
Error	14,10	14	1,01		
Total	38,92	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,0070 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SNA20i	10,40	3	A
SOL	10,35	2	A
NSA20i	10,20	3	A
NSNA20i	9,87	3	A
SNA20	9,75	2	A
NSNA20	9,73	3	A
NSA20	9,40	2	A
SA20i	9,25	2	A
SA20	9,25	2	A
NSOLi	6,45	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Análisis de la varianza 53 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,79	0,66	10,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1042,67	9	115,85	5,88	0,0018
tratamiento	1042,67	9	115,85	5,88	0,0018
Error	275,91	14	19,71		
Total	1318,58	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 19,7076 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	46,93	3	A
SOL	46,75	2	A
NSA20	44,60	2	A
NSA20i	43,30	3	A
SA20i	42,85	2	A
NSNA20	41,20	3	A
SNA20	40,35	2	A
SNA20i	39,50	3	A
SA20	38,25	2	A
NSOLi	21,00	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0,05)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,60	0,35	11,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	26,36	9	2,93	2,38	0,0708
tratamiento	26,36	9	2,93	2,38	0,0708
Error	17,24	14	1,23		
Total	43,59	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,2313 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	10,50	2	A
SNA20i	10,43	3	A
NSNA20	10,43	3	A
NSA20i	10,40	3	A
NSA20	10,40	2	A
NSNA20i	10,10	3	A
SNA20	9,85	2	A
SA20i	9,70	2	A
SA20	9,30	2	A
NSOLi	6,60	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0,05)

Análisis de la varianza 61 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,79	0,66	10,80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		1040,60	9	115,62	5,89	0,0017
tratamiento		1040,60	9	115,62	5,89	0,0017
Error		274,62	14	19,62		
Total		1315,22	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 19,6156 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	46,97	3	A
SOL	46,85	2	A
NSA20	44,85	2	A
NSA20i	43,73	3	A
SA20i	42,85	2	A
NSNA20	41,10	3	A
SNA20	40,35	2	A
SNA20i	39,80	3	A
SA20	38,85	2	A
NSOLi	21,10	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,61	0,36	10,12

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		23,00	9	2,56	2,44	0,0656
tratamiento		23,00	9	2,56	2,44	0,0656
Error		14,69	14	1,05		
Total		37,69	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,0489 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	10,80	2	A
NSNA20	10,63	3	A
NSA20	10,60	2	A
NSNA20i	10,60	3	A
NSA20i	10,53	3	A
SNA20i	10,53	3	A
SA20i	10,15	2	A
SNA20	9,90	2	A
SA20	9,50	2	A
NSOLi	7,10	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Análisis de la varianza 69 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,59	0,32	10,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	22,84	9	2,54	2,22	0,0875
tratamiento	22,84	9	2,54	2,22	0,0875
Error	16,00	14	1,14		
Total	38,84	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,1430 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	11,00	2	A
NSNA20	10,83	3	A
NSA20	10,80	2	A
SNA20i	10,63	3	A
NSNA20i	10,57	3	A
NSA20i	10,53	3	A
SA20i	10,40	2	A
SNA20	10,05	2	A
SA20	9,55	2	A
NSOLi	7,25	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,78	0,64	10,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	979,66	9	108,85	5,55	0,0023
tratamiento	979,66	9	108,85	5,55	0,0023
Error	274,48	14	19,61		
Total	1254,14	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 19,6054 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	47,37	3	A
SOL	46,90	2	A
NSA20	45,65	2	A
NSA20i	43,80	3	A
SA20i	43,15	2	A
NSNA20	41,23	3	A
SNA20	40,60	2	A
SNA20i	40,03	3	A
SA20	38,90	2	A
NSOLi	22,25	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Análisis de la varianza 77 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,77	0,63	10,90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		987,74	9	109,75	5,35	0,0028
tratamiento		987,74	9	109,75	5,35	0,0028
Error		287,28	14	20,52		
Total		1275,02	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 20,5198 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	47,47	3	A
SOL	47,20	2	A
NSA20	46,20	2	A
NSA20i	44,07	3	A
SA20i	43,25	2	A
NSNA20	41,33	3	A
SNA20	40,75	2	A
SNA20i	40,27	3	A
SA20	39,20	2	A
NSOLi	22,40	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,60	0,34	9,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		21,26	9	2,36	2,30	0,0788
tratamiento		21,26	9	2,36	2,30	0,0788
Error		14,39	14	1,03		
Total		35,66	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,0280 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	11,30	2	A
SA20i	10,95	2	A
NSA20	10,95	2	A
NSNA20	10,93	3	A
SNA20i	10,80	3	A
NSA20i	10,60	3	A
NSNA20i	10,60	3	A
SNA20	10,25	2	A
SA20	9,85	2	A
NSOLi	7,55	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Análisis de la varianza 85 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,77	0,63	10,83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		972,50	9	108,06	5,30	0,0029
tratamiento		972,50	9	108,06	5,30	0,0029
Error		285,23	14	20,37		
Total		1257,73	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 20,3738 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	47,50	3	A
SOL	47,20	2	A
NSA20	46,25	2	A
NSA20i	44,07	3	A
SA20i	43,30	2	A
NSNA20	41,40	3	A
SNA20	40,75	2	A
SNA20i	40,57	3	A
SA20	39,65	2	A
NSOLi	22,55	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,52	0,21	10,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		20,15	9	2,24	1,66	0,1897
tratamiento		20,15	9	2,24	1,66	0,1897
Error		18,84	14	1,35		
Total		38,99	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,3458 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	11,35	2	A
NSA20	11,10	2	A
SNA20i	11,03	3	A
NSNA20	11,03	3	A
SA20i	10,80	2	A
SNA20	10,75	2	A
NSA20i	10,73	3	A
NSNA20i	10,67	3	A
SA20	9,90	2	A B
NSOLi	7,75	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)

