

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD DE Mycosphaerella fijiensis A  
PROPICONAZOL, BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PRESION DE LA  
ENFERMEDAD, EN LA ZONA BANANERA DEL ATLANTICO DE GUATEMALA.

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RONNY ESTUARDO MANCILLA RUANO  
EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO  
INGENIERO AGRONOMO

EN  
SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA  
EN EL GRADO ACADEMICO DE  
LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1994.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD DE *Syntherisma flabellata* A  
PROPIONATO, BAJA DIFERENTES CONDICIONES DE HESION DE LA  
ENTREDA, EN LA ZONA HUMANA DEL ATLANTICO DE GUATEMALA.

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

ROBY ESTUARDO MARCELA RUANO  
EN EL ATO DE INVESTIGACION COMO  
INGENIERO AGRONOMO

EN  
SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA  
EN EL GRADO ACADEMICO DE  
LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1964.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
01  
T(499)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

Dr. JAFETH ERNESTO CABRERA FRANCO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO  
VOCAL PRIMERO  
VOCAL SEGUNDO  
VOCAL TERCERO  
VOCAL CUARTO  
VOCAL QUINTO  
SECRETARIO

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA  
Ing. Agr. MAYNOR ESTRADA ROSALES  
Ing. Agr. WALDEMAR NUFIO REYES  
Ing. Agr. CARLOS MOTTA DE PAZ  
Prof. GABRIEL AMADO ROSALES  
Br. AUGUSTO GUERRA GUTIERREZ  
Ing. Agr. MARCO ROMILIO ESTRADA



Guatemala, Noviembre de 1994.

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala.

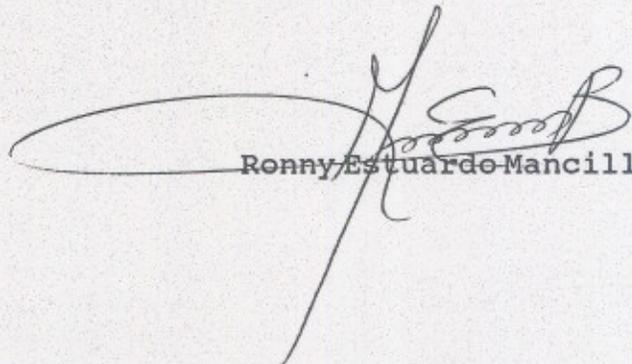
Señores miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD DE Mycosphaerella fijiensis A  
PROPICONAZOL, BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PRESION DE LA  
ENFERMEDAD, EN LA ZONA BANANERA DEL ATLANTICO DE GUATEMALA.**

al presentarlo como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Atentamente,



Ronny Estuardo Mancilla Ruano



ACTO QUE DEDICO

A DIOS TODO PODEROSO

Por permitirme alcanzar una de mis metas

A MIS PADRES

Pedro Mancilla Chacón  
Adolfina Ruano Solórzano

A MIS ABUELOS

Adolfo Ruano Escobar  
Belarmina Solórzano de Ruano

A MI ESPOSA

Sayra Julissa Orellana Herrera

A MI HIJA

María Alejandra Mancilla Orellana

A MIS TIOS, TIAS,  
HERMANOS, PRIMOS

Con cariño especial

A MI ALDEA

La Libertad, Morales, Izabal

A LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA

A MIS AMIGOS

En general



## AGRADECIMIENTO

Agradecimiento sincero a mis asesores Ing. Agr. M.Sc. Amilcar Gutiérrez e Ing. Agr. M.Sc. Edil Rodríguez Quezada, por su orientación en el presente trabajo de tesis.

Al Ing. Agr. M.Sc. Marcial Guzmán Alburez, por su colaboración y apoyo.

A las empresas CIBA-GEIGY y BANDEGUA, por la ayuda proporcionada para la ejecución de la presente investigación.

Al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía, por proporcionar el mobiliario, equipo y reactivos para la ejecución de la presente investigación.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de esta tesis.



## CONTENIDO

	PAGINA.
CONTENIDO .....	i
INDICE DE FIGURAS .....	iii
INDICE DE CUADROS .....	v
1. INTRODUCCION .....	1
2. DEFINICION DEL PROBLEMA.....	2
3. MARCO TEORICO .....	4
3.1. MARCO CONCEPTUAL .....	4
3.1.1. La sigatoka, historia, diseminación e impacto.....	4
3.1.2. Organismo causal .....	5
3.1.3. Clasificación del hongo .....	5
3.1.4. Control de la enfermedad .....	5
3.1.4.1. Fungicidas protectantes.....	5
3.1.4.2. Fungicidas sistemicos .....	6
3.1.4.3. Coadyuvantes .....	6
3.1.5. Resistencia de patógenos a fungicidas de acción específica .....	6
3.1.5.1. Definición de resistencia a fungicidas .....	6
3.1.5.2. Surgimiento de la resistencia a fungicidas de acción específica .....	7
3.1.5.3. Factores de los cuales depende el desarrollo de la resistencia a los fungicidas .....	7
3.1.5.4. Factores que afectan el desarrollo de la re- sistencia a los fungicidas .....	8
3.1.5.5. Mecanismos de resistencia a los fungicidas .....	8
3.1.5.6. Resistencia cruzada y múltiple a fungicidas .....	9
3.1.6. Fungicidas inhibidores de la síntesis del er- gosterol .....	9
3.1.6.1. Características de los fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol .....	11
3.1.6.2. Clasificación de los fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol .....	11
3.1.6.3. Mecanismos de acción de los fungicidas inhibi- dores de la síntesis del ergosterol .....	11
3.2. MARCO REFERENCIAL .....	12
3.2.1. Resistencia a fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol, en laboratorio y campo .....	12
3.2.2. Métodos para la detección de resistencia a fun- gicidas en <u>Mycosphaerella fijiensis</u> .....	13
3.2.3. Métodos utilizados para detectar resistencia a fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol .....	14
3.2.4. Análisis de los datos .....	14
3.2.5. Consideraciones generales en que se basa el método .....	15
3.2.6. Características del fungicida propiconazol a utilizar .....	15

3.2.7.	Características generales del fungicida .....	16
4.	OBJETIVOS.....	17
5.	HIPOTESIS .....	17
6.	METODOLOGIA.....	18
6.1.	Origen de la muestra de <u>M. fijiensis</u> .....	18
6.2.	Localidades que se consideraron en el ensayo.....	18
6.3.	Ubicación del ensayo .....	19
6.4.	Diseño de tratamientos .....	19
6.5.	Diseño del experimento .....	19
6.6.	Variable de respuesta .....	19
6.7.	Muestreo .....	19
6.8.	Tipo de planta .....	20
6.9.	Incubación .....	20
6.10.	Esterilización de la cristalería .....	20
6.11.	Monitoreo de resistencia .....	21
6.12.	Análisis de los datos de monitoreo .....	22
6.12.1.	Cálculo de la concentración efectiva 50 (EC <sub>50</sub> )....	22
6.12.1.1.	Análisis de regresión .....	22
6.12.1.2.	Análisis gráfico .....	22
6.12.2.	Cálculo del porcentaje de inhibición de tubo germinativo.....	23
6.13.	Determinación del efecto de las aplicaciones de PPZ sobre la sensibilidad de Sigatoka negra .....	23
6.14.	Severidad de la enfermedad y clima.....	23
7.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
7.1.	Tendencias de sensibilidad de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol.....	24
7.1.1.	Análisis de valores de concentración efectiva 50 (EC <sub>50</sub> ) por localidad durante 1993 y 1994.....	24
7.1.2.	Determinación del porcentaje de inhibición a 0.1 ppm de Propiconazol por localidad.....	32
7.2.	Efecto del período libre en la sensibilidad de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol.....	38
7.2.1.	Comparación de valores de concentración efectiva 50 y sensibilidad a propiconazol al inicio y final de dos períodos libres (1993 y 1994).....	38
7.2.2.	Determinación del porcentaje de inhibición a 0.1 ppm de Propiconazol por fecha de muestreo....	40
7.3.	Comparación de cambios de sensibilidad con los métodos EC <sub>50</sub> y porcentajes de inhibición de tubo germinativo .....	46
7.4.	Comparación de valores de concentración efectiva 50 (EC <sub>50</sub> ) obtenidos con los métodos gráfico y matemático.....	47
8.	CONCLUSIONES.....	49
9.	RECOMENDACIONES.....	50
10.	BIBLIOGRAFIA .....	51
11.	APENDICES.....	55

## INDICE DE FIGURAS

	PAGINA.
1. Vía para la biosíntesis del ergosterol .....	10
2A. Ubicación geográfica de la zona de estudio .....	56
3A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en cuatro localidades muestreadas en Enero 93.....	57
4A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en cuatro localidades muestreadas en Abril 93.....	58
5A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreadas en Junio 93.....	59
6A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreadas en Septiembre 93.....	60
7A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreadas en Enero 94.....	61
8A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreadas en Mayo 94.....	62
9. Hoja más joven con mancha necrótica (grado de daño de sigatoka negra), en la región bananera del Atlántico de Guatemala.....	26
10. Precipitación pluvial mensual ocurrida en la región bananera del Atlántico de Guatemala, de Enero '93 a Mayo '94.....	27
11. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para Bananera (testigo), en los diferentes muestreos realizados.....	33
12. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 1, en los diferentes muestreos realizados.....	34
13. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 2, en los diferentes muestreos realizados.....	35
14. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 3, en los diferentes muestreos realizados.....	36

15.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 4, en los diferentes muestreos realizados.....	37
16.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 5, en los diferentes muestreos realizados.....	38
17.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, en el primer muestreo. Enero '93.....	41
18.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, en el segundo muestreo. Abril '93.....	42
19.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, en el tercer muestreo. Junio '93.....	43
20.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, en el quinto muestreo. Enero '94.....	44
21.	Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de <u>M. fijiensis</u> a Propiconazol a 0.1 ppm, en el sexto muestreo. Mayo '94.....	45

## INDICE DE CUADROS

	PAGINA.
1. Ubicación geográfica y elevación en metros sobre el nivel del mar de las localidades consideradas en el ensayo.....	18
2. Fecha y épocas en las que se realizaron los diferentes muestreos.....	20
3. Localidad 1. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	25
4. Comparación de valores de concentración efectiva 50 (ec50) y sensibilidad a propiconazol, entre muestreos realizados en cinco localidades con historial de aplicación del fungicida y Bananera (sin historial de aplicación); realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	25
5. Localidad 2. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	28
6. Localidad 3. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	29
7. Localidad 4. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	31
8. Localidad 5. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.....	32
9A. Localidad 1. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Junio '93 a Mayo '94.....	63

- 10A. Localidad 2. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Abril '93 a Mayo '94..... 64
- 11A. Localidad 3. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94..... 65
- 12A. Localidad 4. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94..... 66
- 13A. Localidad 5. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94..... 67
- 14A. Bananera. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94..... 68
15. Comparación de valores de concentración efectiva 50 ( $ec_{50}$ ) y sensibilidad a propiconazol al Inicio y Final de dos períodos libres de aplicación del fungicida; (De abril '93 a junio '93 y de enero '94 a mayo '94).. 39
16. Comparación de valores de concentración efectiva 50 ( $ec_{50}$ ) de propiconazol entre el método Gráfico y el método de regresión; para las diferentes localidades en los muestreos realizados; de enero '93 a mayo '94.. 48

"EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD DE Mycosphaerella fijiensis A PROPICONAZOL, BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PRESION DE LA ENFERMEDAD, EN LA ZONA BANANERA DEL ATLANTICO DE GUATEMALA."

