

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE
MICROORGANISMOS QUE DETERIORAN
LA CALIDAD DEL PLATANO
(TEMA MANCOMUNADO)

JUANA ALEJANDRA ZANABRIA SALCEDO
Q.F.B. ORIENTACION TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ALFREDO BERNAL MORALES
INGENIERO QUIMICO

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS 1979
LAB. H. C. 41
FECHA _____
REG. _____



Jurado asignado Originalmente
según el tema

PRESIDENTE,	PROF.	CATALINA OROZCO VICTORIA
VOCAL	"	NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA
SECRETARIO	"	ENRIQUE GARCIA GALEANO
1er. SUPLENTE	"	LILIA VIERNA GARCIA
2do. SUPLENTE	"	BEATRIZ LUNA MILLAN

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Microbiología Experimental, Facultad de Química,
U.N.A.M.

Nombre del sustentante:

Juana Alejandra Zanabria Salcedo

Alfredo Bernal Morales

Nombre completo del asesor del tema:

M. en C. Natalia Salcedo Olavarrieta

Nombre completo del supervisor técnico:

Quim. Lilia Vierna García

A MIS PADRES,
que con su apoyo y cariño
me hicieron fuerte ante
los obstáculos.

Alejandra

Cariñosamente

A MI MADRE

La cual siempre me supo
impulsar con su amor y
determinación.

Alfredo

A MIS HERMANOS,
a los que agradezco su
carifio y comprensión.

Alejandra

A MI HERMANA,
por su ayuda, sus sabios
consejos y por saber reall
mente ser una hermana.

Alfredo

A MIS TIOS, Ramón, Celia y Ma. Elena.
en quienes siempre
he concontrado
apoyo moral.

Alejandra

A la memoria de mi tío
SR. ARNULFO MORALES
y su señora madre
DONA ATANASIA DAVILA
como pequeño tributo
a su guía física y
moral desde mi naci-
miento.

Alfredo

A NUESTROS MAESTROS,
en quienes siempre encontramos
comprensión y ayuda desinteresada.

A NUESTROS COMPANEROS,
apreciando en todo lo que vale
la amistad demostrada.

Hacemos un especial reconocimiento al DR. JORGE TAY Z. , Jefe del Dpto. de Ecología Humana de la Facultad de Medicina U.N.A.M. por su valiosa colaboración prestada en la tarea de fotografiar los microorganismos identificados que aparecen en el presente trabajo.

Agradecemos mucho al
SR. J.C. RODRIGUEZ
el habernos proporcionado
gentilmente la fruta nece
saria para la investiga -
ción.

A la Comisión Nacional de Fruticultura
por darnos parte de las facilidades pa
ra la realización del presente proyecto.

INDICE

CAPITULO I

	Pag.
INTRODUCCION	
A. IMPORTANCIA DEL TEMA - - - - -	1
B. GENERALIDADES SOBRE EL PLATANO - - - - -	2
C. PRODUCCION - - - - -	5

CAPITULO II

OBJETIVO

A. DETERMINACION E IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS QUE DANAN LA CALIDAD DEL PLATANO - - - - -	8
B. DESCRIPCION DE LAS ENFERMEDADES QUE ATACAN AL PLATANO - - - - -	13

CAPITULO III

METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL

A. MANEJO DE LAS MUESTRAS EN LA PLANTACION - - - - -	26
B. ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS DEL PLATANO REALIZADO EN EL LABORATORIO - - - - -	27
C. AISIAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS QUE DETERIORAN LA CALIDAD DEL PLATANO - - - - -	30
D. PRUEBAS PREVIAS DE INOCULACION DE MICROORGANISMOS -	35
E. INOCULACION DE MICROORGANISMOS - - - - -	39

F.	RESULTADOS DE LA INOCULACION DE MICROORGANISMOS	--	44
G.	OBSERVACIONES EN EL METODO DE INOCULACION	----	55
H.	IDENTIFICACION DE LOS PRINCIPALES MICROORGANISMOS QUE DETERIORAN LA CALIDAD DEL PLATANO	-----	56

CAPITULO IV

A.	CONCLUSIONES	-----	88
B.	RESUMEN	-----	90

CAPITULO V

	BIBLIOGRAFIA	-----	91
--	--------------	-------	----

CAPITULO I

INTRODUCCION

A. IMPORTANCIA DEL TEMA

En nuestro país es de suma importancia la explotación de recursos naturales y el aprovechamiento máximo de los mismos; se hace pues necesario reducir el índice de pérdidas por enfermedades causadas por microorganismos que atacan a los productos naturales de exportación.

Uno de estos recursos, que no ha sido aprovechado en su totalidad, es el plátano, ya que su demanda es grande en el extranjero, principalmente en los Estados Unidos, Canadá y Europa. Su distribución es difícil en el mercado exterior, particularmente en Europa, esto se debe a que el plátano no llega en condiciones óptimas por el prolongado tiempo de transporte, el cual se efectúa por barco; lo mismo ocurre hacia Canadá y Estados Unidos, aunque en menor escala, ya que su transporte dura menos tiempo.

Por lo expuesto anteriormente es imprescindible encontrar un medio de represión de microorganismos que evite el rápido deterioro del plátano y mejore su calidad, pudiendo el país ofrecer un mejor producto de exportación que, por tanto, tendría más demanda, con la consecuente entrada de divisas y mejoramiento de las condiciones de cultivo.

B. GENERALIDADES SOBRE EL PLATANO

El plátano es una fruta tropical de la familia de las Musaceae, sus formas cultivadas se clasifican en dos grupos principales que son:

1. Plátanos comestibles cuando están crudos
 - a. Musa paradisiaca var. sapientum (L.) Kuntze
(M. sapientum var. paradisiaca Baker)
 - b. Musa nana Lour (M. chinensis Sweet,
M. cavendishii Lamb.)
2. Plátanos machos o para cocer
 - a. M. paradisiaca L. (11)

El plátano se origina de un tallo denominado "árbol bananero", su fruto es una baya curvada y larga, un poco prismática, trigonal y muy blanda, se encuentra cubierto de una piel correosa, amarillenta, fácil de separar. El interior es carnoso y por lo común se encuentra sin semillas, que desaparecen durante su cultivo; al alcanzar su madurez un racimo llega a tener de 5 a 20 manos, cada una con 2 a 20 frutos y éstos, a su vez, pueden tener de 6 a 35 cm. de longitud y de 2.5 a 5 cm. de diámetro, siendo su color amarillo verdoso, - amarillo, amarillo rojizo o rojo, dependiendo de la variedad.

Su color, sabor, aroma y tamaño serán bastante homogéneos bajo condiciones de suelo, clima y cultivo uniformes, - pudiendo variar grandemente el número de manos y de frutos - por mano.

En México existen diversas variedades de esta fruta, entre las principales están: roatán, enano gigante, manzano, lacatán y valery.



Tallo denominado
"árbol bananero"



Las variedades valery y enano gigante producen fruta de calidad de exportación, actualmente la propagación de estas variedades se intensifica en gran escala.

Del cultivo del plátano se obtienen muchas ventajas, ya que en la misma superficie de terreno se logran cosechar alrededor de 44 veces más en peso de plátanos que de papas y 121 veces más en peso de plátanos que de trigo, pudiéndose llegar a producir hasta dos cosechas por año, porque después de estar formada la espiga, en más o menos dos meses, la fruta se puede recolectar en cinco meses más aproximadamente.

Regularmente se cortan los plátanos todavía verdes para llevarlos a su lugar de consumo, donde se determina la maduración apropiada a la que debe llegar al consumidor. Esta vigilancia de la maduración se hace en cámaras especiales que trabajan a base de etano o de etileno.

Las cosechas que se recolectan son de las épocas de riego y temporal, éstas incluyen las variedades mejoradas del plátano.

La mayor producción a nivel mundial está dada en el hemisferio occidental por: Jamaica, Costa Rica, Guatemala, Honduras, México, Panamá, Colombia y Ecuador. En el hemisferio oriental por: Camerún, Africa Occidental Francesa, Australia y España (Islas Canarias). (11, 12)

En el presente trabajo nos ocupamos de la variedad comunmente denominada enano gigante, 3/4 lleno, proveniente, para nuestro estudio, de Tecomán, Col..

C. PRODUCCION

El panorama de producción en México y de sus exportaciones es el siguiente:

Con respecto al cultivo del plátano por estados, señalamos los resultados del ciclo primavera-verano 1976 de plátano total, que incluye las diversas variedades y variedades mejoradas en cosechas de riego y temporal.

TABLA 1
PLATANO TOTAL (+)

Estado	Superficie (Ha)	Producción (ton)	% Producción
Sinaloa	480	7 824	00.66
Nayarit	7 000	52 600	04.45
S.L.P.	300	4 750	00.40
Jalisco	3 717	72 761	06.16
Colima	12 000	240 000	20.32
Michoacán	7 000	70 000	05.93
Edo. de Mex.	257	2 621	00.22
Guanajuato	78	540	00.05
Hidalgo	240	2 640	00.22
Puebla	912	16 505	01.40
Morelos	206	1 975	00.17
Veracruz	15 160	186 300	15.78
Guerrero	3 600	52 750	04.47
Oaxaca	8 960	119 950	10.16
Chiapas	11 825	204 212	17.29
Yucatán	350	2 450	00.21
Campeche	210	630	00.05
Tabasco	7 700	142 450	12.06
TOTAL	79 995	1'180 958	100.00

(+) Necesidades nacionales de Producción Agrícola por Cultivos. Ciclo Primavera-Verano (1976-76). DGA - Dpto. Planeación Agrícola, México. Núm. 3 Enero 1976.

TABLA 2

PLATANO DIVERSAS VARIEDADES 1971-75 (++)

Año	Superficie cosechada (Ha)	Producción (ton)	Consumo Nacional (ton)
1971	49 417	696 436	696 436
1972	62 949	1 011 325	1 011 325
1973	58 746	943 548	943 548
1974	62 521	1 010 561	1 010 561
1975	61 037	1 186 071	1 186 071

TABLA 3

PLATANO TOTAL VARIEDADES MEJORADAS 1976-76 (+++)

Estado	Superficie (Ha)	Rendimiento (Kg/Ha)	Producción (ton)
Nayarit	6 100	8 033	49 000
Jalisco	3 717	19 575	72 761
Guanaajuato	75	7 000	525
Guerrero	2 700	16 370	44 200
Oaxaca	100	15 100	1 510
Chiapas	7 000	23 315	163 200
TOTAL	19 692	16 819	331 196

(++) Consumos Aparentes 1971-75, S.A.G. - D.G.E.A.

(+++) DGA - Dpto. Planeación Agrícola (1976-76)

TABLA 4

PLATANOS FRESCOS EN RACIMO DE CUALQUIER NUMERO DE
GAJOS O ENVASADOS (++++)

E x p o r t a c i o n e s

Año	País	Rcno.	Valor en pesos
1970	E.U.	74 364	511 507
1971	E.U.	25 709	173 115
1972	E.U.	81 693	509 787
1973	E.U.	54 493	363 263
1974	E.U.	33 503	229 163
	Canadá	10	250
1976	E.U.	9,842,873.276 (Kg)	11 618 070.78

(++++) Anuarios Estadísticos (1970, 1971, 1972, 1973,
1974, 1976) Secretaría de Industria y Comercio.

CAPITULO II

OBJETIVO

A. DETERMINACION E IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS QUE DANAN LA CALIDAD DEL PLATANO

Los alimentos deben su descomposición a varios factores, los principales son:

1. El crecimiento y la actividad de los microorganismos, especialmente mohos, levaduras y bacterias.
2. La actividad de las enzimas naturales de los alimentos.
3. Las aves, insectos, parásitos y roedores.
4. La temperatura, tanto alta como baja.
5. La humedad y sequedad.
6. El aire y más particularmente el oxígeno.
7. La luz.
8. El tiempo.
9. Otros, como el mal manejo, golpes, etc.

Ante esto el hombre siempre ha mostrado una creciente preocupación por encontrar la manera de conservar en óptimas condiciones a los alimentos; cada uno de estos factores es importante y su escala de interés depende del alimento en especial de que se trate.

En el presente trabajo de investigación se estudia la descomposición debida al crecimiento y actividad de los microorganismos en el plátano, pues aunque no es el único factor responsable de la mala calidad de los lotes, si el más relevante.

Desde el momento en que las frutas se cosechan (o aún antes) hasta el momento en que llegan al consumidor, sufren contaminaciones o infecciones causadas durante la época de cultivo, o por heridas producidas en la cosecha, empaque, industrialización y transporte de la fruta, esto hace que disminuyan sus diversos tipos de calidad, entre ellos:

Calidad nutricional: se afecta debido a que los microorganismos atacan prácticamente a todos sus componentes nutritivos, fermentando sus azúcares e hidrolizando los almidones, grasas y proteínas.

Calidad sanitaria: porque el descuido hace que se contaminen con lo que tienen a su alrededor, y además el mal manejo provoca que la piel se debilite o rompa, penetrando más fácilmente los microorganismos y favoreciendo así los medios para su reproducción.

Calidad de conservación: porque debido a la gran contaminación presente, y al maltrato que ha sufrido la fruta en el momento de almacenarse, gran parte de ella debe desecharse por el estado en que se encuentra, sufriendose considerables pérdidas.

Debido a esa contaminación, los microorganismos causan lesiones que se manifiestan como manchas y pudriciones.

Todo lo anterior hace que disminuya la aceptación de la fruta por el consumidor.

Se calcula que en el plátano el porcentaje de fruta - que se pierde es del 15% al 85% (40), esto varía de acuerdo a las enfermedades que lo ataquen, y a las condiciones de -- cultivo y manejo.

Se ve entonces la necesidad de hacer una investigación sobre la identificación de estos microorganismos, para poste riormente poderlos combatir de manera conveniente. Así, no - sólo se logrará mejorar el consumo interno del país, sino - que al obtener un plátano en óptima calidad se tendría una - mayor aceptación en el mercado exterior, beneficiándose gran demente la nación, ya que México ocupa, a nivel mundial, un lugar prominente en la producción de plátano.

En otros países productores de plátano se han hecho es tudios sobre las especies fungales que los atacan en las eta pas que van desde el desarrollo de los frutos hasta el trans porte y empaquetado; los resultados encontrados de acuerdo a sus condiciones climatológicas, suelo y manejo son las si -- guientes:

a. Las especies fungales que atacan durante el desa rrollo de los frutos son:

Trachysphaera fructigena, que invade los frutos muy - jóvenes provocándoles inmediatamente serios daños; Scleroti nia sclerotium, Botrytis cinerea y Stachylidium theobromae - parasitan los frutos verdes ya bien desarrollados. Otros hon gos como Deightoniella torulosa, Macrophoma musae, Pyricula ria grisea, se desarrollan débilmente sobre los frutos ver des. Existen otras especies que también habitan sobre los -- frutos verdes y se vuelven activas cuando las condiciones - les son favorables, es decir, cuando el fruto está herido o

maduro, tales son: Fusarium roseum, Colletotrichum musae --
(Gloeosporium musarum), Botryodiplodia theobromae, Cladosporium sp., etc. (16 , 17 , 23 , 40)

b. Las infecciones durante la recolecta de los frutos se deben a las especies:

Botryodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, --
Stachylidium theobromae, etc. Estas especies colonizan --
rápidamente los tejidos de los cojines y la base de los pe -
dúnculos. (23)

c. Las infecciones durante el empaquetado son causadas por:

Fusarium roseum, Stachylidium theobromae, Colletotri -
chum musae (Gloeosporium musarum), Botryodiplodia theobromae,
Mucor sp., Trichoderma viride, Cladosporium sp., Thielaviop -
sis paradoxa, Deightoniella torulosa.