Análisis de la varianza 93 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,77	0,62	10,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		971,79	9	107,98	5,21	0,0031
tratamiento		971,79	9	107,98	5,21	0,0031
Error		290,03	14	20,72		
Total		1261,82	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 20,7162 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	47,50	3	A
SOL	47,35	2	A
NSA20	46,35	2	A
NSA20i	44,07	3	A
SA20i	43,30	2	A
NSNA20	41,60	3	A
SNA20i	41,10	3	A
SNA20	40,75	2	A
SA20	40,00	2	A
NSOLi	22,55	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,49	0,16	11,14

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		18,87	9	2,10	1,47	0,2488
tratamiento		18,87	9	2,10	1,47	0,2488
Error		19,92	14	1,42		
Total		38,79	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,4231 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	11,50	2	A
NSA20	11,15	2	A
NSNA20	11,13	3	A
SNA20i	11,03	3	A
NSA20i	11,00	3	A
NSNA20i	11,00	3	A
SNA20	10,80	2	A
SA20i	10,80	2	A
SA20	9,95	2	A B
NSOLi	8,00	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)

Análisis de la varianza 101 días después del trasplante.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura (cm)	24	0,77	0,61	10,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	916,11	9	101,79	5,07	0,0036
tratamiento	916,11	9	101,79	5,07	0,0036
Error	281,32	14	20,09		
Total	1197,43	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 20,0943 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
NSNA20i	47,53	3	A
SOL	47,35	2	A
NSA20	46,45	2	A
NSA20i	44,07	3	A
SA20i	43,30	2	A
SNA20i	41,60	3	A
NSNA20	41,57	3	A
SNA20	40,75	2	A
SA20	40,60	2	A
NSOLi	23,25	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Circunferencia	24	0,51	0,19	11,17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	20,84	9	2,32	1,60	0,2078
tratamiento	20,84	9	2,32	1,60	0,2078
Error	20,27	14	1,45		
Total	41,11	23			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 1,4479 gl: 14

tratamiento	Medias	n	
SOL	11,50	2	A
NSA20	11,40	2	A
NSNA20	11,27	3	A
SNA20i	11,07	3	A
SA20i	11,05	2	A
NSA20i	11,03	3	A
NSNA20i	11,00	3	A
SNA20	10,90	2	A
SA20	9,90	2	A B
NSOLi	7,95	2	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p <= 0,05$)