"SENSITIVITY OF Mycosphaerella fijiensis TO PROPICONAZOL, UNDER DIFFERENT DISEASE PRESSURE CONDITIONS, IN THE BANANA ATLANTIC REGION OF GUATEMALA."

#### RESUMEN

Se estableció el nivel de sensibilidad de Mycosphaerella fijiensis al fungicida Propiconazol, utilizando el método recomendado por el "Comité de Acción para la Resistencia a Fungicidas" (FRAC), que utiliza ascosporas. Se evaluaron seis localidades de la zona bananera del atlántico de Guatemala, de las cuales cinco poseían historial de aplicación del fungicida evaluado (localidades 1, 2, 3, 4 y 5) y una localidad sin historial de aplicación del fungicida (Bananera), en seis épocas: al inicio del período libre de aplicación de triazoles (1993); a mediados del período libre (1993); al final del período libre (1993); en la época de mayor presión de la enfermedad (1993); al inicio del período libre de la siguiente temporada (1994) y al final del período libre de esta temporada (1994).

Los datos obtenidos en el ensayo fueron analizados utilizando el modelo de regresión semilogarítmico, dado por la ecuación:  $10^Y = a(X^b)$ , y por el método gráfico en papel semilogarítmico, para calcular la concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ); también se calculó el porcentaje de inhibición del tubo germinativo de las ascosporas.

Se concluyó, que en los 17 meses que duró el estudio, el comportamiento de la sensibilidad de M. fijiensis, fué hacia un incremento en su sensibilidad a Propiconazol; que la sensibilidad en las poblaciones de M. fijiensis fluctúa según los niveles de presión del fungicida y las condiciones de clima; que en los períodos libres de aplicación de Propiconazol, M. fijiensis recupera la sensibilidad al fungicida; y que de los métodos

utilizados para calcular la concentración efectiva 50, el método matemático ajusta los datos a un modelo, sin embargo el método gráfico es más simple, pero que ambos presentan similares resultados.

RESUMEN

Se estudió el nivel de sensibilidad de las larvas de *Trichogramma evanescens* al tóxico propiconazol, utilizando el método recomendado por el Comité de Acción para la Resistencia a los Fungicidas (IRAC), que utiliza suspensiones de las larvas de la tarta parásita del ático de *Drosophila*. Se las colocó en cinco pozales diferentes de aplicación del fungicida evaluado (concentraciones 1, 2, 3, 4 y 5) y una localidad sin tratamiento (localidad del fungicida (control)), en seis épocas: el inicio del período libre de aplicación de tratamientos (1991), a mediados del período libre (1992), al final del período libre (1993), en la época de mayor presión de la enfermedad (1994), al inicio del período libre de la siguiente temporada (1995) y al final del período libre de esta temporada (1996).

Los datos obtenidos en el ensayo fueron analizados utilizando el método de regresión semilogarítmica, dado por la ecuación:  $y = a + b \cdot x^c$ . Y por el método gráfico en papel semilogarítmico, para calcular la concentración efectiva  $EC_{50}$  (también se realizó el análisis de variación del tipo derivativo de las respuestas).

Se concluyó que en los 17 ensayos que duró el estudio, el comportamiento de la sensibilidad de *T. evanescens* fue similar a lo observado en su sensibilidad a Propiconazol, que la sensibilidad en las poblaciones de *T. evanescens* fijadas según los niveles de aplicación del fungicida y las condiciones de clima, así como en los períodos libres de aplicación de Propiconazol. *T. evanescens* muestra la sensibilidad al fungicida y que de los períodos

## 1. INTRODUCCION

El cultivo de banano es fuente de divisas y empleo en el país, siendo el tercer producto de exportación en importancia, en el año de 1991 alcanzó un valor de 67,589.6 miles de dólares (20), por lo que constituye un renglón importante para Guatemala.

Entre los factores limitantes de la producción de banano, la Sigatoka Negra, causada por Mycosphaerella fijiensis, es el principal problema. Ante esto se hace necesario su control utilizándose una cantidad ilimitada de fungicidas: protectantes y sistémicos. Los primeros se aplican en verano y los segundos en invierno que es la época cuando se dá la mayor presión de la enfermedad, y, por ende la mayor presión de selección de éstos fungicidas; dada por el mayor número de aplicaciones de los mismos.

En el cultivo de banano de exportación, la aparición de cepas resistentes a fungicidas específicos es un fenómeno relativamente nuevo. Por primera vez, en 1976, se detectó una cepa resistente de M. fijiensis al benomil y fué reportada en honduras. Posteriormente en Belice (1978) y Guatemala (1979), por Laville (1983), citado por Bustamante. (3)

En la actualidad para el control de la sigatoka negra son altamente utilizados los fungicidas sistémicos inhibidores de la síntesis del ergosterol (ISE), pero el uso continuo de éstos fungicidas puede generar tolerancia a los mismos por parte de M. fijiensis. De éstos fungicidas el propiconazol (PPZ) es el más utilizado, por lo tanto se hace necesario detectar oportunamente la pérdida de sensibilidad en el laboratorio del hongo al fungicida. Para éste caso se utilizó el método de monitoreo recomendado por el comité de acción para resistencia de fungicidas (FRAC, FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTE) (16), conocido como método de longitud de tubo germinativo de ascosporas. Este estudio se realizó en seis (6) localidades de la zona bananera del Atlántico del país; las cuales poseían diferente historial en la utilización del PPZ, e incluían una localidad que nunca ha sido expuesta directamente a la aplicación de fungicidas.

En muestras de sigatoka negra provenientes de esos sitios se evaluó la sensibilidad "in vitro" de M. fijiensis a diferentes concentraciones del fungicida y en seis épocas: al inicio del "período libre" de aplicación de triazoles (1993); a mediados del período libre (1993); al final del "período libre" (1993); en la época de mayor presión de la enfermedad (1993); al inicio del "período libre" de la siguiente temporada (1994) y al final del "período libre" de ésta temporada (1994). Es importante señalar que realmente no ocurrieron dos períodos libres en 1993, lo que pasó fue que hubo un verano no benigno en donde se suscitaron lluvias copiosas que motivó a realizar aplicaciones de PPZ durante este período en algunas localidades, ante esto el período libre de la mencionada temporada se interrumpió y fué relativamente corto, comparado con el del siguiente período (1994).

## 2. DEFINICION DEL PROBLEMA

Como se mencionó anteriormente entre los factores limitantes de la producción de banano, la Sigatoka Negra, causada por Mycosphaerella fijiensis, es el principal problema, y los fungicidas sistémicos, específicamente los inhibidores de la síntesis de ergosterol (ISE) son altamente utilizados para controlar la enfermedad o para mantenerla a niveles en que el daño no sea económicamente importante. Sin embargo existe el riesgo de que el patógeno adquiera resistencia al usar constantemente un mismo fungicida, especialmente si son sistémicos. El concepto "resistencia a fungicidas", varía de acuerdo a los diferentes investigadores que abordan el tema. Serres (30), dá la siguiente definición: "La resistencia en hongos es un fenómeno observado en ciertas razas normalmente sensitivas a ciertos fungicidas; que se manifiesta en una reducción de la sensibilidad a dichos productos, con la consiguiente pérdida de eficacia de los mismos para dichos hongos". Staub (36), la define de la siguiente manera: "Resistencia a fungicidas es una adaptación estable y hereditaria de un hongo a un fungicida, que dá como resultado una menor sensibilidad a dicho producto". Para una mayor utilidad práctica,

"La resistencia se puede definir como la disminución o pérdida de la capacidad de dicho producto para controlar una enfermedad fungosa que originalmente controlaba; aún cuando haya sido correctamente aplicado".

El propiconazol (PPZ) es el fungicida perteneciente al grupo de los triazoles de mayor uso actualmente en las bananeras de Centroamérica. El PPZ actúa inhibiendo la síntesis del ergosterol (ISE) a través de un camino metabólico específico, la inhibición de la demetilación (DMI), para fines prácticos, esto impide que los tubos germinativos de las esporas del hongo continúen su crecimiento. (4)

En los últimos dos años se ha venido notando una disminución parcial de la eficacia del PPZ en el control de la sigatoka negra, posiblemente debido a pérdida de sensibilidad de M. fijiensis al fungicida en cuestión.

Es importante considerar que las poblaciones naturales de hongos son más sensibles a un fungicida determinado que las poblaciones seleccionadas o aquellas que han adquirido cierta resistencia o pérdida de sensibilidad al mismo. Además éstas poblaciones naturales, lógicamente, están más capacitadas para sobrevivir que las poblaciones seleccionadas; por lo tanto, si durante un período determinado como la época de verano en la cual hay menor presión de enfermedad se suspenden las aplicaciones de fungicidas (ISE) que están causando la selección de esporas resistentes, se esperaría que las poblaciones naturales minimicen la expresión de resistencia de las poblaciones "resistentes". (8,29)

Tomando en consideración todo lo anteriormente expuesto, el presente trabajo de investigación pretendió determinar la magnitud del efecto ejercido por el "período libre" de aplicación de fungicidas ISE sobre la sensibilidad de las poblaciones de M. fijiensis al PPZ.

### 3. Marco Teórico

#### 3.1. Marco Conceptual

##### 3.1.1. La sigatoka, historia, diseminación e impacto

La sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) se observó por primera vez en 1969, en Guaruma I (Honduras). (3,39)

Durante 1969 a 1973, el avance de la enfermedad fué lento diseminándose a areas cercanas por medio del aire. (3)

Fuera de las fronteras de Honduras, la enfermedad fué detectada en Belice en 1975, Guatemala en 1977, Chinandega (Nicaragua), Santa Clara y Meseta Central (Costa Rica) en 1979, Sudeste de México, Panamá y Colombia en 1981 y en Martinica en 1982 e Isla de Ometepe (Nicaragua). (3,39)

La distribución y diseminación del hongo a otros países, ha sido a través del viento y del hombre, éste último por transportar material vegetal, dentro del área Centroamericana.

"El impacto económico de la enfermedad no sólo afecta al productor, sino también a la economía del país, que deja de percibir divisas por el decremento del volumen de exportaciones de fruta, y por la fuga de divisas debido a la compra de mayores volúmenes de los agroquímicos necesarios para el control de la enfermedad". (3)

Según Stover (39), la sigatoka negra duplica los costos de control debido a la mayor frecuencia de aplicación. Además indica que cerca del 85% de los costos implica los ingredientes aplicados y el resto en maquinaria de aplicación.

Stover (1986), citado por Gauhl (17), señala que en Centroamérica la sigatoka negra es la mayor amenaza para el cultivo de banano. Su combate significa el 27% de los costos de producción de la fruta.