Estas infecciones no son diferentes a las que surgen -
durante el curso de la cosecha y se presentan por las heri -
das, por los instrumentos de corte, y por las aguas de lava -
do con una carga masiva de esporas. Las especies son más ac -
tivas en la superficie y dentro de los tejidos heridos. (16 ,
19 , 23 , 40)

d. Las infecciones que aparecen durante el transporte:

Aún cuando el transporte se mantiene a una baja tempe -
ratura, hay crecimiento de las siguientes especies: Colleto -
trichum musae, Thielaviopsis paradoxa, Fusarium roseum, --
Nigrospora oryzae, Botryodiplodia theobromae, Deightoniella
torulosa, etc. (16 , 19 , 23 , 40)

e. Las infecciones que aparecen durante la maduración:

Se deben al mal manejo que ha sufrido el plátano durante las operaciones anteriores, así, por ejemplo, el mango o asta del plátano en el tiempo de transporte en racimos se coloniza rápidamente por: Botryodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa y Colletotrichum musae; la extensión de la zona podrida puede ir hasta los cojinetes, los que son --- susceptibles, además, de ser invadidos si las precauciones no son buenas, por: Fusarium roseum, Stachylidium theobromae, Colletotrichum musae, etc.

Al terminar la maduración la pudrición se hace completa y llega hasta el pedúnculo. La pudrición en la pulpa se produce cuando se asocian las especies: Deightonella torulosa, Fusarium roseum, Botryodiplodia theobromae, etc.

Los plátanos verdes son menos sensibles a los ataques fúngicos y se cree que se debe a que en su epidermis se encuentran sustancias fungitóxicas activas. (16, 17, 23, 40)

B. DESCRIPCION DE LAS ENFERMEDADES QUE ATACAN

AL PLATANO

1. Enfermedades en la hoja.

a. Manchas grises con bordes rojos y halo amarillo sobre las hojas, son causadas por Mycosphaerella musicola. (16, 17)

b. Síntomas de marchitez, empezando en el borde de la hoja, amarilleo y muerte descendente, la causa es Fusarium oxysporum f. cubense. (11, 16, 17)

c. Crecimiento achaparrado, las hojas permanecen erguidas, en su revés aparecen rayas sobre las nervaduras, esta es la enfermedad denominada "Bunchy top" (extremo arracimado). (16)

d. Amarilleo paulatino, seguido de síntomas de marchitez, es debido a Pellicularia filamentosa. (16)

e. Amarilleo con rayas pardas es causado por Pseudomonas celebensis. (16)

2. Enfermedades en el tronco.

a. Grietas en el tronco a nivel de la tierra, son causadas por Fusarium oxysporum f. cubense. (16, 17)

b. Los vasos vasculares están descoloridos, sale una masa podrida, esto se debe al ataque de Pseudomonas solanacearum. (16)

c. Enfermedad Bonny gate.

Es debida a la presencia de Sphaerostilbe musarum Ash-
ley, y ataca la base del tallo. (16)

d. Pudrición de Colombia del extremo del tallo.

Causada por Gloeosporium musarum Cke. & Mass., ataca -
la fruta en crecimiento o maduración. Se presenta en los tró-
picos americanos, Africa, Asia, área del Caribe. (11)

3. Enfermedades en el fruto.

a. Mal de Panamá o marchitez de la platanera.

Es la enfermedad más importante del plátano y la más -
destruictiva, la ocasiona la presencia del hongo Fusarium -
oxysporum f. cubense (E.F.Sm.) Snyd y Hansen, en los tejidos
vasculares, los cuales presentan coloraciones amarillas, ro-
jas o pardas, dependiendo del avance de la enfermedad. El -
primer síntoma es el amarilleo de las hojas, desde el borde
hacia el nervio central de las mismas, los pecioloos se encor-
van y las hojas cuelgan.

El tronco presenta grietas longitudinales en la base -
de las hojas exteriores, directamente a nivel de la tierra.
El tejido de la raíz se destruye y el tronco cae con el vien-
to.

Los racimos se desarrollan en forma anormal y maduran
prematuramente. Los frutos adquieren la forma de cuello de -
botella, maduran rápido e irregularmente, mientras que la -
pulpa se torna espumosa, amarga y amarilla.

Los estudios revelan que la marchitez de la planta se debe a las sustancias tóxicas producidas por el hongo y transportadas por el huésped, es decir, a la producción de ácido fusárico que cambia la permeabilidad de la membrana del protoplasma de las células, dando lugar a la falta de agua.

La incidencia de esta enfermedad depende de la variedad de la planta, edad, condiciones ambientales, propiedades físicas del suelo y nivel de nutrientes del terreno.

Una de las variedades más susceptibles a esta enfermedad es el roatán, por lo que se viene sustituyendo con variedades resistentes como valery y enano gigante.

Las regiones afectadas son: Sureste de Asia, área del Caribe, Africa y zona tropical de América. (11 , 16 , 17 , 22)

b. Pudrición de la corona.

Esta es la enfermedad que se presenta más frecuentemente cuando se empaca la fruta en manos.

Los síntomas son un ablandamiento y ennegrecimiento de la superficie de la corona, esparciéndose una hifa blanca grisácea en el tejido que se ha ennegrecido a los 7 días de transporte, y si este excede de los 14 días se esparce aún más rápidamente durante la maduración hacia los pedicelos de los dedos.

Esta pudrición no se distribuye en todas las manos, habiendo manos sanas y enfermas en una misma caja. De acuerdo con Lukezic (1967) se debe a la variación en la flora de la corona.

Los organismos causantes de pudrición severa son: --
Botryodiplodia theobromae, Gloeosporium musarum (Colletotri-

chum musae), Deightoniella torulosa, Thielaviopsis (Cerato - cystis) paradoxa; de pudrición moderada: Fusarium roseum -- "Gibbosum"; además existen otros microorganismos suscepti -- bles de causar pudrición en la corona, entre ellos: Cephalosporium sp., Verticillium theobromae y Fusarium moniliforme -- (Gibberella fujikuroi).

Estos hongos son habitantes comunes y esporulan sobre flores marchitas y hojas de los plátanos. Las esporas se -- transportan por aire o goteo de lluvia a la superficie de la corona antes de la cosecha y son transportadas sobre el teji -- do por medio del manejo del cuchillo, o por la flora del -- agua de lavado que se usó para remover el látex. Algunas de estas esporas se mueven a cortas distancias en el sistema -- vascular, germinando y causando pudrición.

Esta enfermedad adquiere mínima importancia cuando el empaclado de las manos se efectúa con medidas de sanidad y -- cuando el intervalo entre cosecha y refrigeración es menor -- de 48 h., y el tiempo de transporte es menor de 10 días. (16 , 19 , 40)

c. Pudrición del extremo del pedúnculo o pudrición -- del cuello.

A veces esta pudrición es motivada por la invasión de Ceratocystis paradoxa y Botryodiplodia theobromae, debida a daño mecánico en el pedicelo durante la cosecha y en opera -- ciones posteriores, este daño, además, provee una entrada pa -- ra Colletotrichum musae y puede aparecer una pudrición secun -- daria por Fusarium.

Los ataques severos de esta enfermedad son producidos

por Pyricularia grisea, que dan por resultado una caída del dedo si las lesiones son profundas, hay que hacer notar que la caída del dedo puede deberse también a causas no fungales.

Esta enfermedad se nota cuando, sobre el pedúnculo cortado, una pudrición negra ataca al pedicelo, el cual se debilita y hace que el dedo caiga al no soportar su peso, un tejido negro, húmedo, muy visible, aparece donde los pedicelos son atacados.

En presencia de humedad las esporas rojas de Colletotrichum musae pueden presentarse en el tejido ennegrecido, tanto del pedúnculo como en una pequeña porción del dedo. (40)

d. Pudrición negra del plátano.

Es causada por el hongo Endoconidiophora paradoxa, la infección en los frutos verdes se presenta como pequeñas manchas negras en el extremo de la fruta, cerca del punto de adherencia al cojín. Los cojinetes y el tallo principal también pueden presentar manchas similares. No se presenta crecimiento del hongo en la superficie de la fruta.

Cuando la fruta empieza a madurar, las áreas infectadas se vuelven café con bordes ligeramente embebidos en agua. Generalmente la parte comestible del fruto no se ve afectada, pero el manchado dificulta su venta.

El hongo se introduce al racimo a través de las puntas y la cabeza de los tallos, durante la cosecha de la fruta, una infección severa hace que se caiga del racimo un 10% a 25% de la fruta durante su maduración o venta.

Esta enfermedad se localiza en todos los lugares en que cultivan plátanos. (40)

e. Extremos ennegrecidos, Punta negra o Punta de cigarrero.

Esta enfermedad es causada por el hongo Deightoniella torulosa (Syd) Ellis (igual a Helminthosporium torulosum [Syd] Ashley).

Ocasiona la pudrición del fruto y también del pseudotallo, los bordes de las lesiones son de color gris o ligeramente amarillentos. Un lado del fruto puede resultar más afectado que otro. A medida que progresa la infección, los tejidos invadidos se ennegrecen y los frutos ya no se desarrollan normalmente, perdiéndose. (17, 40)

f. Corazón rojo.

Es causada por el hongo Fusarium moniliforme Sheld y por bacterias. (11)

g. Pudrición del pedúnculo principal.

Es causada por el hongo Ceratocystis paradoxa (Thielaviopsis paradoxa) que produce una pudrición rápida en el tejido del cuello del racimo y cuello de la corona. También están involucrados los hongos Botryodiplodia theobromae y Colletotrichum musae, éstos se encuentran presentes en los pedúnculos principales que están podridos, junto con C. paradoxa, que puede infectar al pedúnculo sólo a través del viento y cuando la fruta no es refrigerada rápidamente.

Los síntomas son pudrición negra suave en el cuello del racimo, acompañada de olor dulce característico. Únicamente se extiende hasta la primera o segunda manos arriba del racimo. El tejido podrido se cubre de una capa de hifa negra grisácea y la pudrición pasa a la corona, pedicelos y

fruta de manos individuales. La caída del dedo ocurre por debilitamiento de la corona infectada.

Cuando el hongo causal es C. paradoxa la piel se vuelve negra y la pulpa es negra pardusca, suave y húmeda. Si la pudrición es severa la fruta madura más rápidamente.

La incidencia de esta enfermedad varía mucho de un país a otro, tuvo gran importancia cuando la fruta se transportaba colgada, pero desde que los plátanos se embarcan como racimos en el comercio mundial, no reviste gran importancia. (16, 40)

h. Sigatoka o "Chamusco".

Su causa es el hongo Mycosphaerella musícola Leach - estado imperfecto, Cercospora musae Zimm.

Los primeros síntomas se aprecian sobre las hojas: en ellas aparecen manchas de color amarillo claro o verde pardusco, que se extienden elípticamente a lo largo de las nervaduras. Más tarde las manchas se oscurecen y adquieren un color pardo turbio que tiende a negro, con centro gris claro en el que se presentan numerosas manchitas negras. El borde de las manchas es gomoso y de color amarillo claro.

Los racimos tienen un tamaño relativamente pequeño y maduran prematuramente, los que no están maduros dejan de formar los frutos, y los dedos de estos racimos tienen un tamaño pequeño y forma angular.

La posibilidad de almacenar los frutos infectados es muy reducida y generalmente la calidad de los mismos queda seriamente afectada.

Esta enfermedad se da en todo el mundo y su importancia económica es variable. (16, 17)

i. Antracnosis.

Existen dos tipos de antracnosis en el plátano: la latente, que permanece en la fruta verde hasta que empieza la maduración, y la no latente, debida a la invasión de Colletotrichum musae sobre la fruta verde en transporte.

En la fruta amarilla los síntomas son manchas cafés - que se incrementan radialmente conforme progresa la maduración. La enfermedad afecta la pulpa sólo a temperaturas elevadas en las cámaras de maduración, o cuando la fruta está - sobremadura. A veces hay pudrición en la punta, y la pulpa - se convierte en una masa podrida y húmeda.

Sobre la fruta verde aparecen manchas lenticulares o - en forma de diamante con un halo amarillo.

Los hongos causantes de la antracnosis son: Colletotrichum musae, llamado formalmente Gloeosporium musarum Arx -- (1957 a,b); y ocasionalmente Verticillium sp.

Las conidias de C. musae se encuentran abundantemente en las hojas de los plátanos viejos durante el período de - secado, sus esporas nacen en el aire durante periodos de cli - ma lluvioso, como resultado de la dispersión de conidias del acérvulo, las esporas depositadas sobre la fruta verde germi - nan en una capa de agua en 4 h. . C. musae no se domina des - pués de infectado el racimo.

La antracnosis se manifiesta en las plantaciones y -- principalmente cuando los racimos transportados sufren contu - siones y rozaduras.

Fué una enfermedad de importancia cuando la fruta se - transportaba en racimos y se manejaba rudimentariamente, -- ahora que la fruta se maneja apropiadamente, ya no es tan -- importante esta enfermedad.

Si las condiciones son apropiadas, un pequeño porcentaje de enfermedades latentes se presentan en lesiones típicas de antracnosis cuando el tiempo de transporte excede a los - 14 días. (16 ,17 ,40)

j. Pudrición del dedo por Botryodiplodia.

La pudrición es causada por Botryodiplodia theobromae (Diplodia musae), es una enfermedad seria en el transporte - de plátanos en cajas, especialmente cuando el transporte se excede en más de 14 días.

La infección puede empezar en el final de la flor marchita y se esparce uniformemente causando una coloración negra o pardusca sobre la piel, hay ablandamiento de la pulpa. Durante la maduración de la fruta la enfermedad se esparce - rápidamente. El dedo entero puede ser reducido a una masa -- suave y podrida, la piel se torna arrugada y se cubre con -- una capa de hifas con picnidios. La enfermedad puede o no esparcirse en los dedos adyacentes. Los racimos afectados maduran rápidamente.

Las esporas se producen en la vegetación marchita de - los plátanos y son diseminadas por el viento y el agua. La - pudrición es severa a temperaturas tropicales de 26°C - 29°C. (40)

k. Manchado del fruto.