Molina (24), menciona que el costo del control químico de la enfermedad en banano para exportar en Centro y Sur América es aproximadamente de 100 millones de dólares anuales.

### 3.1.2. Organismo causal

El hongo posee dos tipos de esporulación, sexual y asexual. Todos los peritecios de la fase sexual aparecen en grandes cantidades sobre la parte superior e inferior de la mancha foliar. (25,39)

Según Stover (1972), citado por Pons (25), M. fijiensis libera muchísimo más ascosporas (siete mil por pulgada cuadrada) que M. musicola (1500/pulgada cuadrada) (Leach 1964). Después de una lluvia mínima de 0.25 mm, cuando las hojas están bien mojadas, empieza a liberar 85% de ascosporas en las dos horas siguientes.

En cuanto a la fase asexual, las conidias se forman temprano sobre las rayas, de manera esparcida en el extremo de conidióforos, los cuales crecen individualmente o en pequeños grupos a partir de algunos estomas del haz. (25,39)

### 3.1.3. Clasificación del hongo

Reino.....	Fungi
División.....	Amastigomycota
Subdivisión.....	Ascomycotina
Clase.....	Ascomycetes
Subclase.....	Loculoascomycetidae
Orden.....	Dothideales
Familia.....	Dothideaceae
Género.....	<u>Mycosphaerella</u>
Especie.....	<u>fijiensis</u> (40)

### 3.1.4. Control de la Enfermedad

En general, se puede hablar de dos tipos de fungicidas según la forma en que actúan contra de la sigatoka negra.

#### 3.1.4.1. Fungicidas Protectantes

Estos productos al ser aplicados no penetran al interior del tejido de la hoja sino que forman una "capa protectora" sobre la superficie de la hoja, evitando que las esporas que "aterrizan" sobre la lámina causen infecciones. Dentro de este grupo se

distribuyen el Mancozeb en sus diferentes formulaciones y marcas, el Clorotalonil y el Calixin, aunque este último también posee algunas propiedades de los fungicidas sistémicos como la penetración translaminar. (27)

#### **3.1.4.2. Fungicidas Sistémicos**

Estos productos penetran al interior de la hoja y son movidos internamente hacia los bordes y puntas de las hojas. En consecuencia, su acción sobre el hongo la ejercen desde el interior de la hoja, pudiendo curar infecciones ocurridas con varios días de anterioridad a la aplicación. Todo lo anterior significa una efectividad y un período de protección mayor al obtenido con los fungicidas protectantes, lo cual posibilita que pueda alargarse el intervalo entre aplicaciones y que, de esta manera, se reduzca el número de las mismas y se abaraten los costos de control de la sigatoka negra. Dentro de este grupo se incluyen los Benzimidazoles (Benlate, Mertect y Tecto) y los Triazoles (Tilt, Triadimefon y otros).

El uso de éstos productos tiene que ser mucho más cuidadoso que el de los protectantes dado que por su modo bioquímico de acción el hongo puede desarrollar resistencia a los mismos. (27)

#### **3.1.4.3. Coadyuvantes**

Los coadyuvantes son sustancias que se agregan a la mezcla fungicida para incrementar al máximo su eficacia contra la sigatoka negra, dentro de estos uno de los más importantes lo constituye el aceite agrícola. (27)

#### **3.1.5. Resistencia de patógenos a fungicidas de acción específica.**

##### **3.1.5.1. Definición de resistencia a fungicidas.**

Según Delp y Dekker (12), el desarrollo de resistencia a fungicidas es un ajuste estable y hereditario de un hongo hacia un fungicida, que dá por resultado una menor sensibilidad a ese fungicida. Este término se usa generalmente para cepas de especies

sensibles que han cambiado, usualmente por mutación, para ser menos sensibles a un compuesto tóxico.

### **3.1.5.2. Surgimiento de la resistencia a fungicidas de acción específica.**

La resistencia a una sustancia puede ser causada por varios mecanismos: a) modificación del sitio sensible al fungicida en el metabolismo del hongo; b) escape de un sitio del metabolismo afectado por el desarrollo de una vía alterna; c) cambio en la membrana citoplasmática, resultando en una disminución en la captación o un aumento en la excreción del tóxico y d) detoxificación o una baja conversión en sustancia tóxica. (8,10)

Según Georgopoulos (18), los organismos son capaces de adquirir resistencia a muchas sustancias tóxicas ya sea por reajuste de su material genético o a través de la adquisición de genes adicionales de fuentes externas.

### **3.1.5.3. Factores de los cuales depende el desarrollo de la resistencias a los fungicidas.**

Según Dekker, citado por Prevot (26), los factores de los que depende el desarrollo de la resistencia son: a) la presencia o el desarrollo de células resistentes al fungicida y b) la acumulación de poblaciones patógenas resistentes al fungicida. El primero no puede evitarse ya que ocurre naturalmente, sin embargo el segundo se ve influenciado por:

- 1) El tipo de fungicida
  - aptitud del mutante resistente
  - persistencia del fungicida en el campo
- 2) El uso del fungicida
  - nivel de uso
  - modo de aplicación
  - área tratada; influencia de área no tratada
  - tasa de aplicación y productos alternativos
  - resistencia cruzada negativamente correlacionada

### 3) El tipo de enfermedad

- rapidez de el ataque
- propagación de el patógeno
- presencia del umbral de infección
- ciclo de vida del patógeno

#### 3.1.5.4. Factores que afectan el desarrollo de la resistencia a los fungicidas.

Según Dekker (8,9,10), los factores que afectan el desarrollo de la resistencia son: a) adaptabilidad de las cepas resistentes: una relación entre resistencia y adaptabilidad reducida disminuye el riesgo de resistencia; b) el tipo de enfermedad y el ciclo de vida del patógeno: la resistencia puede propagarse más rápido con un patógeno que tenga una abundante esporulación y un ciclo de infección repetitivo que un patógeno del suelo de propagación lenta; c) la presión de selección del fungicida: esta depende de la dosis, frecuencia y cobertura de la aplicación, persistencia y eficiencia del fungicida, y d) condiciones ambientales tales como: clima propicio para la enfermedad y la posibilidad de ingreso de células sensibles de campo no tratados.

#### 3.1.5.5. Mecanismos de resistencia a los fungicidas

Existen dos formas en que se presenta la resistencia hacia los fungicidas:

- a) "Cuantitativamente, por medio de una pérdida gradual de la sensibilidad al producto; bajo esta forma la población inicial se manifiesta por una distribución unimodal en cuanto a resistencia con un desarrollo gradual de ésta con el tiempo y
- b) Cualitativamente, a través del establecimiento de una nueva población del patógeno, altamente resistente al producto; bajo esta forma la población inicial del patógeno se manifiesta por una distribución bimodal, en cuanto a resistencia, donde hay una alta frecuencia de individuos sensibles y otro grupo con una baja frecuencia de individuos resistentes, con el tiempo se va invirtiendo las proporciones en presencia del fungicida"

(19,33,34,35); Wolf (1982); Koller y Schenpflug (1987), citados por Willians (41).

Skylakis (33); Koller y Schenpflug (1987), citados por Willians (41), "consideran que se manifiesta la respuesta cuantitativa en los fungicidas ISE".

#### **3.1.5.6. Resistencia cruzada y múltiple a fungicidas**

Delp y Dekker (12) y Georgopoulos (18), indican que la resistencia cruzada es aquella que se manifiesta a dos o más fungicidas de acción similar, y es controlada por el mismo factor genético. Y la resistencia múltiple es aquella que se manifiesta a dos o más fungicidas no relacionados, y es controlada por diferentes factores genéticos.

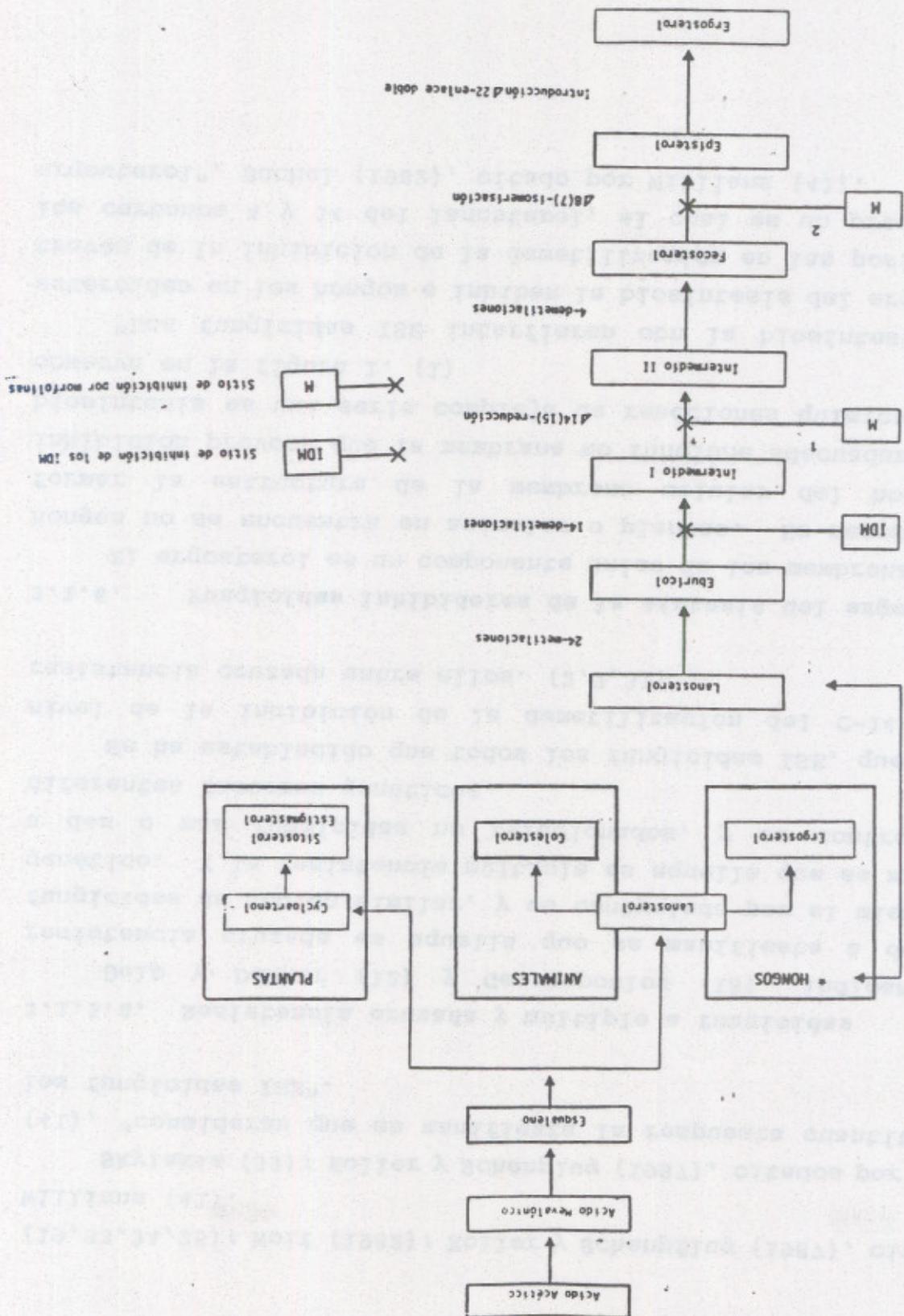
Se ha establecido que todos los fungicidas ISE, que actúan a nivel de la inhibición de la demetilización del C-14 provocan resistencia cruzada entre ellos. (2,7,31)

#### **3.1.6. Fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol.**

El ergosterol es un componente único de las membranas de los hongos no se encuentra en animales o plantas. Es necesario para formar la estructura de la membrana celular del hongo y su inhibición provoca que la membrana no funcione adecuadamente. Su biosíntesis es una serie compleja de reacciones químicas como se observa en la figura 1. (1)

"Los fungicidas ISE interfieren con la biosíntesis de los esteroides en los hongos e inhiben la biosíntesis del ergosterol a través de la inhibición de la demetilización en las posiciones de los carbonos 4 y 14 del lanosterol, el cual es un precursor del ergosterol", Buchel (1982), citado por Willians (41).