Es causado por Pyricularia grisea, Deightoniella torulosa y Colletotrichum musae. Es una enfermedad seria en pre y post cosecha debido a la naturaleza latente de algunas de las infecciones. La infección ocurre antes de la cosecha, --

pero aparece en el transporte y se incrementa en la madura -
ción; en general, la cantidad de aparición en el transporte
está relacionada con la cantidad presente en la cosecha.

Sus síntomas son manchas dispersas en la cáscara del -
fruto y es difícil su tratamiento, debido a que el tamaño y
lo compacto de los dedos causan un cubrimiento de las manos,
lo que provoca la protección de la hifa que contiene el apre-
sorio. (16 ,40)

1. Escaldado por hongos.

Es un ablandamiento que superficialmente recuerda a la
antracnosis y es causado por el mismo hongo, C. musae. Esta
enfermedad se asocia con el empaque a atmósferas reguladas -
(Bardran, 1969) y aparece en las puntas de la fruta empacada
en cajas con polietileno.

Los síntomas sobre la fruta verde son puntos hundidos
café rojizos, causados por C. musae y son seguidos por F. ro-
seum cerca de las puntas de los dedos y sobre los racimos -
del fondo de la caja, las áreas afectadas se incrementan en
tamaño durante la maduración.

La incidencia varía grandemente de un área y de una -
estación a otra. Sólo es importante en empaques de atmósfera
regulada en los cuales arriba del 40% de los racimos son --
afectados cuando el tiempo de transporte es mayor de 14 días.
(40)

m. Podredumbre húmeda.

Es causada por la invasión en el dedo de Nigrospora sphaerica conocido como Nigrospora musae, bajo el sinónimo de Nigrospora maydis por Jechová (1963). Las esporas de este hongo están en el aire de las plantaciones (Meredith, 1961) y en las estaciones de empacado donde se lavan con agua, pero la fruta sólo es invadida a través del aire.

Los síntomas son un obscurecimiento de la pulpa, originado a partir del cuello o final del ápice del dedo; la pulpa se convierte en una masa líquida dulce que se derrama al presionar la piel. No hay síntomas visibles en la fruta verde.

Es más común cuando los dedos se empacan solos, el peciolo dañado frecuentemente provee la entrada de la enfermedad.

Es una rara enfermedad fuera de Queensland y New South Wales, Australia y está asociada con temperaturas invernales abajo de la óptima para el crecimiento de los plátanos. --- Jechová (1963) reportó podredumbre húmeda sobre fruta de --- Checoslovaquia importada de Guinea. (16 , 40)

n. Pudrición del dedo por Trachysphaera.

Es también una rara enfermedad, reportada solamente en fruta Gros Michel proveniente de Camerún, y Lacatán de Jamaica cuando se madura en Inglaterra en cuartos con fruta de --- Camerún.

El organismo causante es Trachysphaera fructígena, hongo usualmente restringido al final de la flor en la fruta --- del Africa del oeste, donde se considera como uno de los ---

organismos causantes de la enfermedad de punta de cigarro. - En algunas ocasiones la infección puede extenderse a través del dedo (Brun y Merny, 1947) y caer sobre plátanos en cuartos de maduración (Meredith, 1960).

Los síntomas sobre fruta verde son pudrición negra -- extensiva en 5 días a 16.4°C - 20.9°C. La conidia se produce en abundancia sobre las manchas cafés. La pudrición es un tipo de secado con tendencia a volverse arrugado y fibroso.

No hay invasión de la corona a partir de dedos enfermos de acuerdo a Meredith (1960), sin embargo Buxton et. al. (1963) describe en Inglaterra a Trachysphaera como causa de severa pudrición en la corona en cuartos de maduración cuando los plátanos se almacenan con fruta de Camerún. (40)

De las enfermedades causadas por bacterias podemos mencionar:

o. Enfermedad de Moko o marchitez bacteriana.

Se debe al bloqueo del sistema vascular ocasionado por los metabolitos del patógeno Pseudomonas solanacearum E. F. Smith, esta marchitez bacteriana aparece en algunos lugares de humedad elevada, los síntomas corresponden a los de las enfermedades vasculares, como son: falta de desarrollo, marchitez, ennegrecimiento de los tejidos vasculares y lesiones oscuras o rajaduras en tallos o frutos y escurrimientos gomosos.

Al principio las hojas se ponen amarillas y se rompen, el tronco y el rizoma adquieren un color amarillo pardo. En

caso de que haya fructificación, se desarrollan manos que maduran prematuramente y cuyos frutos tienen manchas negras, - más tarde empieza la podredumbre seca.

La infección se produce a través de las raíces y el medio de contagio más importante es el empleo de machetes contaminados; también se debe a insectos.

Esta enfermedad se encuentra prácticamente en todas - las áreas dedicadas al cultivo del plátano. (11 ,16 ,17 ,22)

p. Enfermedad de la sangre.

Es causada por la bacteria Pseudomonas celebensis que vive en el suelo e infecta a la planta a través de las raíces.

Sobre las hojas aparecen pequeñas rayas de color pardo después de que se ha desarrollado la inflorescencia. Al evolucionar el fruto, la parte apical de la hoja amarillea y -- acaba por morir. Los frutos también amarillean, su pulpa se descompone y forma una masa mucilaginosa de color rojo. (16)

q. Podredumbre del corazón y de la raíz.

Esta podredumbre es causada por Erwinia carotovora.(16)

CAPITULO III

METODOS Y PARTE EXPERIMENTAL

A. MANEJO DE LAS MUESTRAS EN LA PLANTACION

El estudio se hizo en muestras provenientes de Tecomán, Colima, uno de los estados donde la producción de plátano es mayor; se minimizaron lo más posible las contaminaciones por transporte y almacenamiento, de manera que sólo se estudiaron los microorganismos que hay después de la cosecha.

Para realizar el muestreo en la plantación se trataron de seguir normas estadísticas, tomando como referencia los puntos cardinales y el centro de la plantación, se tomó una separación de aproximadamente 100 m. entre cada punto, y se cortaron racimos de diferente grado de madurez en cada lugar.

La fruta se transportó directamente de la huerta a la empacadora, en donde se desmanillaron los racimos teniendo cuidado de que no se mezclaran unos con otros; cada racimo se dividió en dos porciones:

Primera porción: fruta sin lavar, de la cual se hizo el aislamiento de microorganismos.

Segunda porción: fruta lavada con agua corriente, se aplicó el lavado para eliminar el látex.

Después de los tratamientos que se le hicieron a la fruta, y para que llegara en las mejores condiciones posibles al laboratorio, se envolvió cada mano en papel de estraza y se etiquetó, empacándose después en cajas de madera para su traslado.

B. ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS DEL PLÁTANO
REALIZADO EN EL LABORATORIO.

El plátano contiene una gran cantidad de microorganismos, y para su estudio es necesario aislarlos. Para evaluar el contenido de microorganismos presentes se utilizó plátano lavado de madurez 3/4 lleno, y de acuerdo a los experimentos realizados, se determinó que las diluciones y los medios de cultivo más adecuados fueron:

1. Diluciones:

- a. 1:1000
- b. 1:10,000
- c. 1:100,000

El vehículo usado fué agua peptonada al 1% estéril. (38)

2. Medios:

a. Gelosa triptona extracto de levadura, con tiempo de incubación de 24 h. y a una temperatura de 28°C.

b. Sabouraud-Rosa de Bengala-Estreptomicina, con un tiempo de incubación de 72 h. y a una temperatura de 28°C.

Las claves utilizadas para denotar la cuenta estándar por plátano son las siguientes:

G = Gelosa triptona extracto de levadura

B = Bacterias

S = Sabouraud-Rosa de Bengala-Estreptomicina

H = Hongos

Las pruebas para cuenta estándar se efectuaron por duplicado, dejando un testigo sin inocular.

NORTE

	G	G	S	S
Dilución	B	B	H	H
10^{-3}	400	300	800	600
10^{-4}	100	100	100	100
10^{-5}	23	20	28	30

SUR

	G	G	S	S
Dilución	B	B	H	H
10^{-3}	400	300	300	300
10^{-4}	100	100	100	100
10^{-5}	5	3	33	33

ORIENTE

	G	G	S	S
Dilución	B	B	H	H
10^{-3}	3 000	2 800	700	600
10^{-4}	1 500	1 200	100	100
10^{-5}	300	200	36	30

PONIENTE

	G	G	S	S
Dilución	B	B	H	H
10^{-3}	1 800	1 600	1 100	1 000
10^{-4}	500	400	100	200
10^{-5}	100	100	40	56
10^{-6}	5	3	0	0

Dilución	CENTRO			
	G	G	S	S
	B	B	H	H
10^{-3}	3 800	3 000	1 000	700
10^{-4}	1 700	1 300	100	100
10^{-5}	600	400	30	35

C. AISLAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS QUE DETERIORAN LA CALIDAD DEL PLÁTANO.

El estudio se dividió en tres partes: la primera consta del aislamiento de los microorganismos dañinos para el plátano, la segunda es la comprobación de la enfermedad, y la tercera es la identificación de los microorganismos más importantes.

1. Análisis de los microorganismos dañinos para el plátano.

Se cortaron de la fruta infectada las manchas debidas a la incidencia de los microorganismos patógenos en la corona, en el pedúnculo, en el fruto y en la parte floral, sin juntar las manchas, cada una de éstas se cortó en cinco pedacitos, los cuales se lavaron una vez con 20 ml. de hipoclorito de sodio al 1% estéril y cuatro veces con 20 ml. de agua destilada estéril, con objeto de tener cepas aisladas de los microorganismos que deterioran la calidad del plátano.

Cada uno de los pedacitos se sembró en medios diferentes, los medios usados fueron:

	INCUBACION	
	T(°C)	t(h)
a. Gelosa triptona extracto de levadura	28	48
b. Sabouraud	28	72
c. Patata glucosa	28	72
d. Cáscara y pulpa de plátano	28	72
e. Pulpa de plátano	28	72

Los resultados revelan que se obtiene, de cada pedazo, un máximo de tres colonias, y que es conveniente usar los diferentes medios porque no todos favorecen al mismo tipo de microorganismos. Por otro lado, se observó que las colonias son más grandes en los medios de pulpa y cáscara y pulpa de

plátano, observándose que favorecen tanto a hongos como a bacterias, debido a que se encuentran en un medio similar a su medio nativo.

Adicionando fungistáticos o bactericidas es muy probable que se obtenga un buen medio selectivo.

Los medios a, b y c son medios reproducibles porque contienen sustancias complejas cuya composición química precisa es desconocida, pero son manufacturados por procedimientos estándar y el producto proveniente del manufacturado es razonablemente constante en un período de tiempo, además, el mismo material es igual en todos los laboratorios.

Los medios d y e, son una mezcla de medio reproducible (por lo expuesto anteriormente) y no reproducible, porque utilizan para su manufactura fruta (en este caso plátano) y la composición del sustrato varía, se usan para que se vean favorecidos los microorganismos naturales del plátano, tanto hongos como bacterias. (37)

Ambos medios se hicieron al pH natural del plátano y su composición es la siguiente:

CASCARA Y PULPA DE PLATANO

Plátanos con cáscara (molidos)	350 ml.
Glucosa	10 g.
Agar	15 g.
Agua destilada	aforo a 1 l.

Se muelen en licuadora los plátanos con todo y cáscara, y se pasan a través de una criba de tela de alambre de aproximadamente 2 mm. de tamaño de malla, con el fin de obtener una masa homogénea, se les adiciona la glucosa y el agar, se afora a un litro, el medio se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 15 lb. (121°C). La reacción final del -

medio será de pH 6.3 .

PULPA DE PLATANO

Pulpa de plátano	350 ml.
Glucosa	10 g.
Agar	15 g.
Agua destilada	aforo a 1 l.

La pulpa se muele en licuadora y se pasa a través de una criba de tela de alambre de aproximadamente 2 mm. de tamaño de malla, con el fin de obtener una masa homogénea, se le adiciona la glucosa y el agar, se afora a un litro con agua destilada; el medio se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 15 lb. (121°C). La reacción final del medio será de pH 6.

Para hacer el estudio de los microorganismos patógenos del plátano se tomó en cuenta todo lo que está en contacto con el fruto, así pues se hizo también:

2. Análisis de aire en la plantación.

Una vez que el fruto tiene la madurez requerida se corta el racimo de plátanos y el tallo, el cual se deja al medio ambiente en la plantación, esto ocasiona que al pudrir se haya una mayor proliferación de microorganismos y que se difundan fácilmente por el aire.

De este análisis se aislaron 13 hongos y 4 bacterias, que se conservaron en tubos de Sabouraud y gelosa nutritiva.

3. Análisis de aire en el área de trabajo.

Las condiciones de higiene y limpieza en el área de trabajo son de gran importancia para la calidad del plátano,

de ello va a depender que los focos de infección disminuyan y que la atmósfera circundante no sea dañina para la fruta.

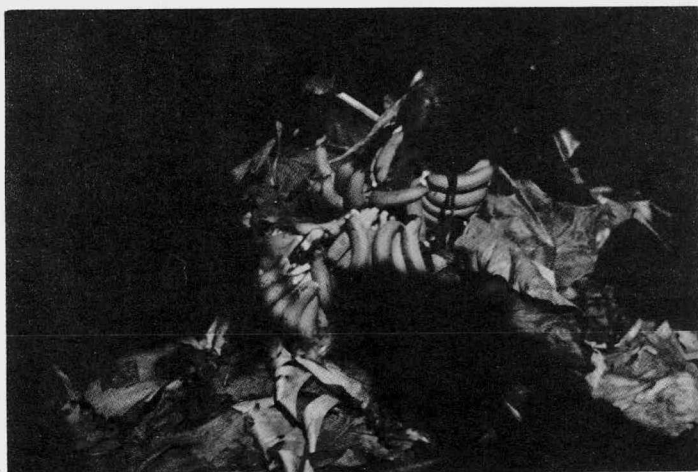
De este análisis se obtuvieron 6 hongos y 5 bacterias, los que se conservaron en tubos de Sabouraud y gelosa nutritiva.

4. Análisis del agua de lavado de la fruta.

Después de ser cortados los racimos de plátanos, se desmanillaron en la empacadora y se lavaron perfectamente para quitarles el látex; el lavado se hizo con agua corriente, de la cual se tomaron muestras para el análisis microbiológico. Únicamente se hizo el análisis para determinar si el agua de lavado tenía hongos, ya que el tiempo entre toma de muestras y su análisis es mayor del requerido en las bacterias, dando lugar a determinaciones falsas.

El resultado del análisis dió cero hongos.

Se aislaron en total 200 cepas de hongos y 63 de bacterias, que se conservaron en tubos de ensayo con los siguientes medios de cultivo: Gelosa triptona extracto de levadura (para bacterias) y Sabouraud glucosado sólido (para hongos).



Una vez que se ha recolectado el plátano, su tallo y las hojas son abandonados en el área de cultivo.



Plátano lavado en diferentes fases de maduración.

D. PRUEBAS PREVIAS DE INOCULACION DE MICROORGANISMOS.

Las cepas aisladas del plátano dañado, y de todo lo que está en contacto con el fruto, se resemebraron para que tuvieran la misma edad y se pudieran agrupar.

Los hongos se resemebraron en tubos de Sabourarud sobre la superficie del medio en un solo punto, procurando que el tamaño de inóculo fuera el mismo para todos y que estuviera a igual altura en el tubo; el tiempo de incubación fué de dos semanas a 28°C.

Su agrupación se hizo de acuerdo a la semejanza morfológica de las colonias, es decir, tomando en cuenta:

1. Forma de la colonia.
 - a. Tipo y largo del micelio.
 - b. Cantidad de crecimiento.
 - c. Características de su crecimiento.
 - d. Humedad de la colonia.
2. Color de la colonia por encima y debajo del medio.
3. Cambios de coloración en el medio de cultivo.

De las 200 cepas aisladas resultaron 143 grupos de hongos diferentes, lo ideal hubiera sido hacer también un examen "directo" al microscopio de cada una de ellas para agruparlas, pero como el número de cepas fué muy grande, se suprimió este paso y se inoculó en plátano sano una cepa representativa de cada grupo.

Las bacterias se resemebraron por estría en tubos con medio de gelosa para obtener cultivos jóvenes y se les hizo tinción de Gram. Debido a que hay una mayor dificultad en agruparlas, y como su número era pequeño, se decidió inocular todas las cepas.

Para efectuar la inoculación por un método apropiado a la fruta en cuestión, se hizo un experimento piloto, con 5 hongos y 5 bacterias, usando fruta de una variedad común en el mercado, ya que en la Capital no se encuentra la variedad enano gigante, porque en su totalidad se distribuye a Guadalajara, Jal. (+), ni se encontró la variedad lacatán, que está muy relacionada con el grupo enano. (11)

La variedad escogida para el experimento fué Tabasco - Tabasco, el proceso para su esterilización fué el siguiente:

1) Los plátanos se desmanillaron y lavaron con jabón y agua para quitarles el látex, la tierra y la flor seca del extremo final del plátano.

En un área estéril se efectuaron los pasos siguientes:

2) Se sumergieron en alcohol al 70% de uno a dos min.

3) Se sumergieron durante dos minutos en cloruro mer - cúrico al 1% estéril.

4) Se les dieron dos lavados de dos minutos cada uno con agua destilada estéril.

5) Se secaron con papel filtro estéril.

Una vez estériles los plátanos se procedió a inocularlos en las zonas de prueba (corona, fruto, cicatriz floral), para determinar cuál de los métodos siguientes era el más apropiado, y poderlo así aplicar con seguridad.

a) Utilización de frascos de vidrio.

Los plátanos se inocularon por duplicado y se guardaron en frascos de vidrio estériles, tapados con "parafilm", cuyo tamaño de poro hace que penetre el aire libre de microorganismos.

(+) Información proporcionada por "Unión Platanera", 1977. Tecomán, Col.

b) Utilización de bolsas de papel.

Los plátanos inoculados por duplicado fueron guardados en bolsas de papel de estraza.

Para cada cepa se inocularon dos pares de plátanos, un par por el método de hisopo y el otro par por el método de rasgado (el tratamiento de los inóculos se describirá posteriormente).

Cada par se inoculó, depositando de un lado del plátano el hongo, y del otro lado del mismo plátano la bacteria.

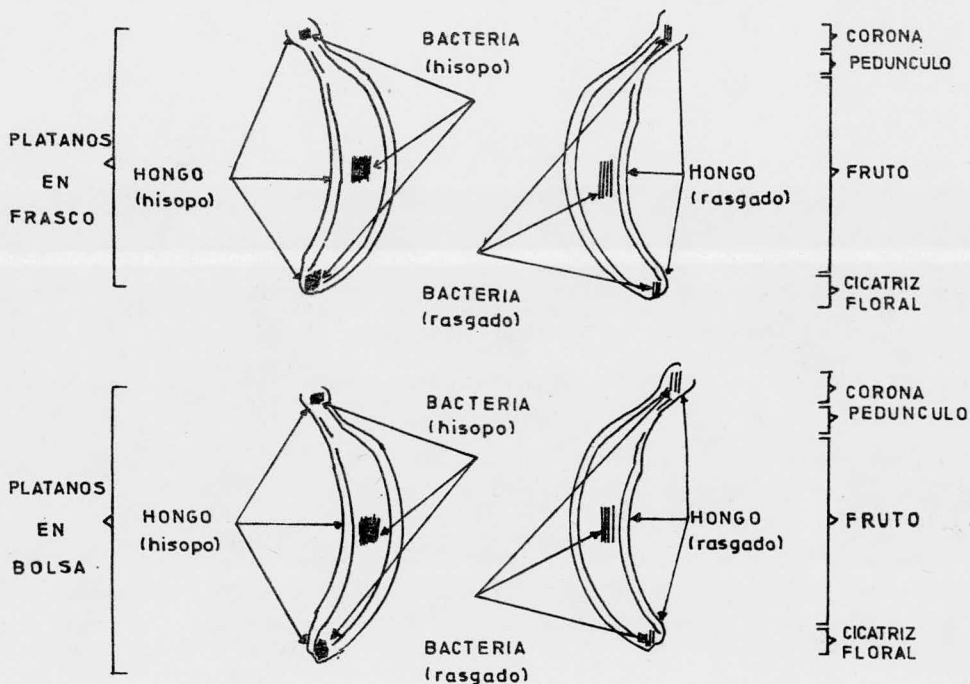


FIGURA 1
Plátanos inoculados Experimento Piloto.

aa) Resultados de las pruebas previas de inoculación - de microorganismos.

El método óptimo para las observaciones fué el de inocular al plátano por hisopo y rasgado, guardándolo en bolsas de papel de estraza, porque se favorece la maduración, no guarda humedad y porque el tiempo para conocer los resultados es corto (aproximadamente semana y media), por este método los daños que causaron los microorganismos se vieron con mucha claridad.

Se rechazó el uso de frascos de vidrio estériles -- porque no se pueden ver los resultados, ya que guardan humedad excesiva, la que provoca una descomposición total del plátano aún antes de la maduración.

Se dejó como testigo plátano lavado y plátano estéril, tanto en bolsas como en frascos estériles.

El plátano lavado fué para comprobar los cambios sufridos en la maduración y deterioro.

El plátano estéril fué para comprobar la efectividad - en la esterilización.

Las bolsas con los plátanos inoculados fueron colocadas en un lugar donde recibían luz y calor solar.

Las observaciones en los testigos indicaron que en los plátanos estériles el daño avanzó en un mínimo y no atacó la pulpa, en el plátano lavado los daños fueron muy serios, e incluso llegaron a la pulpa.

En vista de que el daño, aunque mínimo, persistió en el plátano estéril, se consideró que los tiempos de esterilización tendrían que ser más prolongados.

E. INOCULACION DE MICROORGANISMOS.

Basándonos en el experimento piloto se procedió a inocular el plátano con todas las bacterias y una cepa representativa de cada hongo, los factores ya modificados que se tuvieron en cuenta son los siguientes:

1. El plátano utilizado, para evitar diferencias de susceptibilidad, fué de la misma variedad de donde se aislaron los microorganismos y la madurez fué lo más homogénea - posible, es decir, se usó plátano variedad enano gigante - 3/4 lleno y de la parte central del racimo. Los plátanos - escogidos en la plantación fueron de los más sanos y en - buen estado.

2. El tratamiento que se le hizo para esterilizarlo - fué el siguiente:

a. Los plátanos se desmanillaron cuidadosamente y se - lavaron con jabón para quitarles el látex, la tierra y la - flor seca de la parte final del plátano.

En un área estéril se efectuaron los pasos siguientes:

b. Los plátanos se sumergieron en alcohol al 70% duran - te dos minutos.

c. Se sumergieron en cloruro mercuríco al 1% estéril - durante tres minutos.

d. Se les dieron dos lavados de dos minutos cada uno - con agua destilada estéril y una última pasada con piceta.

e. Se secaron con papel filtro estéril y se marcaron - los puntos de prueba, escogiendo las áreas que estaban en - muy buen estado.

f. Cada plátano se marcó por duplicado en el pedúnculo, en el fruto y en la cicatriz floral.

3. El inóculo, al igual que en el experimento piloto, fué uniforme en edad y tamaño, para lograrlo se hizo lo -- siguiente:

a. Hongos.

Las cepas de hongos se sembraron previamente en cajas de Petri con medio de Sabouraud sobre la superficie del medio en un solo punto, el tiempo de incubación fué de 8 días a 28°C.

Para la uniformidad del inóculo se usaron como sacabocado tubos de vidrio estériles de 6 mm. de diámetro, uno para cada cepa, con los que se marcó el inóculo en la mitad de la colonia, en donde la probabilidad de tener esporas es mayor, ya que en la periferia de la colonia (generalmente de color más claro) se tiene micelio vegetativo.

Con el asa estéril se tomaron tres cilindros y se depositaron en tubos de ensayo con 2 ml. de agua peptonada al 0.1% (38) y se trituraron con una varilla de vidrio estéril, una para cada tubo, hasta que quedó una suspensión homogénea, el hisopo se empapó en esta suspensión cada vez que se pasó por las partes de prueba de un lado del plátano. Cada tubo proporcionó inóculo para dos plátanos.

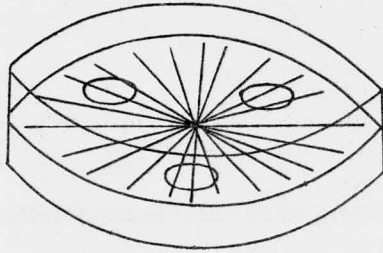


FIGURA 3
Toma de inóculo en hongos.

b. Bacterias.

En las bacterias se tuvo en cuenta que fueran cultivos jóvenes, para esto se sembraron en tubos de gelosa a 28°C tres veces, dos de ellas durante 24 h. y una durante 16 h.. Una vez obtenidos los cultivos jóvenes se sembraron en cajas de Petri con medio de gelosa por el método de estriación, con un tiempo de incubación de 48 h. a 28°C .

Para la toma del inóculo la caja se dividió en seis partes, cada porción sirvió para inocular una zona de prueba del plátano, de manera que una caja proporcionó inóculo para un solo plátano.

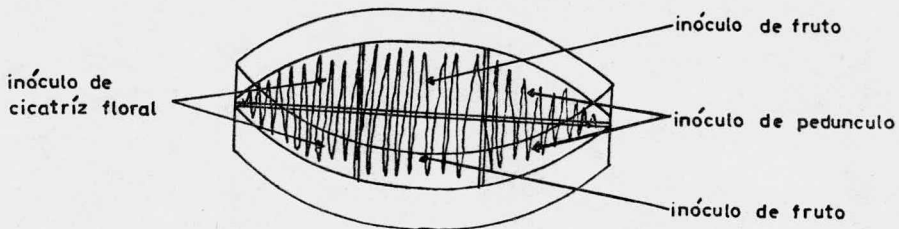


FIGURA 4
Toma de inóculo en bacterias.

4. Método de inoculación.

Para depositar el inóculo se efectuaron dos técnicas, la de hisopo y la de rasgado.

Por cada microorganismo inoculado se emplearon dos plátanos, uno marcado con la letra "A" y el otro marcado con la letra "B".

Plátano "A" :

Se rasgó suavemente la epidermis en las zonas de prueba marcadas empleando un alfiler estéril.

En el caso de inoculación de hongos se tomó el inóculo, con un hisopo estéril, de los tubos previamente preparados - (punto 3) y se friccionaron levemente las partes rasgadas.

En el caso de las bacterias, se tomó el inóculo de las cajas de Petri con un hisopo estéril, y se depositó friccionando suavemente en las zonas de prueba.

Plátano "B" :

Tanto en los hongos como en las bacterias los inóculos se tomaron con un hisopo estéril y se depositaron friccionando suavemente la epidermis en las zonas de prueba.

5. Almacenado de los plátanos inoculados.

Estos plátanos se colocaron en bolsas de papel de estraza marcadas con la clave del microorganismo en cuestión. Como la prueba se realizó por duplicado, cada bolsa tuvo dos plátanos, uno inoculado por el método de rasgado y el otro - inoculado por el método de hisopo, ambos plátanos tenían el mismo tipo de microorganismo, de manera que se obtuvieron - bolsas con plátano inoculado con hongos y bolsas con plátano inoculado con bacterias.

PLATANOS EN BOLSA
DE PAPEL DE ESTRAZA

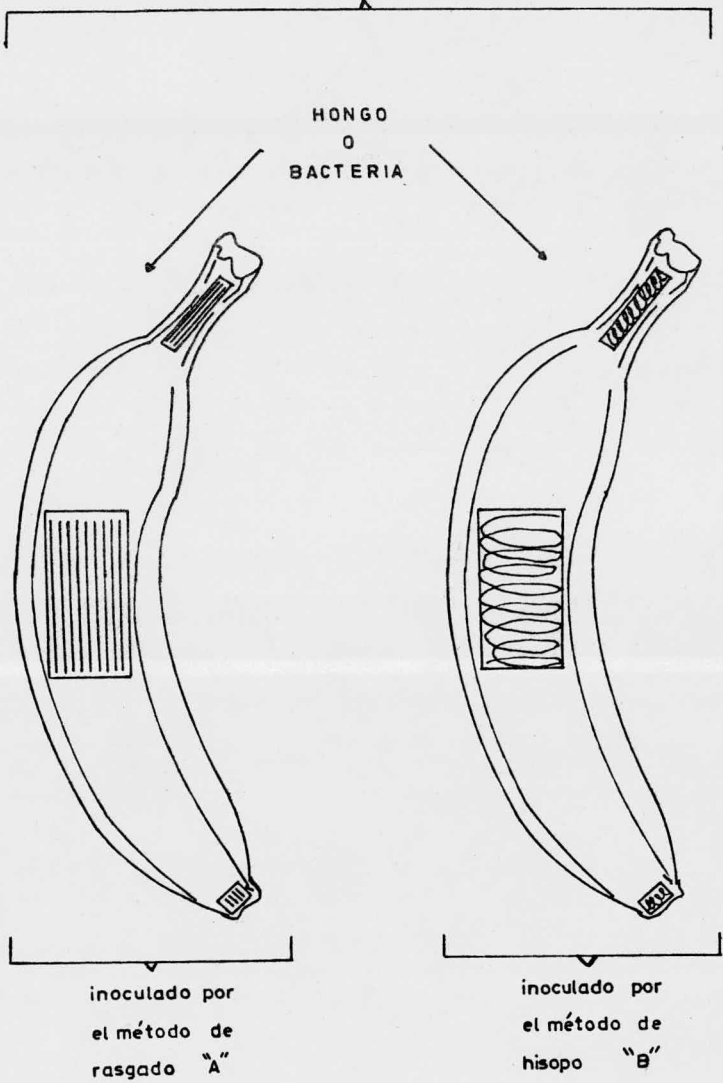


FIGURA 2
Plátanos estériles marcados en las zonas de prueba.