Figura 1. Vía para la biosíntesis del Ergosterol.



### 3.1.6.1. Características de los fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol.

Según Fuchs (15), los fungicidas ISE tienen las siguientes particularidades: 1-Poseen un anillo que contiene al menos un átomo de nitrógeno; 2-Poseen al menos un átomo asimétrico (existen excepciones); y 3-Interfieren con la síntesis del ergosterol inhibiendo la demetilización del carbono número 14 (existen excepciones).

### 3.1.6.2. Clasificación de los fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol.

Fuchs (15), clasifica los fungicidas ISE de acuerdo al anillo que contiene el átomo de N<sub>2</sub>.

Con un sistema de anillo saturado

1-con dos átomos de nitrógeno: PIPERAZINAS (Triforine), 2-con un átomo de nitrógeno y otro de oxígeno: MORFOLINAS (Tridemorph, Fenpropimorph, Dodemorph).

Con un sistema de anillos insaturados

1-con un átomo de nitrógeno en un anillo de seis átomos: PYRIDINAS (Buthiobate, EL-241), 2-con dos átomos de nitrógeno en un anillo de seis átomos: PYRIMIDINAS (Ancymidol, Fenarimol, Nuarimol, Triarimol), 3-con dos átomos de nitrógeno en un anillo de cinco átomos: IMIDAZOLES (Clorotrimazole, Dodecyl-imidazole, Econazole, Imazalil, Ketonazole, Miconazole, Phenapropil, Prochloraz, XE-326), 4-con tres átomos de nitrógeno en un anillo de cinco átomos: TRIAZOLES (Bitertanol, Propiconazole, Diclobutrazol, Fluotrimazole, Triadimefon, Triadimenol, Flusilazole).

### 3.1.6.3. Mecanismos de acción de los fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol.

Siegel (31) y De Waard (7), dividen los fungicidas ISE en dos categorías, de acuerdo con el sitio exacto de acción:

a) inhibidores de la demetilización del carbono número 14 (C-14), ésta categoría incluye todos los derivados de los imidazoles, piridinas, pirimidinas y triazoles; el fungicida se une al

citocromo P-450 por medio de la reacción de la hidrolización microsomal del grupo metil C-14 en uno de los precursores del ergosterol inhibido (lanosterol), esto conduce a una acumulación de metabolitos intermedios del ergosterol y un agotamiento del contenido de ergosterol del micelio;

b) morfolinás, estos productos no interfieren con la demetilización del C-14 pero inhiben la reductasa y la isomerasa. Las consecuencias de éstos dos mecanismos es la reducción del ergosterol, en la célula del hongo, el cual es un constituyente esencial de las membranas y del crecimiento del hongo.

### 3.2. Marco referencial

#### 3.2.1. Resistencia a fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol, en laboratorio y campo.

La selección de mutantes resistentes a los fungicidas ISE se obtiene rápidamente sobre medios de cultivo que contienen fungicidas a concentraciones letales. La frecuencia de mutación hacia resistencia a éstos fungicidas es mayor que la de otros fungicidas de acción por sitio específico. (7)

DE Waard (7), menciona que el nivel máximo de resistencia en mutante de laboratorio es bastante bajo, comparada con otros fungicidas de acción por sitio específico. La relación de la  $CE_{50}$  de los individuos resistentes a la  $CE_{50}$  de los individuos susceptibles ( $CE_{50}(R):CE_{50}(S)$ ), de estos fungicidas, generalmente está alrededor de 10 mientras que para otros fungicidas de acción por sitio específico (benzimidazoles) está alrededor de 100-1000.

Las cepas resistentes a éstos fungicidas presentan una baja adaptabilidad comparadas a las cepas normales en ausencia del fungicida. (9).

"Desde 1980 se ha detectado una baja en la sensibilidad de Erysiphe graminis f.sp. hordei a triadimefon en Inglaterra tres años luego de empezar a utilizar el fungicida", Buchenauer y Hellwald (2) y Wolfe (1985) citado por Willians (41).

Wolfe (1985), citado por Willians (41), indica "que el transcurso de un ciclo de cultivo en ausencia de triadimefon la

frecuencia de cepas resistentes puede bajar considerablemente, aunque también señala que la patogenicidad de las cepas insensibles aumenta a través de los ciclos de cultivo compitiendo con las cepas sensibles en ausencia de fungicidas".

El grupo de trabajo sobre fungicidas ISE de la FRAC, FRAC (1989), citados por Willians (41), señalan "una baja en la sensibilidad de E. graminis, Venturia inaequalis, Uncinula necator y Penicillium digitatum a estos fungicidas".

### 3.2.2. Métodos para la detección de resistencia a fungicidas en Mycosphaerella fijiensis.

Los métodos hasta ahora utilizados para la detección de resistencia en M. fijiensis, han dado buenos resultados cuando se aplica a benzimidazoles. Por cuanto el mecanismo de acción de estos fungicidas produce resultados que se evalúan mejor con éste método. (41)

Willians (41), indica que se han evaluado los niveles de resistencia a éstos fungicidas usando diferentes estructuras del hongo.

Stover (38), basó su sistema de monitoreo en función del tipo de germinación (normal, corto, deformado, no germinado) de las especies en agar agua con benomil; ésta es una metodología que evalúa aspectos cualitativos. Este método está descrito en un boletín técnico de Dupont, Sigatoka Negra... (1982) (13). Un método para el fungicida benomil también lo describen Bustamante y Lopez. (3)

Bureau et-al (1982), citados por Willians (41), evaluando el mismo fungicida, pero sobre M. musicola, comparó el crecimiento de colonias de éste hongo sobre agar jugo V8 con y sin benomil. Aunque estableció la presencia de poblaciones resistentes al fungicida no explicó, que criterios utilizó para definir sus resultados en función de ausencia o presencia de resistencia.

De hecho estos métodos han dado buenos resultados para la detección de resistencia a fungicidas benzimidazoles, por su mecanismo de acción; a través del cual previene la germinación de



porcentajes de reducción en las siguientes clases de inhibición: de 0-10, de 10.1-30, de 30.1-50, de 50.1-70 y >70. Estos resultados se grafican tanto por muestreo como por localidad, a todas las concentraciones de propiconazol.

### 3.2.5. Consideraciones generales en que se basa el método.

Romero y Marin (28), indican que este método está basado en algunos supuestos implícitos, no del todo ciertos, como son: una población del patógeno con características genéticas lo bastante homogéneo como para ser delimitado con una misma media (poblacional), dentro y entre poblaciones; o que las respuestas del patógeno serán las mismas independientemente de las condiciones climáticas. La inconsistencia de estos supuestos, han hecho que en cada laboratorio en que se realizan las pruebas de monitoreo de resistencia en M. fijiensis a los fungicidas ISE, se obtienen resultados relativamente diferentes, aunque con tendencias similares.

### 3.2.6. Características del fungicida propiconazol.

Nombre comercial Tilt, formulación 250 EC (250 gramos de propiconazol por litro). Tilt es un fungicida altamente eficaz, que se basa en el propiconazol, desarrollado originalmente por Ciba Geigy para combatir el complejo de enfermedades que se presentan en cereales. Igualmente se ha demostrado que tilt ofrece así mismo soluciones interesantes para muchos otros cultivos. En base a la experiencia adquirida durante varios años en los ensayos de campo efectuados en plantaciones de banano, se puede recomendar tilt para controlar la enfermedad "Sigatoka", ocasionada por Mycosphaerella spp. en banano. Tilt se caracteriza por su acción sistémica y su capacidad de combatir esta enfermedad mediante tratamientos preventivos, así como curativos. La alta actividad de tilt contra todas las especies de Mycosphaerella resistentes o sensibles a los fungicidas clásicos, lo hacen adecuado para el eficiente control de estas enfermedades foliares importantes del banano dentro de un programa de aplicaciones.(4)

### 3.2.7. Características generales del fungicida.

- Formulación líquida, de fácil manejo.
- Buena miscibilidad con los aceites de aspersión.
- Baja toxicidad para el usuario.
- Excelente eficacia en aceite, agua o emulsión.
- Período de protección contra la enfermedad: 2-4 semanas.
- Interfiere en los diferentes estadios del desarrollo de la enfermedad e inhibe la producción de peritecios.
- Es favorable en cuanto a la situación de residuos en los frutos.
- Sus propiedades sistémicas evitan que la sustancia activa sea lavada por el agua de lluvia o de irrigación; su actividad no se ve afectada si llueve 1-2 horas después de aplicado.
- Su modo de acción es diferente al de los fungicidas convencionales utilizados contra la sigatoka, ya que inhibe la síntesis de ergosterol, a través de la demetilización del carbono 14.
- Es bien tolerado por el cultivo. (4)

#### 4. OBJETIVOS

##### GENERAL

- Evaluar in-vitro la sensibilidad de Myco-sphaerella fijiensis al propiconazol (PPZ) bajo diferentes condiciones de presión de la enfermedad en el campo, en Izabal, Guatemala.

##### ESPECIFICOS

1. Detectar cambios de sensibilidad en las poblaciones de M. fijiensis sometidas a distintos niveles de presión de selección ejercidos por el PPZ.
2. Identificar el efecto que sobre la sensibilidad de M. fijiensis ejercen los períodos libres de aplicaciones de PPZ. (fincas con diferente historial en el uso del PPZ).

#### 5. HIPOTESIS

1. La sensibilidad de las poblaciones de M. fijiensis a PPZ en la región será menor al final del estudio (17 meses después de su inicio).
2. La sensibilidad de M. fijiensis a Propiconazol será mayor al final del período libre de aplicación de fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol.

## 6. METODOLOGIA

### 6.1. Origen de la muestra de M. fijiensis.

Las muestras de hojas enfermas de banano que se utilizaron para el experimento se tomaron de seis (6) localidades de la zona bananera del Atlántico. Ubicadas en las coordenadas que van de 15°16'20" a 15°28'20" latitud norte y de 88°49'30" a 89°03'10" longitud oeste, a una altura de 40-70 metros sobre el nivel del mar (cuadro 1), una temperatura media anual de 25.58 °C, una humedad relativa media anual de 82.2% (figura 2A). (21)

Según Thortwhite, se encuentra en la zona tropical húmeda, con un clima cálido, invierno benigno y una época seca no bien definida marzo y abril. (5)

Según Simmons, et-al (32), sus suelos pertenecen a las series IA: suelos de la altiplanicie central, suelos sobre esquisto y arcilla esquistosa, y, IIIE: suelos de las tierras bajas de el Peten Caribe, suelos aluviales.

CUADRO 1. Ubicación geográfica y elevación en metros sobre el nivel del mar de las localidades consideradas en el ensayo.

CLAVE	LOCALIDAD	LATITUD	LONGITUD	ELEVACION (MSNM)
8.4	1	15°17'12"	89°00'41"	66
8.5	2	15°21'13"	88°51'40"	50
8.4.	3	15°16'50"	89°01'23"	68
8.4	4	15°20'20"	88°57'05"	53.5
8.4.	5	15°16'20"	89°03'10"	70
8.5	Bananera	15°28'20"	88°49'30"	40

Referencias: 8 = Departamento Izabal  
 4 = Municipio Los Amates  
 5 = Municipio Morales  
 MSNM = Metros sobre del nivel mar

### 6.2. Localidades que se consideraron en el ensayo.

Se tomaron seis (6) localidades de la zona bananera del Atlántico: Cinco localidades (fincas) que tienen historial de aplicación de fungicidas ISE y una localidad testigo en la cual no

se han aplicado fungicidas ISE.

### 6.3. Ubicación del ensayo.

El experimento se realizó en los laboratorios de fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### 6.4. Diseño de tratamientos.

Se evaluaron cinco concentraciones de propiconazol: 0.0 (testigo), 0.01, 0.1, 1.0 y 10 ppm; en agar-agua al 2%.

### 6.5. Diseño del experimento.

Se utilizó el diseño experimental completamente al azar con 2 repeticiones y 5 tratamientos, por lo que cada caja de petri se convirtió en un tratamiento, por tanto en una unidad experimental.

### 6.6. Variable de respuesta.

La variable de respuesta que se tomó fue la longitud del tubo germinativo de las ascosporas, se midieron los tubos más largos de 50 ascosporas, tomadas al azar dentro de las cajas de petri

### 6.7. Muestreo.

Se realizaron seis (6) muestreos en seis localidades (cuadro 2): primer muestreo (1993): se hizo al inicio del periodo libre de aplicaciones de fungicidas ISE; segundo muestreo (1993): a mediados del periodo libre de aplicaciones de fungicidas ISE; tercer muestreo (1993): al final del periodo libre de aplicaciones de fungicidas ISE; cuarto muestreo (1993): en la época de mayor presión de la enfermedad; quinto muestreo (1994): al inicio del periodo libre de la siguiente temporada; y el sexto muestreo (1994) al final del periodo libre de la siguiente temporada. Los muestreos se realizaron de la siguiente manera: Se colectaron pedazos de tejido enfermo y con peritecios de hojas de 10 plantas que se tomaron al azar hasta cubrir el área de la finca completa. En cada muestreo se incluyó una muestra de una localidad en la que

no se han aplicado fungicidas ISE. Antes de que las hojas fueran colectadas debió haber transcurrido un periodo de al menos 1 semana después del último tratamiento con fungicidas ISE. (22)

**CUADRO 2.** Fecha y épocas en las que se realizaron los diferentes muestreos.

NUMERO MUESTREO	FECHA DE MUESTREO	EPOCA DE MUESTREO
Primer muestreo	27/1/1993	Inicio de período libre
Segundo muestreo	26/4/1993	Mediados de período libre
Tercer muestreo	29/6/1993	Final de período libre
Cuarto muestreo	16/9/1993	Epoca de mayor severidad de la Sigatoka Negra
Quinto muestreo	28/1/1994	Inicio de período libre
Sexto muestreo	12/5/1994	Final de período libre

#### 6.8. Tipo de planta.

Se seleccionaron las hojas más jóvenes con tejidos necróticos o "quemados", de plantas próximas a parir. (22)

#### 6.9. Incubación.

Los pedazos de hojas se secaron previo a su uso y el tejido se incubó dentro de bolsas plásticas con algodón humedecido, durante 48 horas a temperatura ambiente del laboratorio. (22)

#### 6.10. Esterilización de la cristalería.

Las cajas de petri y las pipetas serológicas se colocaron para su esterilización en un horno a 180 °C durante 2 horas. (22)

**6.11. Monitoreo de resistencia.**

- Al medio agar-agua esterilizado se agregó las soluciones del fungicida propiconazol (tilt) para preparar las siguientes concentraciones (en partes por millón de ingrediente activo):
  1. 0.01
  2. 0.1
  3. 1.0
  4. 10.0
  5. 0.0
- Se vació el agar-agua al 2% conteniendo el fungicida en las cajas de petri marcadas para cada concentración del fungicida Propiconazol. Se dejó durante 1 hora para que el medio solidificara.
- Después de incubar, las muestras de hoja se sacaron de la bolsa plástica, se escogieron los siete pedazos más grandes que presentaron una coloración grisácea en el tejido infectado y se enumeraron con tinta, de cada pedazo de éstos se tomaron diez pequeños pedazos (10) de 1-2 cm<sup>2</sup> los que tenían el mismo número.
- Esos pedazos pequeños de hoja se adhirieron con grapas a un círculo de papel manila de 9 cm de diámetro colocando el haz de la hoja en contacto con el papel. En cada círculo de papel iban los siete (7) pedacitos de diferentes hojas que se tomaron anteriormente. Luego éstos círculos de papel se sumergieron en agua destilada durante 5 minutos y se colocaron inmediatamente en la parte interna de la tapadera de una caja de petri con los pedacitos expuestos hacia la otra parte de la caja de petri que contenía medio y fungicida.
- Se dejaron los pedacitos de hoja descargando las ascosporas durante 1 hora. Luego se les dió vuelta a las cajas de petri, y se marcó el área que correspondía a los pedacitos de hoja en el fondo de la caja, usando un lápiz de cera y posteriormente se quitaron los círculos de papel de la tapadera.
- Las cajas de petri se incubaron a 26 °C por 48 horas para que las ascosporas germinaran.

- Se examinó la superficie marcada del agar, con un microscopio a 10x. Se chequearon 50 ascosporas por caja en 5 campos (10 ascosporas por campo) a 40x. (22)
- Se midió la longitud de los tubos germinativos (en micras) de las ascosporas, se midieron 100 tubos por cada concentración de propiconazol. Se leyó el tubo más recto y más largo de cada ascospora utilizando un ocular que posee un micrómetro en su interior y que previamente estaba calibrado para el aumento 40x. (22,23)

#### 6.12. Análisis de los datos de monitoreo.

Se calculó el promedio de la longitud de los 100 tubos por cada concentración y la desviación estándar. Además se calculó el porcentaje de longitud respecto al testigo para cada valor promedio de cada concentración y luego el porcentaje de reducción de cada concentración con respecto al testigo. También se calculó el porcentaje de inhibición de tubo germinativo de las ascosporas para la concentración 0.1 ppm con respecto a la media de la concentración cero (0). (23)

##### 6.12.1. Cálculo de la concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ).

###### 6.12.1.1. Análisis de regresión.

Se utilizó el modelo que más se ajustó (coeficiente de regresión (valor de  $R^2$ ) más alto). Para esto se usaron los valores de las medias del porcentaje de reducción con respecto al testigo para cada concentración. El modelo que se utilizó fué el semilogarítmico:  $10^Y = a(x^b)$ , en donde x, la variable independiente es la concentración del Propiconazol y Y, la variable dependiente es el % de reducción. a y b son constantes. Definida la ecuación, se despejó el valor  $Y = 50$  y ese es el valor  $EC_{50}$ . (23)

###### 6.12.1.2. Análisis Gráfico.

Se plotearon los valores de porcentaje (%) de reducción de tubo germinativo de cada concentración, respecto al testigo en papel semilogarítmico, y se trazó la curva correspondiente. Para

determinar el valor  $EC_{50}$  simplemente se ploteó en el eje x (la concentración de propiconazol), el valor correspondiente al 50% de reducción de los tubos (en el eje y). (23)

#### 6.12.2. Cálculo del Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo.

Se calculó el porcentaje de reducción de tubo germinativo para cada tubo por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Reducción} = 100 - \frac{\text{Longitud de tubo}^* * 100}{\text{Promedio long. concent. cero}^*}$$

\* En micras

Luego se determinó el porcentaje (%) de frecuencia de los porcentajes de reducción en las siguientes clases de inhibición: de 0-10, de 10.1-30, de 30.1-50, de 50.1-70 y >70. Se presenta la concentración 0.1 ppm, por ser una concentración crítica, que refleja los cambios actuales en los porcentajes de inhibición.

#### 6.13. Determinación del efecto de las aplicaciones de PPZ sobre la sensibilidad de Sigatoka negra.

Se compararon los valores  $EC_{50}$  obtenidos al inicio y al final del "periodo libre" de aplicaciones de fungicidas ISE. También se compararon los valores  $EC_{50}$  en diferentes épocas, según el programa de aplicaciones de fungicidas ISE en cada finca, para conocer la variación de la sensibilidad del hongo a PPZ.

#### 6.14. Severidad de la enfermedad y clima:

Con el fin de tener información más completa se analizó las condiciones de clima, especialmente la precipitación pluvial. Además para conocer el grado de daño de la sigatoka negra se obtuvieron los datos de la hoja más joven manchada (YLS).

## 7. RESULTADOS Y DISCUSION

### 7.1. Tendencias de sensibilidad de M. fijiensis a Propiconazol.

#### 7.1.1. Análisis de valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) por localidad durante 1993 y 1994.

En las figuras 3A a la 8A (anexo), se observa el comportamiento de las localidades en cuanto al porcentaje de reducción de tubo germinativo a las diferentes concentraciones de PPZ que se utilizaron en el ensayo, se nota que a mayor concentración del fungicida mayor es el porcentaje de reducción. También se presentan los valores de  $EC_{50}$  para cada localidad.

En los cuadros 3 y 4, se presentan los días de período libre de aplicaciones, los valores de  $EC_{50}$  y el número de aplicaciones de propiconazol para la localidad 1 en los diferentes muestreos realizados, y la comparación de valores de  $EC_{50}$  y sensibilidad a propiconazol (PPZ) entre muestreos realizados en cinco localidades con historial de aplicación del fungicida y Bananera (respectivamente) la cual es la localidad testigo, ubicada aproximadamente a 30 kilómetros de distancia de las localidades consideradas.

- Localidad 1: En el cuadro 3, se observa que en el muestreo III con 533 días de período libre de aplicaciones de fungicidas inhibidores de la síntesis de ergosterol, (aproximadamente 1.5 años sin aplicación de PPZ), el valor de  $EC_{50}$  (0.27 ppm) obtenido no fué el más bajo como se esperaba, sin embargo se mantiene dentro del rango de las otras localidades para esa fecha (0.23-0.41 ppm).

CUADRO 3. Localidad 1. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.