F. RESULTADOS DE LA INOCULACION DE MICROORGANISMOS.

Para poder evaluar los resultados de una manera objetiva se usaron diversos tipos de notaciones.

El daño se clasificó según la siguiente escala:

- + poco dañado
- ++ regularmente dañado
- +++ seriamente dañado

El primer renglón de cada número de clave indica los resultados obtenidos por el método de rasgado, y el segundo renglón indica los resultados obtenidos por el método de hisopo.

La simbología utilizada para las observaciones es la siguiente:

- A - El hongo ataca a la cicatriz floral provocando ablandamiento, el daño se extiende bien en toda la punta del plátano.
- B - La cáscara sufre un ligero ablandamiento.
- C - Se desprende un mal olor.
- D - El daño en la epidermis del plátano es una mancha café que se extiende regularmente.
- E - En la pulpa hay un gran endurecimiento redondo de color café.
- F - La pulpa sufre ablandamiento y se torna café.
- G - El daño en la epidermis del plátano es una mancha café muy extendida.
- H - El daño en la cáscara se va extendiendo hacia el fruto.
- I - El daño producido por el hongo es muy visible, hay un gran ablandamiento en la pulpa.
- J - Las estrías se ven mohosas.
- K - Pudrición blanda en cáscara y pulpa.

- L - La cáscara se torna negra.
- LL - Hay un punto de podredumbre blanca, su consistencia es dura.
- M - Hay ablandamiento en pulpa.
- N - En la pulpa hay pudrición de consistencia dura y se torna de color café-rosáceo.
- Ñ - La epidermis tiene una mancha café oscuro muy pequeña.
- O - La cáscara se despega con un poco de dificultad en las zonas dañadas.
- P - La pulpa tiene un ligero ablandamiento.
- Q - Hay una pudrición pequeña, redonda, de consistencia dura y color café.
- R - Hay resequedad en la pulpa.
- S - Ablandamiento y ennegrecimiento total del plátano, hay bastante crecimiento de hongo.
- T - Sobremaduración.
- U - En la pulpa hay pudrición porosa de color café-grisáceo que se despega con la cáscara.
- V - Hay pudrición blanca.
- W - La parte de la cáscara que está en contacto con la pulpa de la fruta se torna de color café-rosáceo.
- X - En la pulpa hay pudrición de consistencia blanda y se torna de color café-rosáceo.
- Y - En la pulpa hay una ligera capa blanca.

TABLA 5

HONGOS QUE RESULTARON PATOGENOS EN LA PRUEBA DE INOCULACION DE PLATANO SANO.

Clave	Pedúnculo		Fruto		Cicatriz Floral		Número de cepas
		Obs.		Obs.		Obs.	
1	---	---	---	---	+++	+++ A	3
6	+++	+++ BC	+++	+++ BC	+++	+++ BC	1
7	---	---	++	++ DE	---	---	1
10	+++	+++ FG	+++	+++ FG	+++	+++ FG	4
11	++	++ D	+++	+++ G	+++	+++ AH	2
12	+++	+++ IL	+++	+++ IL	---	---	7
13	---	---	+++	+++ GJE	+++	+++ GJE	3
17	---	---	+++	+++ KC	+++	+++ KC	12
18	---	---	++	++ DE	---	---	1
24	---	---	++	++ DL LL	++	++ DIM	1
25	+++	+++ G	++	++ D	+++	+++ G	2
28	++	++ D	+	+ D	+++	+++ AL	5
29	---	---	---	---	+++	+++ N	3

Clave	Pedúnculo		Obs.	Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.	Número de cepas
30	+	+	Ñ	+++	+++	G	+++	+++	G	1
	---	---		---	---		---	---		
31	---	---		++	++	D	---	---		3
	---	---		---	---		---	---		
32	---	---		+	+	Ñ	+	+	Ñ	3
	---	---		---	---		---	---		
33	++	++	D	+++	+++	ILC	+++	+++	AJ	1
	++	++		+++	+++		+++	+++		
34	+	+	Ñ	+++	+++	FGO	+++	+++	FGO	2
	---	---		---	---		---	---		
36	+++	+++	G	+	+	Ñ	---	---		3
	+++	+++		---	---		---	---		
37	+	+	D	+++	+++	GILC	+++	+++	GILC	3
	+++	+++		---	---		---	---		
38	+	+	D	+++	+++	G LL	++	++	G LL	1
	---	---		---	---		---	---		
39	+++	+++	GP	---	---		---	---		3
	++	++		---	---		---	---		
40	++	++	D	---	---		---	---		3
	+	+		---	---		---	---		
41	+++	+++	D	+++	+++	DQ	+++	+++	DE	9
	---	---		---	---		---	---		
42	+++	+++	G	---	---		---	---		3
	+++	+++		---	---		---	---		
46	++	++	D	---	---		+++	+++	ELR	3
	---	---		---	---		---	---		
48	++	++	D	+	---	Ñ	+	---	Ñ	3
	---	---		---	---		---	---		
55	---	---		++	++	Ñ	++	++	DE	1
	---	---		---	---		---	---		

Clave	Pedúnculo		Obs.	Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.	Número de cepas
59	+++ ---	+++ ---	D	+++ ---	+++ ---	DE	+++ ---	+++ ---	DE	1
60	---	---		++ ---	++ ---	DM	++ ---	++ ---	DM	1
61	---	---		+++ ---	+++ ---	DE	+ ---	+ ---	D	1
62	---	---		+++ ---	+++ ---	DE	+++ ---	+++ ---	DE	2
64	+++ ---	+++ ---	S	+++ ---	+++ ---	S	+++ ---	+++ ---	S	1
65	---	---		+++ ---	+++ ---	DE	---	---		3
66	---	---		+ ---	+ ---	Ñ	+ ---	+ ---	Ñ	1
68	---	---		---	---		+++ ---	+++ ---	GN	2
69	---	---		+++ ---	+++ ---	LETC	+++ ---	+++ ---	LETC	1
70	---	---		+++ ---	+++ ---	GE	+++ ---	+++ ---	GE	3
71	---	---		---	---		+++ ---	+++ ---	DA	1
72	++ ---	++ ---	D	++ ---	++ ---	D	++ ---	++ ---	D	1
73	+++ +++	+++ +++	GBP	---	---		+++ ---	+++ ---	A	1
74	+++ +++	+++ +++	GBP	++ ---	++ ---	D	+++ ---	+++ ---	A	4
75	+++ +++	+++ +++	GF	+++ +++	+++ +++	GE	+++ +++	+++ +++	GEJ	2

Clave	Pedúnculo		Obs.	Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.	Número de cepas
77	+++ +++	+++ +++	G	+++ ---	+++ ---	G	+++ ---	+++ ---	G	3
78	+++ ---	+++ ---	ÑE	+++ ---	+++ ---	ÑE	+++ ---	+++ ---	ÑE	1
79	+++ +++	+++ +++	DE	+++ ++	+++ ++	DE	++ ---	++ ---	D	1
80	---	---		++ ---	++ ---	DF	++ ---	++ ---	DF	1
84	+++ ---	+++ ---	ÑU	---	---		+++ ---	+++ ---	ÑU	4
86	---	---		+++ ---	+++ ---	GE	+++ ---	+++ ---	GE	1
88	---	---		+ ---	+ ---	Ñ	+++ ---	+++ ---	GA	1
92	---	---		+++ ---	+++ ---	GE	+++ ---	+++ ---	GN	1
94	---	---		+++ ---	+++ ---	GE	---	---		1
96	---	---		+++ ---	+++ ---	GE	++ ---	++ ---	DE	1
97	+ ---	+ ---	ÑQ	+++ ---	+++ ---	DE	+++ ---	+++ ---	DE	3
101	+ ---	+ ---	Ñ	+++ ---	+++ ---	DE	+ ---	+ ---	Ñ	1
102	+++ ---	+++ ---	L	+++ ---	+++ ---	LF	+++ ---	+++ ---	LA	1
105	+ ---	+ ---	Ñ	++ ---	++ ---	D	+ ---	+ ---	Ñ	2
106	---	---		+++ ---	+++ ---	DMQ	+++ ---	+++ ---	DMQ	2

Clave	Pedúnculo		Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.	Número de cepas
108	---	---	++	++	DE	+	+	ÑQ	1
111	+++	+++	+++	+++	DM	+++	+++	DM	2
113	++	++	++	++	L	++	++	L	1
114	+	+	+++	+++	ÑE	+	+	Ñ	1
116	+++	+++	+++	+++	LE	++	++	LE	1
117	---	---	++	++	DQ	---	---		1
119	+++	+++	+++	+++	GE	+++	+++	GE	2
120	---	---	++	++	D	---	---		2
125	++	++	+++	+++	GE	++	++	G	1
127	+	+	+	+	Ñ	+	+	Ñ	1
132	---	---	++	++	ÑE	---	---		1
133	+++	+++	+++	+++	GE	+++	+++	GF	1
134	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ	1
135	---	---	+++	+++	D LL	---	---		1
136	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ	1

Clave	Pedúnculo	Obs.	Fruto	Obs.	Cicatriz Floral	Obs.	Número de cepas
137	--- ---		+ + ---	Ñ	+ + ---	Ñ	1
138	--- ---		--- ---		++ ++ ---	DP	1
139	--- ---		+ + ---	Ñ	+ + ---	Ñ	1
140	--- ---		++ ++ ---	ÑQ	++ ++ ---	ÑQ	1
141	--- ---		+ + ---	Ñ	--- ---		1
142	--- ---		+++ +++ ---	D LL	--- ---		1

TABLA 6

BACTERIAS QUE RESULTARON PATOGENAS EN LA
PRUEBA DE INOCULACION DE PLATANO SANO .

Clave	Pedúnculo		Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.
	Obs.	Obs.	Obs.	Obs.		Obs.	Obs.	
2	---	---	+	+	Ñ	---	---	
3	---	---	+++	+++	MV	+++	+++	V
10	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ
11	---	---	+	+	Ñ	---	---	
13	---	---	++	++	D	+	+	Ñ
15	---	---	+++	+++	Ñ LL	---	---	
16	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ
17	---	---	---	---		++	++	FW
18	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ
19	---	---	+++	+++	ÑF	+	+	Ñ
20	---	---	++	++	D	++	++	DMW
23	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ

Clave	Pedúnculo		Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.
25	---	---	+	+	Ñ	+	+	Ñ
	---	---	---	---		---	---	
26	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
28	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
30	---	---	+++	+++	DF	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
31	---	---	++	++	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
35	---	---	+++	+++	Ñ LL	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
36	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
37	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
40	---	---	+++	+++	D LL	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
41	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
42	---	---	+	+	Ñ	++	++	ÑX
	---	---	---	---		---	---	
43	---	---	---	---		++	++	DQ
	---	---	---	---		---	---	
44	---	---	++	++	ÑF	+++	+++	ÑF
	---	---	---	---		---	---	
45	---	---	+	+	Ñ	---	---	
	---	---	---	---		---	---	
46	---	---	++	++	ÑY	---	---	
	---	---	---	---		---	---	

Clave	Pedúnculo		Obs.	Fruto		Obs.	Cicatriz Floral		Obs.
47	---	---		++	++	NY	---	---	
49	---	---		++	++	NF	---	---	
50	---	---		+	+	NY	+	+	NY
51	---	---		++	++	DY	+++	+++	DY
52	---	---		+++	+++	DY	---	---	
53	---	---		+++	+++	DY	---	---	
54	---	---		+	+	N	+	+	N
55	---	---		---	---		+++	+++	NN
56	+	+	N	+	+	N	---	---	
59	---	---		+	+	N	---	---	
60	---	---		+++	+++	DY	---	---	
61	---	---		+++	+++	DN	---	---	
62	---	---		+	+	N	++	++	NM
63	---	---		---	---		++	++	NM

G. OBSERVACIONES EN EL METODO DE INOCULACION.

Se empleó plátano verde de madurez $3/4$ lleno (+) para inocular, porque puede esterilizarse fácilmente por estar más sano, la fruta no sufre mucho por el tratamiento y se tienen zonas en buen estado para inocular.

Las bolsas con los plátanos inoculados fueron colocadas en un lugar donde recibían luz y calor solar.

Los resultados se ven cuando el plátano ha madurado totalmente, porque los microorganismos van atacando conforme encuentran las condiciones apropiadas para su reproducción, lo que ocasiona que en este punto se manifieste en su totalidad el ataque.

El grado de madurez de la fruta se observó en los testigos, para evitar contaminaciones en la fruta inoculada por exceso de manipulaciones.

Los plátanos llegaron a su total madurez a las tres semanas. En las primeras dos semanas los testigos se revisaron cada siete días, y en la tercera semana se revisaron cada cuatro días.

Al terminar el experimento se hizo una revisión de los plátanos testigos, de los 10 plátanos estériles que se dejaron, 8 se conservaron en perfectas condiciones en todas las zonas de inoculación, y los otros 2 presentaron resequeidad en pedúnculo y cicatriz floral, teniendo estas zonas un color nefro. De los 10 plátanos lavados, 7 se conservaron en buen estado y 3 tuvieron daño en todo el plátano.

(+) Corresponde al Núm. 1 en la clasificación de Chiquita Brand, filial de United Fruit Co. --

H. IDENTIFICACION DE LOS PRINCIPALES MICROORGANISMOS QUE DETERIORAN LA CALIDAD DEL PLATANO.

La identificación de los microorganismos patógenos del plátano es un punto muy importante en el estudio de los mismos, ya que así se puede conocer su lugar dentro de una clasificación general práctica relacionada con microbicidas comerciales; teniendo esta información puede procederse a consultar catálogos industriales que tienen uno o varios microbicidas específicos para microorganismos ya reportados. (14 ,28 ,29 ,32)

Para proceder a su identificación se han elegido algunos microorganismos que resultaron muy patógenos en la etapa de inoculación, teniendo en cuenta que puede hacerse un estudio posterior para la identificación de los microorganismos restantes, así como el que se pueden hacer combinaciones con ellos para reportar a los que en conjunto causan alguna mancha característica en el plátano; también se pueden efectuar pruebas con diversos microbicidas para encontrar un método eficiente para su represión, y lograr tener un plátano exento de microorganismos patógenos que afectan su apariencia, sabor y valor nutricional.

En el caso de los hongos se escogieron cuatro grupos basándose en lo siguiente:

1. Cinco que atacaron a pedúnculo.
2. Cinco que atacaron a fruto.
3. Cinco que atacaron a cicatriz floral.
4. Cinco que atacaron al mismo tiempo a pedúnculo, fruto y cicatriz floral.

En el caso de bacterias no se encontró ninguna que atacara a pedúnculo, tampoco se encontró ninguna que atacara de for

ma simultánea a pedúnculo, fruto y cicatriz floral, por lo que se escogieron, para su identificación, de la siguiente manera:

- a. Cinco que atacaron a fruto.
- b. Cinco que atacaron a cicatriz floral.