	NUMERO Y FECHA DE MUESTREO					
	I 27/1/93	II 26/4/93	III 29/6/93	IV 16/9/93	V 28/1/94	VI 12/5/94
DPL	SD	SD	533	-----	28	132
EC <sub>50</sub> (ppm)	SD	SD	0.27	0.28	0.44	0.088
NAP	0	0	0	1	4	0

DPL Días de período libre de aplicaciones de Propiconazol (PPZ)

EC<sub>50</sub> Concentración efectiva 50

NAP Número de aplicaciones de Propiconazol (PPZ) previo al período libre

SD Sin datos

CUADRO 4. Comparación de valores de concentración efectiva 50 (EC<sub>50</sub>) y sensibilidad a propiconazol entre muestreos realizados en cinco localidades con historial de aplicación del fungicida y Bananera (sin historial de aplicación); Realizados de Enero '93 a Mayo '94.

LOCALIDAD	VALORES EC <sub>50</sub> (ppm)						TENDENCIA EN SENSIBILIDAD						
	27/1/93 1	26/4/93 2	29/6/93 3	16/9/93 4	28/1/94 5	12/5/94 6	1/2	2/3	3/4	4/5	5/6	1/5	1/6
L1	SD	SD	0.27	0.28	0.44	0.088	SD	SD	-	-	+	+	+
L2	SD	0.44	0.31	0.57	1.36	0.141	SD	+	-	-	+	+	+
L3	0.56	SD	0.25	1.05	0.32	0.128	SD	-	-	+	+	+	+
L4	0.43	SD	0.23	0.81	0.33	0.167	SD	SD	-	+	+	+	+
L5	0.37	0.19	0.41	0.20	0.34	0.211	+	-	+	-	+	+	+
BANANERA	0.036	0.0007	0.003	.048	0.021	0.003	+	-	-	+	+	+	0

\* Comparación entre muestreos

+ Presentó mayor sensibilidad

- Presentó menor sensibilidad

0 No hay cambio en sensibilidad

SD Sin datos

El muestreo IV, resulta ser el que se ubica en la época de mayor severidad de la enfermedad (figura 9) por las copiosas lluvias ocurridas (figura 10). Después de una aplicación de PPZ el valor de  $EC_{50}$  (0.28 ppm) se mantiene estable. Para inicios de 1994 se realizó el muestreo V, aquí el valor de  $EC_{50}$  fué de 0.44 ppm, que comparado con los anteriores valores es más alto, lo que era de esperarse por el hecho de que ésta localidad había estado sometida a una presión de cuatro aplicaciones del fungicida; en el muestreo VI ésta localidad tenía 132 días de periodo libre, presenta un valor de  $EC_{50}$  cinco veces más bajo (0.088 ppm) comparado con el muestreo anterior, esto se explica ya que es cuando finaliza el periodo libre y el hongo recupera la sensibilidad al propiconazol (cuadro 4).

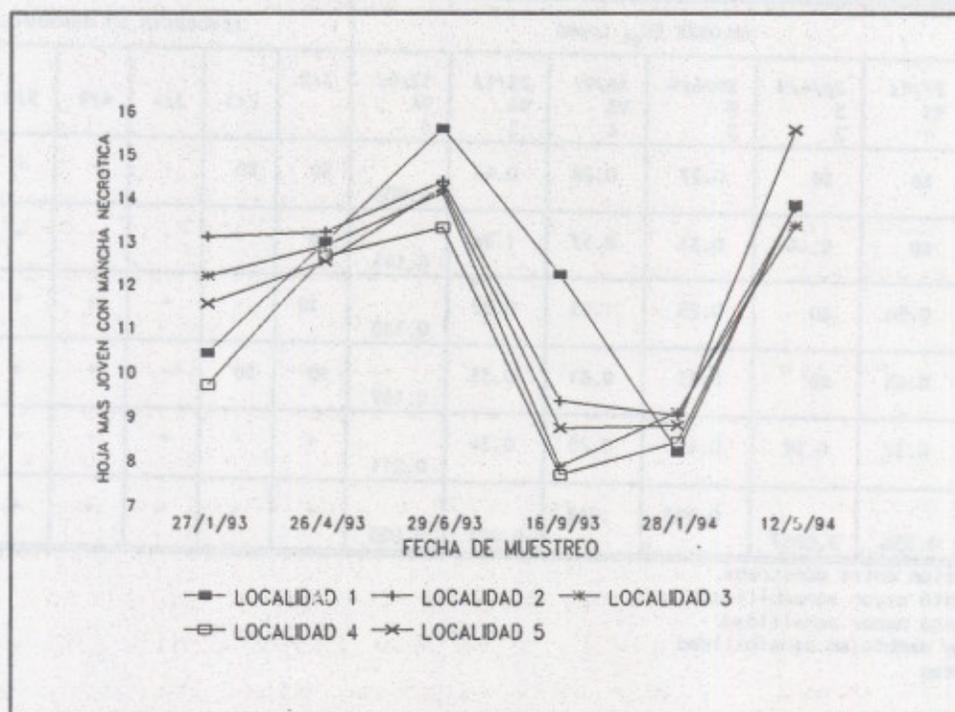


Figura 9. Hoja más joven con mancha necrótica (grado de daño de sigatoka negra), en la región bananera del Atlántico de Guatemala.

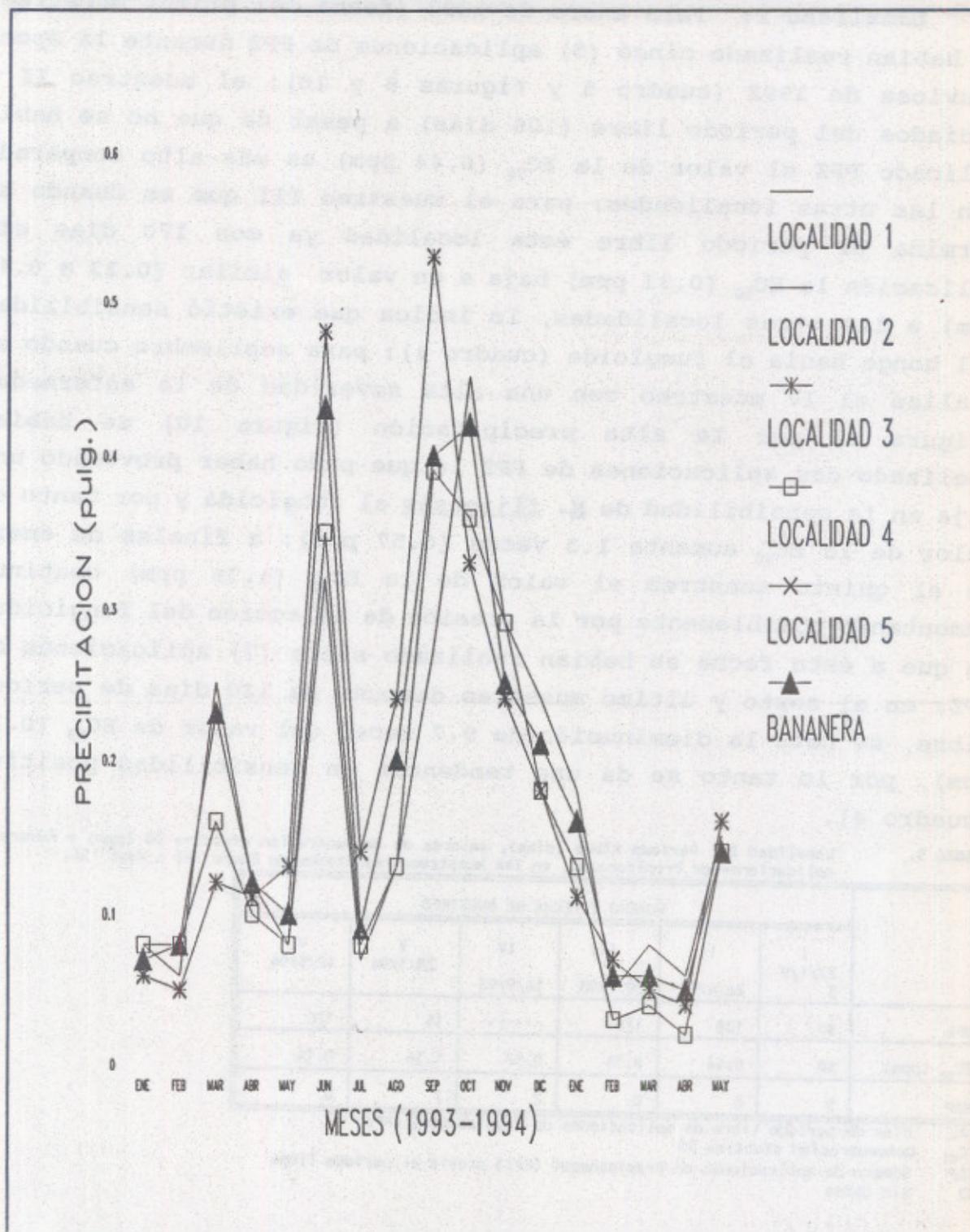


Figura 10.

Precipitación pluvial mensual ocurrida en la región bananera del Atlántico de Guatemala, de Enero '93 a Mayo '94.

- **Localidad 2:** Para enero de 1993 (fecha del primer muestreo) se habían realizado cinco (5) aplicaciones de PPZ durante la época lluviosa de 1992 (cuadro 5 y figuras 9 y 10); el muestreo II a mediados del período libre (106 días) a pesar de que no se había aplicado PPZ el valor de la  $EC_{50}$  (0.44 ppm) es más alto comparado con las otras localidades; para el muestreo III que es cuando se termina el período libre ésta localidad ya con 170 días sin aplicación la  $EC_{50}$  (0.31 ppm) baja a un valor similar (0.23 a 0.41 ppm) a las otras localidades, lo indica que existió sensibilidad del hongo hacia el fungicida (cuadro 4); para septiembre cuando se realizó el IV muestreo con una alta severidad de la enfermedad (figura 9) por la alta precipitación (figura 10) se habían realizado dos aplicaciones de PPZ lo que pudo haber provocado una baja en la sensibilidad de *M. fijiensis* al fungicida y por tanto el valor de la  $EC_{50}$  aumenta 1.3 veces (0.57 ppm); a finales de enero en el quinto muestreo el valor de la  $EC_{50}$  (1.36 ppm) continuó aumentando posiblemente por la presión de selección del fungicida, ya que a ésta fecha se habían realizado siete (7) aplicaciones de PPZ; en el sexto y último muestreo después de 120 días de período libre, se nota la disminución de 9.7 veces del valor de  $EC_{50}$  (0.14 ppm), por lo tanto se da una tendencia en sensibilidad positiva (cuadro 4).

CUADRO 5. Localidad 2. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.

	NUMERO Y FECHA DE MUESTREO					
	I 27/1/93	II 26/4/93	III 29/6/93	IV 16/9/93	V 28/1/94	VI 12/5/94
DPL	SD	106	170	-----	16	120
$EC_{50}$ (ppm)	SD	0.44	0.31	0.57	1.36	0.14
NAP	5	0	0	2	7	0

DPL Días de período libre de aplicaciones de Propiconazol (PPZ)

$EC_{50}$  Concentración efectiva 50

NAP Número de aplicaciones de Propiconazol (PPZ) previo al período libre

SD Sin datos

- **Localidad 3:** En el cuadro 6, se presenta la localidad 3, en la que para el muestreo I las aplicaciones previas al período libre habían sido seis (6) durante la época lluviosa de 1992, supuestamente por mayor problema con la severidad de la enfermedad en la temporada anterior, lo que redonda en un mayor valor de  $EC_{50}$  (0.56 ppm) comparado con las otras localidades; el muestreo II se realizó luego de una aplicación de PPZ, por lo que se interrumpió el período libre, por la severidad (figura 9) que presentaba la enfermedad debido a las altas precipitaciones (figura 10), ante tal circunstancia el período libre para ésta localidad se hizo más corto, y se tomó a partir de éste muestreo. En el muestreo III, con 93 días de período libre el valor de la  $EC_{50}$  (0.25 ppm) aumentó 3 veces comparado con el muestreo anterior, esto debido a un incremento de la severidad de la enfermedad (figura 9) por las lluvias intensas (figura 10); el cuarto muestreo presenta como el valor de la  $EC_{50}$  (1.05 ppm) aumenta 4.2 veces luego de 2 aplicaciones de PPZ; en el quinto muestreo se observa una disminución (3.3 veces) del valor de la  $EC_{50}$  (0.32 ppm) a pesar de las múltiples (8) aplicaciones de PPZ y en el sexto muestreo después de haber transcurrido 120 días sin aplicaciones de PPZ el valor de la  $EC_{50}$  (0.128 ppm) baja 2.5 veces del valor anterior lo que demuestra una recuperación de la sensibilidad del hongo al fungicida después de un período libre (cuadro 4).

CUADRO 6. Localidad 3. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.

	NUMERO Y FECHA DE MUESTREO					
	I 27/1/93	II 26/4/93	III 29/6/93	IV 16/9/93	V 28/1/94	VI 12/5/94
DPL	7	29	93	----- -	16	120
$EC_{50}$ (ppm)	0.56	SD	0.25	1.05	0.32	0.128
NAP	6	1	0	2	8	0

DPL: Días de período libre de aplicaciones de Propiconazol (PPZ)  
 $EC_{50}$ : Concentración efectiva 50  
 NAP: Número de aplicaciones de Propiconazol (PPZ) previo al período libre  
 SD: Sin datos

- **Localidad 4:** La localidad 4 (cuadros 7 y 4), luego de seis (6) aplicaciones de PPZ durante la época lluviosa de 1992, en el primer muestreo presenta un valor de la  $EC_{50}$  alto (0.43 ppm), como se esperaba, ya que es cuando finaliza la época de mayor severidad de la enfermedad de la temporada pasada. Se observa que el período libre se interrumpió también para ésta localidad por la severidad de la enfermedad; en el tercer muestreo el valor de la  $EC_{50}$  (0.23 ppm) es más bajo comparado con las otras localidades, es importante señalar entonces que en ésta localidad se dió uno de los períodos libres para 1993 más corto (98 días), pero la precipitación fué menor que para las otras localidades (figura 10), lo que implicó en que las condiciones no fueran las adecuadas para el desarrollo de la enfermedad (figura 9). El cuarto muestreo luego de dos (2) aplicaciones presenta un incremento en el valor de la  $EC_{50}$  (0.81 ppm); para el muestreo V cuando terminó el período de mayor presión del fungicida (7 aplicaciones de PPZ) el valor de la  $EC_{50}$  es más bajo (0.33 ppm) comparado con el valor del muestreo anterior, este comportamiento no es similar a las otras localidades en las cuales la tendencia ha sido a presentar valores de  $EC_{50}$  más altos (0.34 - 1.36 ppm), a excepción de la localidad 3, 0.32 ppm (cuadro 6), provocado esto probablemente por la interrupción del período libre de aplicaciones de PPZ en éstas dos localidades. El muestreo VI después de transcurrir 115 días de período libre al igual que en las otras localidades el valor de la  $EC_{50}$  (0.167 ppm) es más bajo mostrando entonces, el hongo, una tendencia a mayor sensibilidad hacia el fungicida.

CUADRO 7. Localidad 4. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.

	NUMERO Y FECHA DE MUESTREO					
	I 27/1/93	II 26/4/93	III 29/6/93	IV 16/9/93	V 28/1/94	VI 12/5/94
DPL	4	SD	98	----- -	11	115
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.43	SD	0.23	0.81	0.33	0.167
NAP	6	1	0	2	7	0

DPL Días de período libre de aplicaciones de Propiconazol (PPZ)  
 EC<sub>50</sub> Concentración efectiva 50  
 NAP Número de aplicaciones de Propiconazol (PPZ) previo al período libre  
 SD Sin datos

- **Localidad 5:** Esta localidad (cuadros 8 y 4), muestra un comportamiento muy similar a las otras localidades, en el primer muestreo después de siete (7) aplicaciones de PPZ en la temporada anterior es la localidad con mayor presión del fungicida, lo que indica que luego de cierto número de aplicaciones la pérdida de sensibilidad no sufrió ningún cambio al menos para ésta localidad en éste muestreo comparada con las otras localidades, ya que los valores de EC<sub>50</sub> son muy similares (0.37 a 0.56 ppm). Hay que considerar que en los resultados presentados en éste trabajo, la severidad de la enfermedad influye en la sensibilidad que el hongo puede presentar hacia la aplicación del fungicida, se podría decir que a mayor severidad de la enfermedad durante un período largo de tiempo menor será la sensibilidad del hongo hacia el fungicida, para el cuarto muestreo, luego de dos (2) aplicaciones de PPZ el valor de la EC<sub>50</sub> (0.20 ppm) es relativamente alto comparado con las otras localidades; al final del período libre (sexto muestreo) con 112 días sin aplicación de PPZ el valor de la EC<sub>50</sub> disminuyó 1.61 veces con respecto al muestreo anterior.

CUADRO 8. Localidad 5. Período libre (días), valores de concentración efectiva 50 (ppm) y número de aplicaciones de Propiconazol, en los muestreos realizados de Enero '93 a Mayo '94.

	NUMERO Y FECHA DE MUESTREO					
	I 27/1/93	II 26/4/93	III 29/6/93	IV 16/9/93	V 28/1/94	VI 12/5/94
DPL	9	98	162	----- -	8	112
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.37	0.19	0.41	0.20	0.34	0.211
NAP	7	0	0	2	6	0

DPL Días de período libre de aplicaciones de Propiconazol (PPZ)  
 EC<sub>50</sub> Concentración efectiva 50  
 NAP Número de aplicaciones de Propiconazol (PPZ) previo al período libre  
 SD Sin datos

Algunos resultados "no esperados" en cuanto a las tendencias de los valores de EC<sub>50</sub> en las diferentes localidades pueden deberse al manejo particular de cada una. Especialmente en lo que respecta a las diferentes medidas de control pero especialmente el control químico. Se asume que la variabilidad del método (valores EC<sub>50</sub> entre lecturas) es mínimo. De igual manera que la variabilidad de las poblaciones entre localidades es insignificante.

Los rangos de sensibilidad para las localidades con aplicaciones de PPZ estuvieron entre 0.19 y 0.44 ppm al inicio y 0.23 y 0.41 ppm al final de 1993 y entre 0.32 y 1.36 ppm al inicio y 0.088 y 0.211 ppm al final para 1994, lo que muestra una mayor sensibilidad del hongo hacia el fungicida para 1994 que para 1993.

Los cuadros 9A, 10A, 11A, 12A, 13A y 14A (anexo); presentan la longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard y porcentaje) para las concentraciones de propiconazol utilizadas en los diferentes muestreos para cada localidad.

#### 7.1.2. Determinación del porcentaje de inhibición a 0.1 ppm de Propiconazol por localidad.

En la figuras 11, 12, 13, 14, 15 y 16, se presenta el porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a la concentración 0.1 ppm, para las diferentes localidades evaluadas en los diferentes muestreos realizados.

- **Bananera (testigo):** En ésta localidad (figura 11), la mayor frecuencia de inhibición se presenta en la clase más alta (>70), lo que muestra una alta sensibilidad en ésta localidad del hongo hacia el fungicida, comprensible por el hecho de que es la localidad sin historial de aplicación de PPZ. Si se compara el comportamiento de ésta localidad con las otras localidades, ninguna presenta un comportamiento similar, ya que las mismas a pesar de que en los periodos libres mostraron recuperación en sensibilidad, ésta no es lo suficientemente alta como para indicar que las menos sensibles de *M. fijiensis* se terminan durante el período libre: sin embargo, como lo indica Dekker (9), en éste periodo las cepas menos sensibles presentan poca adaptabilidad en ausencia del fungicida, comparadas con las cepas normales o naturales, por lo cual al finalizar los periodos libres se evidencia cierta recuperación pero no total de la sensibilidad.

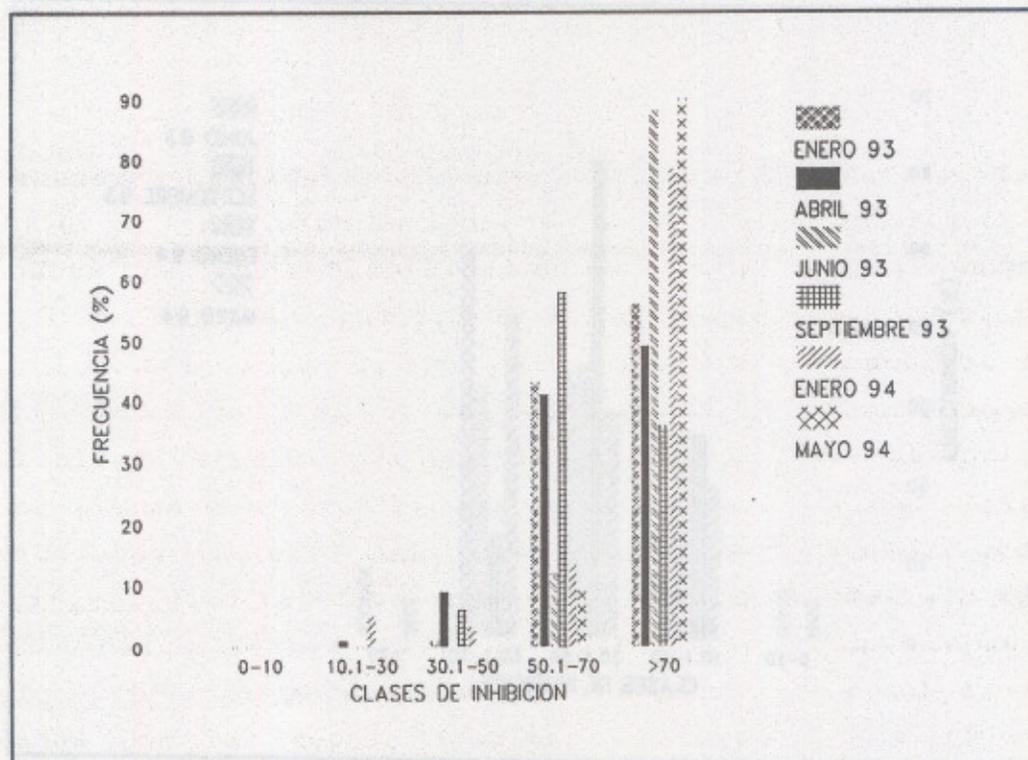


Figura 11. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para Bananera (testigo), en los diferentes muestreos realizados.