1) METODOS DE IDENTIFICACION DE HONGOS.

Los metodos que se emplearon para la identificación de hongos son los siguientes:

a) Observación morfológica macroscópica por medio de colonias gigantes.

Los hongos se sembraron depositando el inóculo en la superficie en un punto en cajas de Petri para obtener la colonia gigante del medio de patata glucosa y se incubaron durante 12 días a 28°C.

Las características que se observaron son las siguientes:

- aa) forma de la colonia.
- bb) tipo y largo del micelio.
- cc) cantidad de crecimiento.
- dd) humedad de la colonia.
- ee) color de la colonia por encima y debajo del medio.
- ff) cambios de coloración en el medio de cultivo.

b) Observación morfológica microscópica.

Se realizó mediante la preparación de microcultivos, - los cuales se incubaron durante 12 días a 28°C, utilizando - como medio de propagación del hongo bloques de patata glucosa.

Para teñir las preparaciones de los microcultivos se usó la técnica denominada "P.A.S." (periodic. acid. schiff.).

(26)

RESULTADOS DE LA IDENTIFICACION DE HONGOS

Hongos identificados que atacaron principalmente a -
pedúnculo:

CLAVE 12 - Chloridium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio extenso y algodonoso; colonia seca de color gris, acentuándose más el color al centro; el medio se torna de color gris azulado.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiospora erecta, simple, septada, oscura; conidia unicelular, hialina, en pares al final de la conidiospora; aleuriosporas unicelulares, terminales.

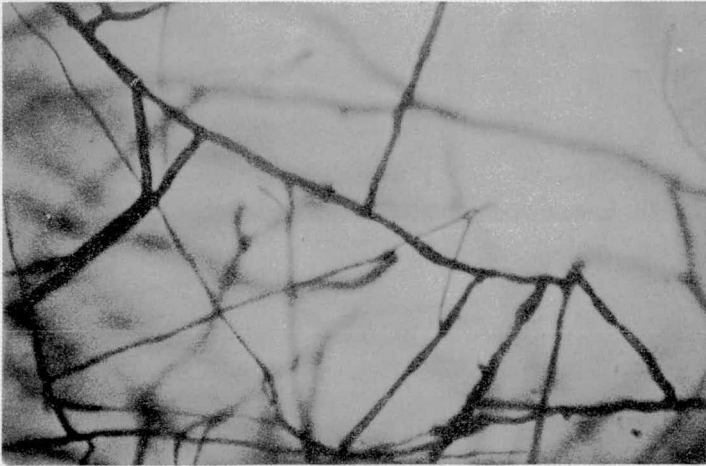
CLAVE 36 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

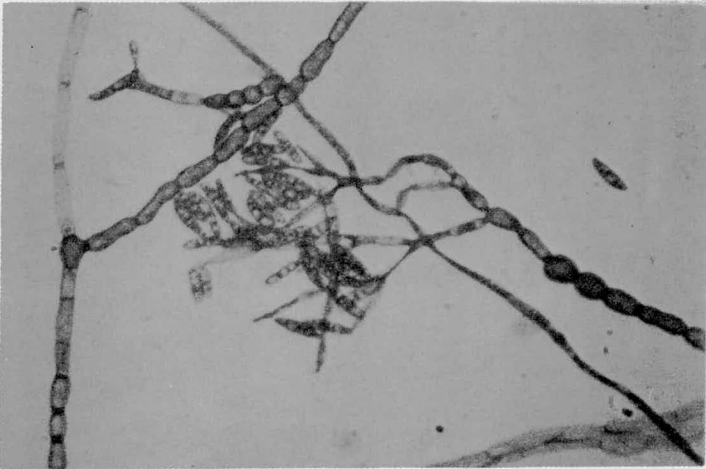
Hongo de rápido crecimiento; micelio extenso y algodonoso; colonia seca, de color blanco con el centro ligeramente amarillo; por el lado posterior de la caja de Petri la colonia se observa con el centro de color naranja, el borde es amarillo; no hay cambios de coloración en el medio.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, abultado y septado; conidiospora simple; macroconidia multicelular, significativamente curvada en las puntas; microconidia unicelular, ovoide, simple.



CLAVE 12 - Chloridium sp.



CLAVE 36 - Fusarium sp.

CLAVE 39 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio algodonoso; colonia seca de color café-amarillento; en la parte posterior de la caja de Petri se observa la colonia de color amarillo; el medio adquiere un tinte café claro.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiospora variable, ramificada irregularmente; conidia variable, presentando -- principalmente macroconidia cortada en forma de hoz, curvada en las puntas, multicelular, algunas microconidias unicelulares, ovoides.

CLAVE 42 - Cephalosporium sp.

Observación morfológica macroscópica:

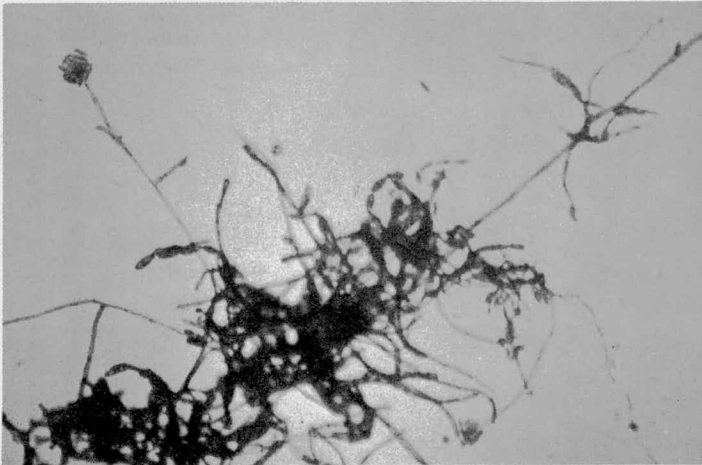
Hongo de rápido crecimiento; micelio poco algodonoso; colonia seca, de color lila, con el centro morado claro; el medio se torna liláceo; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia se observa de color morado en el centro y la periferia amarilla.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado, conidiosporas delgadas, simples; conidia unicelular, agrupada en forma de gota o cabeza.



CLAVE 39 - Fusarium sp.



CLAVE 42 - Cephalosporium sp.

CLAVE 73 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio algodonoso; colonia seca de color rosa; no se observan cambios de coloración en el medio; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia es de color amarillo.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiospora naciendo simple, ramificada irregularmente; macroconidia multicelular, curvada en las puntas, y algunas microconidias unicelulares ovoides.

Hongos identificados que atacaron principalmente a -
fruto:

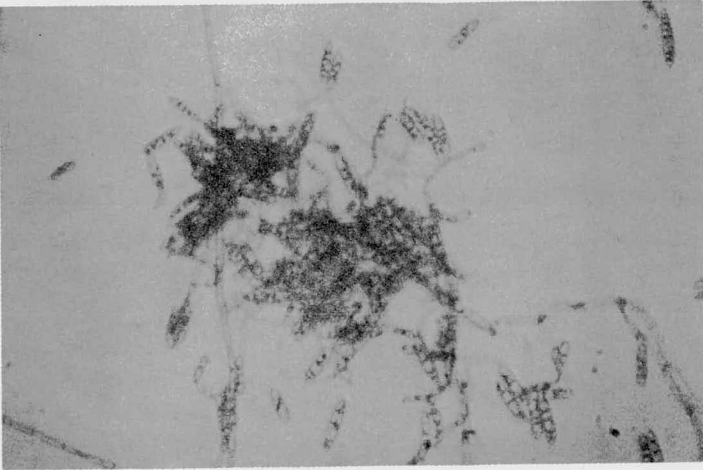
CLAVE 13 - Cephalosporium sp.

Observación morfológica macroscópica:

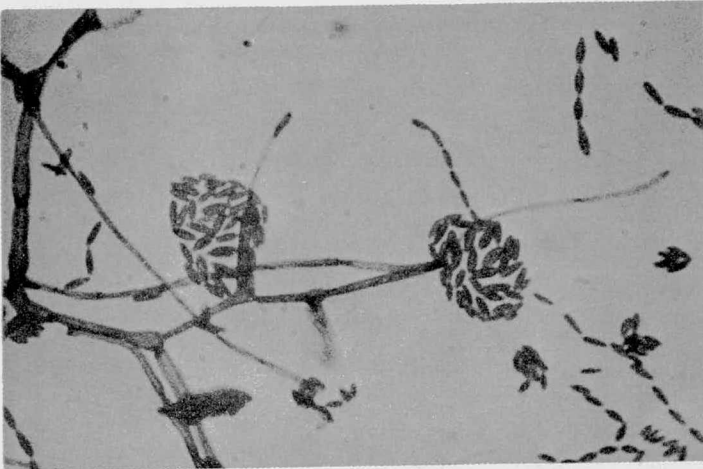
Hongo de rápido crecimiento; micelio extenso y algodonoso; colonia seca de color púrpura; el medio adquiere un leve tinte liláceo.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas delgadas, simples; conidia unicelular, agrupada en forma de gota o cabeza.



CLAVE 73 - Fusarium sp.



CLAVE 13 - Cephalosporium sp.

CLAVE 17 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio algodonoso; colonia seca de color amarillo en el centro y en la periferia - blanco; el medio se torna ligeramente amarillo; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia se observa al principio blanca, volviéndose después amarilla.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado, conidiospora corta, - delgada, simple, ramificada irregularmente; macroconidia - multicelular, significativamente curvada en las puntas, - típicamente cortada como canoa.

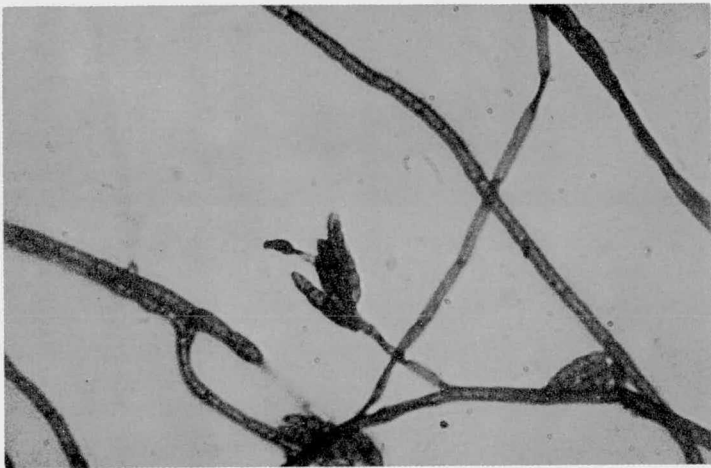
CLAVE 60 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

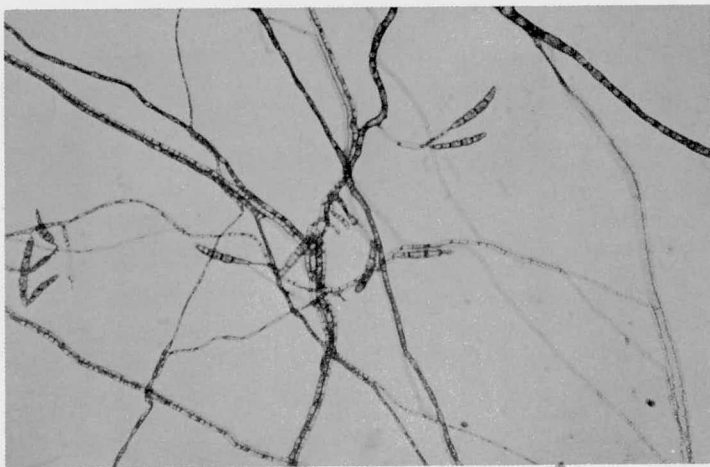
Hongo de rápido crecimiento; micelio algodonoso; colonia seca de color blanco, con el centro ligeramente amarillo canario; no hay cambios de coloración en el medio; en la parte posterior de la caja de Petri se observa la colonia de color amarillo.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas naciendo en grupos compactos; macroconidias en forma de hoz, multicelulares.



CLAVE 17 - Fusarium sp.



CLAVE 60 - Fusarium sp.

CLAVE 86 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio algodonoso; colonia seca de color lila, blanca en la periferia; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia se observa de color amarillo con el centro café; no hay cambios de coloración en el medio.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas simples, ramificadas irregularmente; conidias ovales, unicelulares, - en gran cantidad; macroconidias multicelulares significativamente curvadas en las puntas.

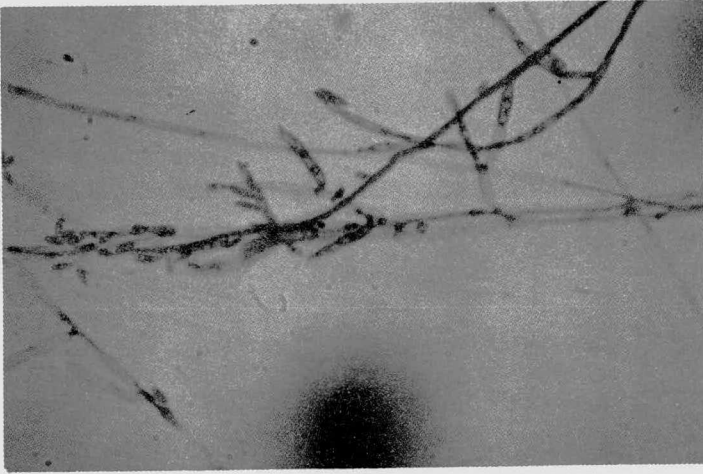
CLAVE 92 - Cephalosporium sp.

Observación morfológica macroscópica:

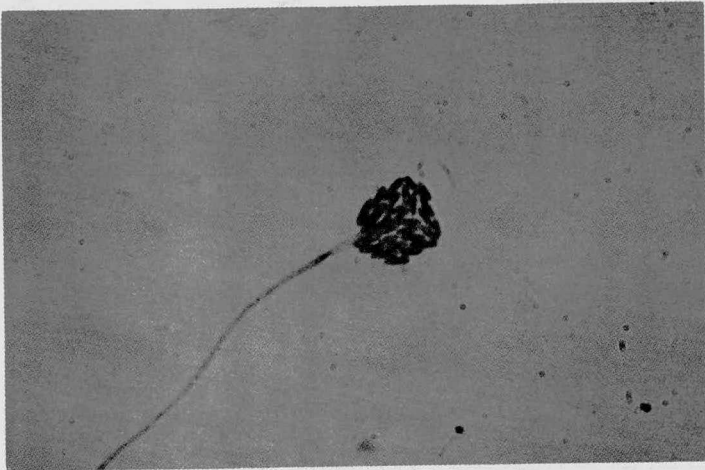
Hongo de rápido crecimiento; micelio poco algodonoso; colonia seca, de color morado; el medio adquiere un tinte -- morado; en la parte posterior de la caja de Petri se observa el centro de la colonia de color morado intenso y la periferia café liláceo.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiospora delgada, simple; conidia unicelular, agrupada en forma de gota o cabeza.



CLAVE 86 - Fusarium sp.



CLAVE 92 - Cephalosporium sp.

Hongos identificados que atacaron principalmente a --
cicatriz floral:

CLAVE 29 - Penicillium sp.

Observación morfológica macoscópica:

Hongo de rápido crecimiento; colonia de superficie --
húmeda, pulverulenta, sombreada de verde; el medio adquiere
un tinte amarillo-verdoso; en la parte posterior de la caja
de Petri se observa la colonia de color amarillo-verdoso.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado, con conidioforos que -
soportan fiálides y en sus extremos esporas arredondadas y -
en cadenas, dando todo, aspecto de pincel.

CLAVE 55 - Pleiochaeta sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio poco algodonoso;
colonia seca de color blanco con el centro negro; no hay -
cambios de coloración en el medio; en la parte posterior de
la caja de Petri se observa la colonia amarilla.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiospora simple;
conidia obscura, pentacelular, cilíndrica, poco curvada; la
mitad de la célula es de pared más delgada y obscura, conte
niendo la conidia de uno a dos apéndices largos, delgados,
apicales hialinos.



CLAVE 29 - Penicillium sp.



CLAVE 55 - Pleiochaeta sp.

CLAVE 68 - Penicillium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; colonia pulverulenta, húmeda, de color verde; no hay cambios de coloración en el medio.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; con conidioforos que soportan fiálides y en sus extremos esporas arredondadas y en cadenas, dando todo, aspecto de pincel.

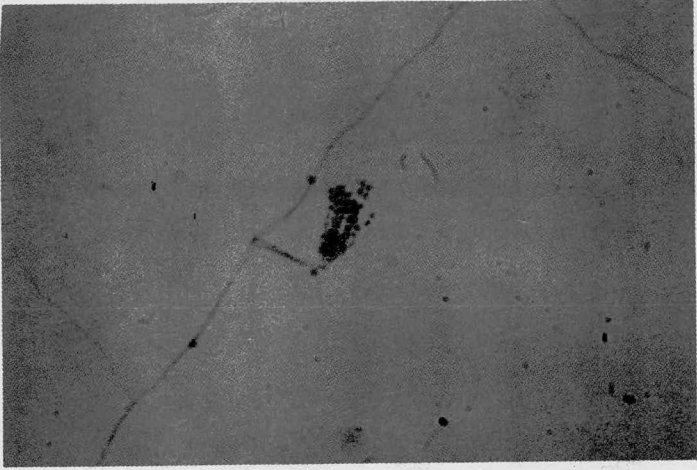
CLAVE 71 - Phialophora sp.

Observación morfológica macroscópica:

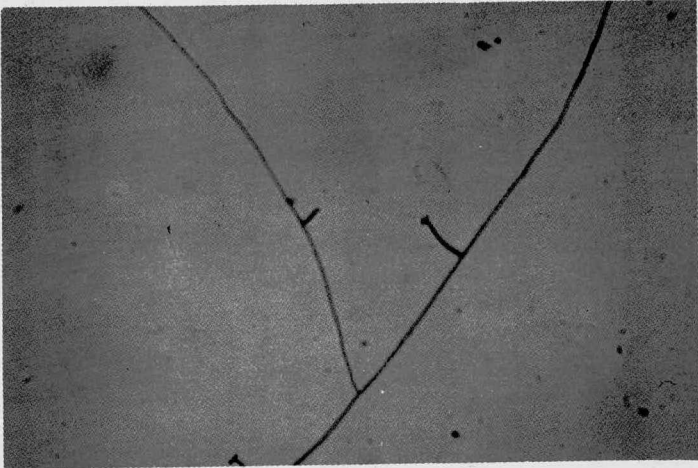
Hongo de lento crecimiento; colonia pequeña, apretada, aterciopelada, de color verde musgo en el centro y en la periferia en tonos de gris; el medio adquiere un tinte amarillo; en la parte posterior de la Caja de Petri la colonia se observa verde con el borde amarillo.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas cortas, oscuras, simples; fiálides cilíndricas; conidia oscura, unicelular, ovoide.



CLAVE 68 - Penicillium sp.



CLAVE 71 - Phialophora sp.

CLAVE 84 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; micelio extenso y algodonoso; colonia seca, de color lila con la periferia amarillo pálido; el medio adquiere un tinte liláceo; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia se observa morada con la periferia amarilla.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas delgadas, simples, ramificadas irregularmente, se observan algunas macroconidias en forma de hoz, curvadas en las puntas, multicelulares; hay una gran cantidad de microconidias unicelulares, ovaladas.

Hongos identificados que atacaron a pedúnculo, fruto y cicatriz floral simultáneamente:

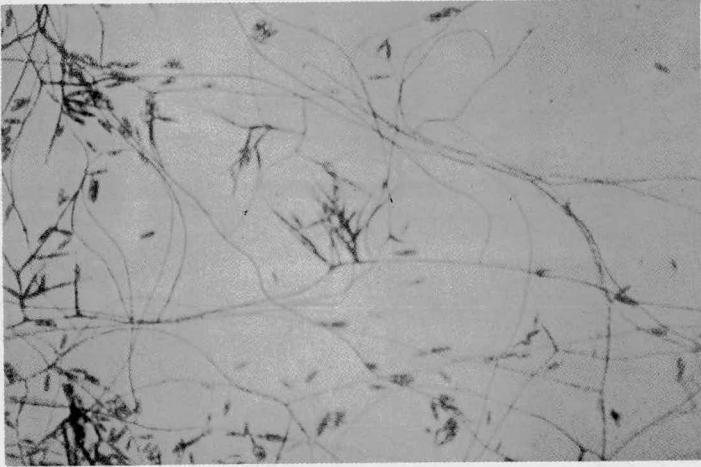
CLAVE 6 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

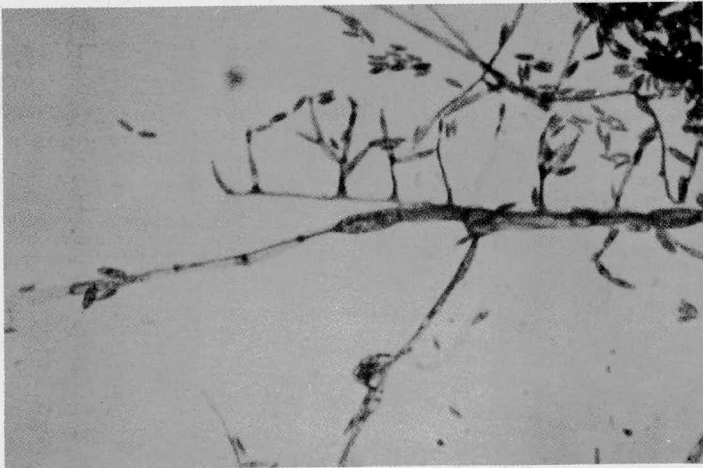
Hongo de rápido crecimiento; micelio poco algodonoso; colonia seca, de color rosa-liláceo al centro seguido de un color rosa intenso, siendo al final de color rosa pálido; no se observan cambios de coloración en el medio; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia es de color crema - en el centro, seguido de un color rosa intenso, con la periferia de color crema.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas cortas, ramificadas irregularmente; macroconidias en forma de hoz, curvadas en las puntas, multicelulares; gran cantidad de microconidias unicelulares ovals.



CLAVE 84 - Fusarium sp.



CLAVE 6 - Fusarium sp.

CLAVE 25 - Aspergillus sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; colonia de superficie -- aterciopelada, húmeda, de color negro; no hay cambios de -- coloración en el medio.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas simples, terminadas en un abultamiento globoso; apareciendo fiálides en la superficie de la cabeza aspergilar; conidias unicelulares, globosas, en cadenas.

CLAVE 33 - Pyricularia sp.

Observación morfológica macroscópica:

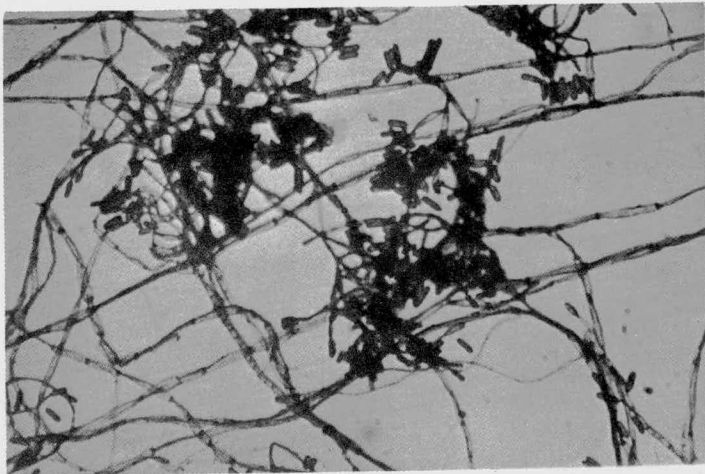
Hongo de rápido crecimiento; micelio muy algodonoso; - colonia seca, de color gris; el medio contiene un pigmento - gris tenue; en la parte posterior de la caja de Petri la colonia se observa de color gris intenso.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas largas, delgadas, muy simples; conidias enclavadas, elipsoides, bicelulares.



CLAVE 25 - Aspergillus sp.



CLAVE 33 - Pyricularia sp.

CLAVE 37 - Aspergillus sp.

Observación morfológica macroscópica:

Hongo de rápido crecimiento; colonia de superficie pulverulenta, negra y seca; no hay cambios de coloración en el medio.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas largas, con extremidades vesciculares, la superficie de la cabeza - aspergilar contiene muchas fiálides y cadenas de conidias - esféricas unicelulares.

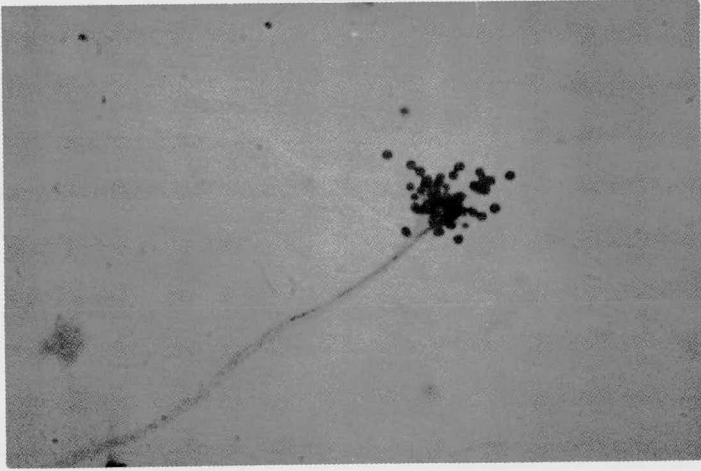
CLAVE 116 - Fusarium sp.

Observación morfológica macroscópica:

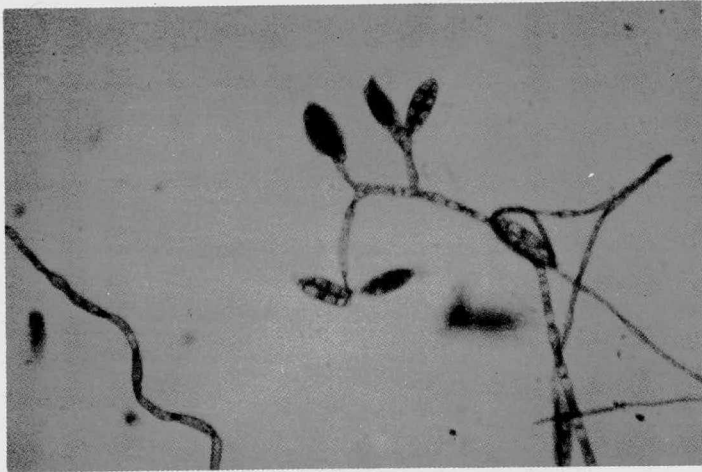
Hongo de rápido crecimiento; micelio mediano y algodonoso; colonia seca, de color amarillo paja, la periferia es de color crema; el medio se observa con un tinte ligeramente amarillo-naranja.

Observación morfológica microscópica:

Micelio macrosifonado, septado; conidiosporas simples, delgadas, ramificadas irregularmente; conidia hialina variable; macroconidia multicelular, significativamente curvada - en las puntas, típicamente cortada como canoa; microconidia naciendo simple, unicelular, ovoide.



CLAVE 37 - Aspergillus sp.



CLAVE 116 - Fusarium sp.

2) PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE BACTERIAS.

Las pruebas que se les hicieron a las bacterias para su identificación son las siguientes:

a) Pruebas para observar su morfología.

aa) Morfología microscópica: Tinción de Gram.

bb) Morfología macroscópica: Características de las colonias en cajas de Petri con gelosa nutritiva y en tubos de ensayo con caldo nutritivo, ambas pruebas con un tiempo de incubación de 24 h. a 28°C.

b) Pruebas bioquímicas para su diferenciación y caracterización.

aa) Acción lipolítica.

bb) Aerobiosis.

cc) Fermentación de glucosa, sacarosa y lactosa.

dd) Formación de ácido en leche.

ee) Formación de H₂S.

ff) Formación de indol.

gg) Hidrólisis de almidón.

hh) Hidrólisis de gelatina.

ii) Movilidad.

jj) Pigmento.

kk) Fluorescencia.

ll) Prueba de la catalasa.

mm) Prueba de la oxidasa.

nn) Reducción de nitratos.

oo) Rojo de metilo.

pp) Vogues-Proskauer.



RESULTADOS DE LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS.

Clave	13	15	17
Tinción de Gram:	bacilos (-)	bacilos (-)	bacilos (-)
Características generales de las colonias en gelosa nutritiva.			
Forma:	circular	circular	circular
Elevación:	convexa	convexa	convexa
Contorno de los bordes:	entero	entero	entero
Superficie:	lisa	lisa	lisa
Textura:	mucosa	butirácea	butirácea
Cambios en el color del medio:	inalterado	inalterado	inalterado
Color de la colonia:	amarillo	blanco	crema
Características de crecimiento en caldo nutritivo.			
Crecimiento superficial:	película	nulo	nulo
Opacidad:	ligera	ligera	regular
Sedimento:	viscoso	granular	compacto
Cantidad de sedimento:	escaso	escaso	abundante
Lugar de ataque:	fruto	fruto	cicatriz floral

Clave	19	20	31
Tinción de Gram:	bacilos (-)	bacilos (-)	bacilos (+)
Características generales de las colonias en gelosa nutritiva.			
Forma:	circular	circular	rizoide
Elevación:	convexa	elevada	plana
Contorno de los bordes:	ondulado	entero	filamentoso
Superficie:	lisa	lisa	lisa
Textura:	mucosa	butirácea	butirácea
Cambios en el color del medio:	inalterado	inalterado	inalterado
Color de la colonia:	amarillo	crema	blanco
Características de crecimiento en caldo nutritivo.			
Crecimiento superficial:	nulo	película	nulo
Opacidad:	regular	ligera	ligera
Sedimento:	granular	viscoso	granular
Cantidad de sedimento:	poco	poco	regular
Lugar de ataque:	fruto	cicatriz floral	fruto

Clave	44	51	54
Tinción de Gram:	bacilos (-)	bacilos (-)	bacilos (-)
Características generales de las colonias en gelosa nutritiva.			
Forma:	circular	circular	circular
Elevación:	elevada	convexa	convexa
Contorno de los bordes:	entero	entero	entero
Superficie:	lisa	lisa	lisa
Textura:	butirácea	viscosa	butirácea
Cambios en el color del medio:	inalterado	inalterado	inalterado
Color de la colonia:	amarillo	amarillo	amarillo
Características de crecimiento en caldo nutritivo.			
Crecimiento			
superficial:	nulo	nulo	nulo
Opacidad:	ligera	ligera	ligera
Sedimento:	compacto	granular	granular
Cantidad de sedimento:	abundante	escaso	escaso
Lugar de ataque:	cicatriz floral	cicatriz floral	fruto

Clave

55

Tinción de Gram:

bacilos
(-)

Características
generales de las
colonias en
gelosa nutritiva.

Forma:

circular

Elevación:

elevada

Contorno de

los bordes:

entero

Superficie:

lisa

Textura:

butirácea

Cambios en el

color del medio:

inalterado

Color de la

colonia:

amarillo

Características
de crecimiento en
caldo nutritivo.

Crecimiento
superficial:

película

Opacidad:

intensa

Sedimento:

granular

Cantidad de

sedimento:

abundante

Lugar de ataque:

cicatriz
floral

La simbología utilizada en las pruebas bioquímicas de identificación de bacterias es la siguiente:

A aerobio
AF aerobio facultativo
ANA anaerobio
MA microaerófilo

1 algunas son negativas por la ausencia del citocromo C
2 o débilmente positivas
3 moderada
4 raramente es positiva
5 soluble en agua
6 insoluble en agua
7 o sin pigmento
8 la mayoría
9 variable

a amarillo
b amarillo azulado
c amarillo verdoso
d blanco
e café
f crema
g naranja
h rojo
i rosa
j verde

Nombre del microorganismo	Acción lipolítica	Aerobiosis	Fermentación de:						Pigmento	Fluorescencia	Prueba de la catalasa	Prueba de la oxidasa	Reducción de nitratos	Rojo de metilo	Voges-Proskauer									
			Ox	Red	Ox	Red	Ox	Red																
			Glucosa		sacarosa		lactosa		Formación de ác. en leche	Formación de H ₂ S	Formación de Indol	Hidrólisis de almidón	Hidrólisis de gelatina	Movilidad										
PSEUDOMONAS	+	A,AF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	b, c, h, j 5, 7	+	+	+	+	-	-		
XANTHOMONAS	+	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	a, e, g 6, 7	-	+	+	+	-	-		
ERWINIA		A,AF		+		+		+	+		-	-	+	+		a, f, g	-	+			+	+		
AGROBACTERIUM		A,AF		+		+			-		+	-	+	+									-	
CORYNE BACTERIUM		A,AF ANA MA		+		+		+			-	-	+	+	+	a, g, i	-	+				+	+	

(Breed, 1974 ; Collins, 1969 ; Gibbs, 1966 ; Harrigan, 1966 ; Prévot, 1961 ; Sarasola, 1975)

CLAVE	Resultados de las Pruebas Bioquímicas		Pruebas Bioquímicas										Nombre del microorganismo identificado										
	Acción lipolítica	Aerobiosis	Fermentación de:	Ox	Red	Ox	Red	Ox	Red	Formación de ác. en leche	Formación de H ₂ S	Formación de Indol		Hidrólisis de almidón	Hidrólisis de gelatina	Movilidad	Pigmento	Fluorescencia	Prueba de la catalasa	Prueba de la oxidasa	Reducción de nitratos	Rojo de metilo	Voges-Proskauer
13	-	AF	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	d	-	+	-	-	+	-	-	AGROBACTERIUM
15	-	AF	+	+		+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	d	-	+	-	+	-	-	AGROBACTERIUM
17	-	AF		+		+	+	+	-	-	-	-	+	+	d	-	-	+	+	-	-	-	ERWINIA
19	+	AF	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	d	-	+	-	+	-	-	-	XANTHOMONAS
20	+	A	+	+		-	-	-	-	-	-	+	+	+	f	+	+	+	-	-	-	-	PSEUDOMONAS

CLAVE	Resultados de las Pruebas Bioquímicas		Acción lipolítica	Aerobiosis	Fermentación de:	glucosa	sacarosa	lactosa	Formación de ác. en leche	Formación de H ₂ S	Formación de Indol	Hidrólisis de almidón	Hidrólisis de gelatina	Movilidad	Pigmento	Fluorescencia	Prueba de la catalasa	Prueba de la oxidasa	Reducción de nitratos	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Nombre del microorganismo identificado
	Ox	Red																				
31	-	AF	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	CORYNEBACTERIUM
44	-	AF		+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	g	-	+	+	+	-	-	ERWINIA
51	+	AF	+		+		+		-	+	-	+	-	+	g	-	+	-	-	-	-	XANTHOMONAS
54	+	AF	+	+			+		-	+	-	+	-	+	g	-	+	-	-	+	-	XANTHOMONAS
55	-	AF		+	+		+		+	+	-	-	+	+	g	-	+	-	+	-	-	ERWINIA

CAPITULO IV

A. CONCLUSIONES

1. Por el número de microorganismos aislados y que --
causan patogenicidad, existe una incidencia mayor de hongos
que de bacterias, lo que implica la necesidad de una repre --
sión más intensa sobre los hongos.

2. De acuerdo con los métodos empleados en la inocula --
ción de microorganismos en plátano sano, se concluye lo si --
guiente:

a. Con el empleo del método de rasgado se comprueba --
que hay un gran número de microorganismos que contaminan al
plátano cuando existe una incisión o magulladura en su epi --
dermis, que puede ser causada en la plantación por aves, in --
sectos o por daños físicos durante su transporte y venta. --
Los hongos y bacterias presentes en el aire de la plantación
o en la superficie de la fruta entran fácilmente, causando --
daños muy serios, sin embargo, no se debe descartar una con --
taminación por suelo, debido a la falta de higiene en la --
plantación.

En los hongos, la mayor incidencia se localizó en pató --
genos que atacaron simultáneamente a pedúnculo, fruto y cica --
triz floral, ya que todas las partes de la fruta son suscep --
tibles a un ataque cuando aparecen las condiciones favora --
bles al microorganismo presente; le siguen en número los hon --
gos que atacan al fruto, parte del plátano que tiene gran --
cantidad de nutrientes.

Los daños presentes en el plátano causados por bacte --
rias son de menor intensidad, porque su modo de ataque es --

principalmente el sistema vascular; debido a esto es muy difícil reproducir o confirmar transtornos de esa naturaleza.

b. Con el empleo del método del hisopo se comprueba en los plátanos inoculados con hongos, que existen, aunque en menor número, microorganismos capaces de dañar la fruta con sólo un contacto superficial en ella. Con las bacterias los resultados son negativos, debido a que no son capaces de degradar la cáscara del plátano.

3. Una característica en los plátanos inoculados con hongos, sobre todo en los que presentaron daños muy serios, fué una más rápida y mayor maduración en comparación con los otros plátanos inoculados y plátanos testigos.

4. El microorganismo que se encontró en mayor cantidad fué: Fusarium sp., y ataca todas las partes de la fruta.

5. Se encontraron géneros patógenos del plátano no reportados en la bibliografía consultada, estos son: Chloridium sp., Penicillium sp. y Pleiochaeta sp. .

6. La bacteria que ataca más severamente a la fruta pertenece al género Pseudomonas sp., siguiendo en orden de patogenicidad los géneros Erwinia sp., Xanthomonas sp., Agrobacterium sp. y Corynebacterium sp. .

7. Los medios de pulpa y cáscara y pulpa de plátano son convenientes para la reproducción de los microorganismos patógenos, ya que tienen los sustratos necesarios para evitar que perezcan al no encontrarse en su medio nativo.

B. RESUMEN

En el presente trabajo se estudió plátano de la variedad enano gigante 3/4 lleno proveniente de Tecomán, Col., con objeto de aislar e identificar los microorganismos que afectan su calidad.

La investigación se dividió en 3 etapas:

1. Aislamiento de los microorganismos patógenos de plátano infectado.

2. Comprobación de la enfermedad. Esta parte se basó en un experimento piloto realizado con el fin de encontrar un método óptimo de obtención de resultados en la inoculación de plátano sano y estéril.

3. Identificación de los principales microorganismos basándose en el daño observado en la etapa anterior.

Los hongos fueron identificados de acuerdo a su observación morfológica macroscópica y microscópica.

Las bacterias se identificaron de acuerdo a su morfología macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas.

Este trabajo puede continuarse identificando a los microorganismos restantes, y efectuando pruebas con diferentes microbicidas para el combate y represión de todos los microorganismos patógenos.

CAPITULO V

BIBLIOGRAFIA

1. Alexopoulos, C.J. 1976.
Introducción a la Micología. 2a. ed.
Editorial Universitaria. Buenos Aires.
2. Anuarios Estadísticos 1970, 1971, 1972, 1973, 1974, 1976.
Secretaría de Industria y Comercio. México.
3. Arx, J.A.von. 1957 a. Die arten der Gattung Colletotri -
chum. Cda. Phytopath. Z. 29:413-468.
4. Arx, J.A.von. 1957 b. Revision der zu Gloeosporium -
gestellten pilze. Verh. Akad. Wet, Amst.Ser. 2 51:1-53.
5. ATAM. VII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de -
los Alimentos. 1976. Revista Tecnología de Alimentos.
II:205-223. México.
6. Barnet, H.L., Hunter, B.B. 1972.
Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3a. ed.
Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota.
7. Beneke, E.S., Rogers, A.L. 1970.
Medical Mycology Manual. 3rd. ed.
Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota.
8. Breed, R.S., Murray, E.G.D., Smith, N.R. 1974.
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th. ed.
The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
9. Bridge, Wm. Cooke. 1963.
A Laboratory Guide to Fungi in Polluted Waters, -
Sewage, and Sewage treatment systems. Their Identifi -
cation and Culture.
Cincinnati 26, Ohio.Public Health Service Publication.
No. 999-WP-1.

10. Collins, C.H., Taylor, C.E.D. 1969.
Métodos Microbiológicos.
Editorial Acribia. Zaragoza, España.
11. Champion, J. 1968.
El Plátano.
Editorial Blume. Barcelona, España.
12. Diccionario Enciclopédico U.T.E.H.A. 1972.
Tomo VII. U.T.E.H.A. México.
13. Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents -
for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures.
1953. Difco Laboratories. Detroit.
14. Farm Chemicals Handbook. 1977.
Meister Publishing Company.
63 rd. year of Publication.
Willoughby, Ohio.
15. Finch, H.C. y Finch, A.N. 1974.
Los Hongos Comunes que Atacan los Cultivos de América
Latina. 1a. ed.
Editorial Trilla. México.
16. Fröhlich, G., Rodewald, W. 1970.
Enfermedades y Plagas de las Plantas Tropicales. Des -
cripción y Lucha.
U.T.E.H.A.. México.
17. García Alvarez, M. 1977.
Patología Vegetal Práctica.
Editorial Limusa. México.
18. Gibbs, B.M., Skinner, F.A. 1966.
Identification Methods for Microbiologists. Part A.
Academic Press. London, New York.
19. Greene, G.L. and Goss, R.D. 1963.
Fungi Associated with Crown Rot of Boxed Bananas.
Phytopatology. 53:271-275.

20. Harrigan, W.F., Mc. Cance, M.E. 1966.
Laboratory Methods in Microbiology.
Academic Press. London, New York.
21. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales.S.A.G.
1976. Maduración de Cambures. México.
22. Jauch, C. 1970.
Patología Vegetal.
El Ateneo. Buenos Aires.
23. Laville, E. 1970.
Aspectos Fitopatológicos de los Problemas en la mejora
de la Calidad del Plátano.
Instituto Francés de Investigaciones Frutales de Ultra
Mar (IFAC). Frutas, (7-8):511-521. Francia.
24. Manejo de las Plantaciones y la Cosecha del Plátano. 1975
Comisión Nacional de Fruticultura. Folleto No. 3.
México.
25. Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos.
B.B.L. 1960, 1970, 1971.
Becton, Dickson de México, S.A. de C.V.
26. Manual of Histologic and Special Staining Technics. 1957
Armed Forces, Institute of Pathology.
Washington, D.C.
27. Manual of Microbiological Methods. 1957.
Society of American bacteriologist.
Committee of Bacteriological Technic.
Mac Graw-Hill Book Co. Inc. Toronto, New York, London.
28. Merk Sharp & Dohme International. Catálogo 1977.
Tecto. Rahway, N.J., U.S.A.
29. Merk Sharp & Dohme International. Catálogo 1977.
Mertec Líquido. Rahway, N.J., U.S.A.

30. Necesidades Nacionales de Producción Agrícola por Cultivos Ciclo Primavera Verano. 1976-76.
Dirección General de Agricultura.
Departamento de Planeación Agrícola. No. 3 Enero 1976.
México.
31. Ochse, J.J., Soule, M.J., Dijkman, M.J. 1965.
Cultivo y Mejoramiento de Plantas Subtropicales y Tropicales. Vol. I. -
Centro Regional de Ayuda Técnica.
Editorial Limusa Wiley. México.
32. Pffizer, División Agrícola. Catálogo 1977.
Agri-Micin 500. México.
33. Potter, N. 1973.
La ciencia de los Alimentos.
EDUTEX, S.A. México.
34. Prévot, A.R. 1961.
Traité de Systematique Bactérienne. Vol. II.
Dunod. París.
35. Sarasola, A.A., Rocca de Sarasola, M.A. 1975.
Fitopatología. Curso Moderno. Vol. IV.
Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires.
36. Secretaría de Agricultura y Ganadería.
Consumos Aparentes. 1971-1975.
Dirección General de Estadística A.
México, D.F.
37. Skinner, Ch.E., Emmons, Ch.W., Tsuchiya, H.M. 1947.
Molds, Yeast and Actinomycetes.
John Wiley and Sons. Chapman and Hall Limited.
London, New York.
38. Thatcher, F.S. y Clark, D.S. 1973.
Análisis Microbiológico de los Alimentos.
Editorial Acribia. Zaragoza, España.

39. The Merck Index. 1976.
Ninth Edition.
Published by Merck & Co., Inc.
Rahway, N.J., U.S.A.
40. Wardlaw, C.W. 1972.
Banana Disease. Cap. VII.
Longmans. London.
41. Zapater, R.C. 1965.
Atlas de Diagnóstico Micológico.
Editorial El Ateneo. Buenos Aires.