- **Localidad 1:** Se presenta en la figura 12, y se puede apreciar que la mayor frecuencia de inhibición para todos los muestreos se ubica en las clases que van de 30.1 a 70, siendo esto un índice de que en esta localidad los porcentajes de inhibición fueron considerables en los muestreos realizados. Si se compara el tercer muestreo (junio 1993) con el cuarto muestreo (septiembre 1993) se observa que la tendencia es hacia una pérdida de sensibilidad, lo que se explica por el hecho de que el cuarto muestreo se ubica en la época de mayor severidad de la enfermedad (figura 10); el quinto muestreo (enero 1994) presenta similar comportamiento al cuarto muestreo; el sexto muestreo (mayo 1994) es el que presenta los mayores porcentajes de inhibición, lo que muestra una recuperación de la sensibilidad de *M. fijiensis* hacia el fungicida. Si se compara contra bananera (figura 11), se denota que en general esta localidad presenta menor sensibilidad.

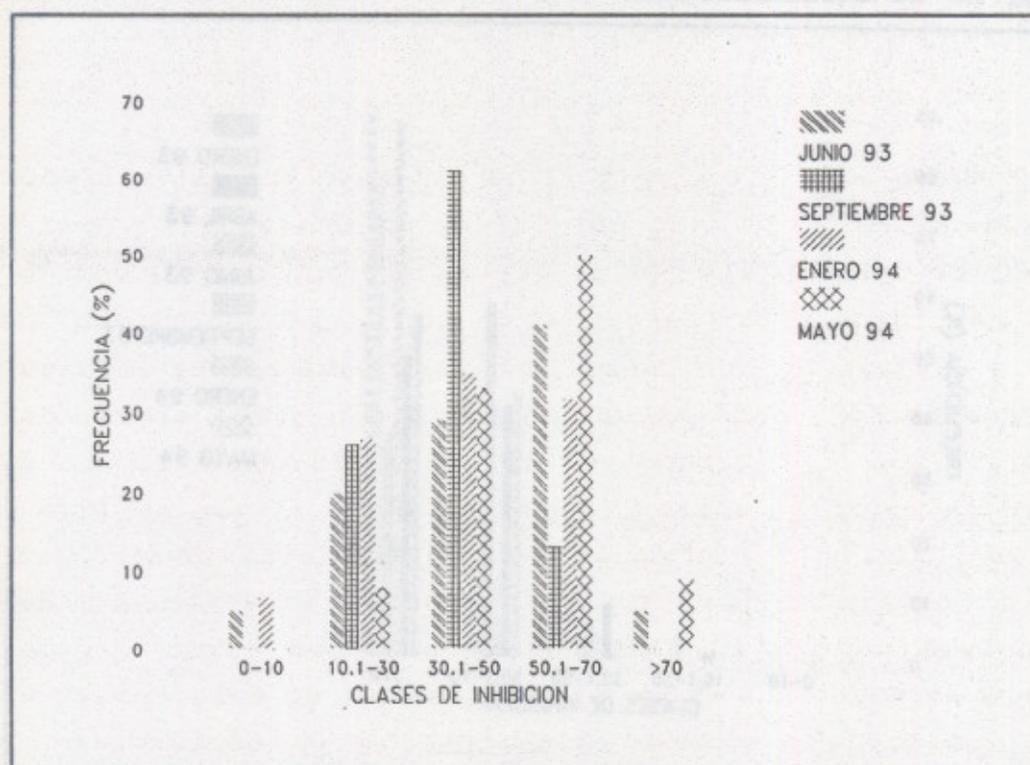


Figura 12.

Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 1, en los diferentes muestreos realizados.

- **Localidad 2:** En la figura 13, se observa que en el segundo (abril 1993) y tercer muestreo (junio 1993) los mayores porcentajes de inhibición se localizan en las clases que van de 10.1 a 50, no mostrando una tendencia definida en sensibilidad, el mismo comportamiento presenta el cuarto muestreo (septiembre 1993) en donde se puede decir que tampoco hubo un cambio marcado en lo que respecta a la sensibilidad; para el quinto muestreo (enero 1994) al final de época de mayor severidad de la enfermedad (figura 10) y de presión del fungicida, esta localidad sufre cierta pérdida de sensibilidad, ya que los mayores porcentajes de frecuencia se ubican en la clase de inhibición que va de 10.1-30; en el sexto muestreo (mayo 1994) se nota la recuperación de la sensibilidad de la localidad ya que sus mayores frecuencias de inhibición se movilizaron hacia la derecha, aunque no a las clases más altas como se esperaba.

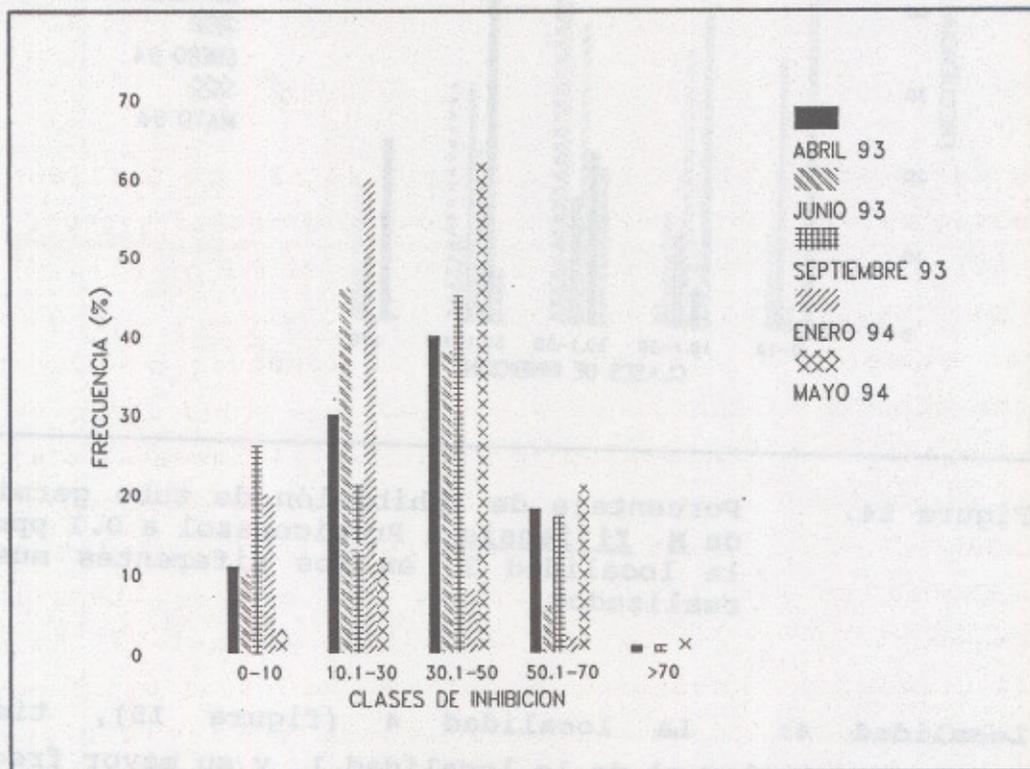


Figura 13. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 2, en los diferentes muestreos realizados.

- **Localidad 3:** Esta localidad (figura 14), presenta un comportamiento variable en sus porcentajes de inhibición especialmente en los primeros 3 muestreos realizados, sin embargo, el muestreo seis realizado en mayo 94, muestra cierta recuperación de la sensibilidad de *M. fijiensis* hacia el Propiconazol (PPZ). Pero si se compara esta localidad con Bananera (figura 11), se observa como también al igual que las otras localidades presenta menor sensibilidad.

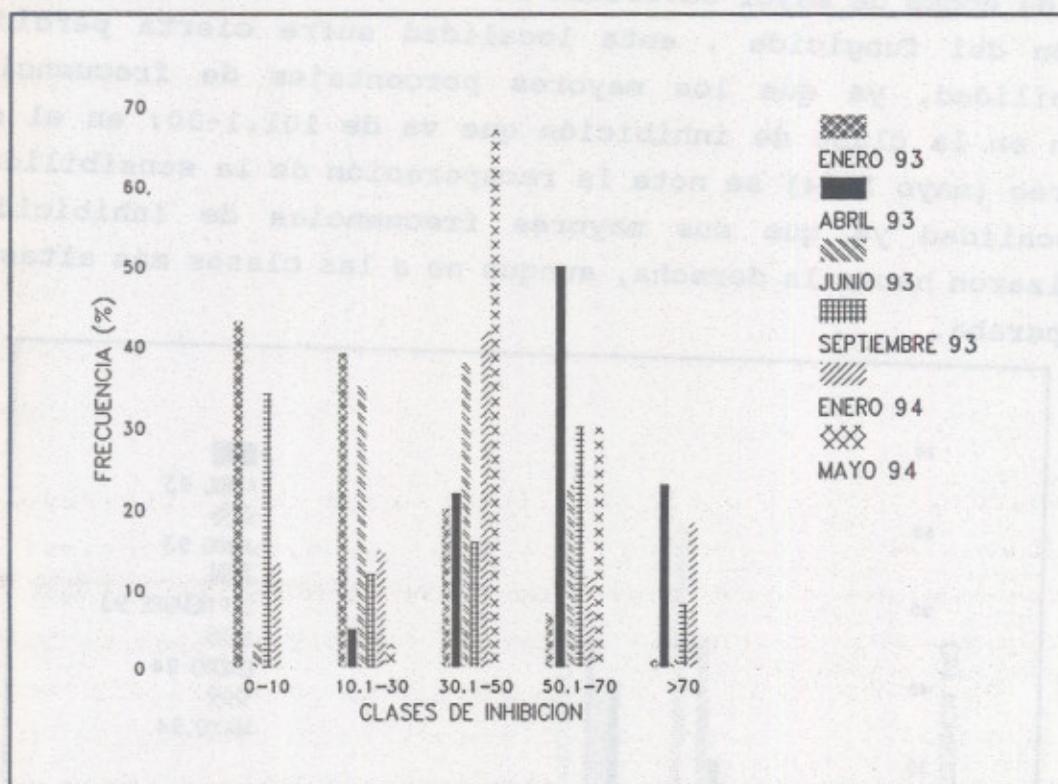


Figura 14. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 3, en los diferentes muestreos realizados.

- **Localidad 4:** La localidad 4 (figura 15), tiene un comportamiento similar al de la localidad 1, y su mayor frecuencia de inhibición la presenta en la clase que va de 30.1 a 50. Presentando cierta recuperación al final de cada período libre, como las otras localidades (muestreos realizados en junio 93 y mayo

94). Sin embargo, bananera (figura 11) presenta su mayor frecuencia de inhibición en la clase >70, índice de que la tendencia de ésta localidad es a presentar menor sensibilidad que el testigo.

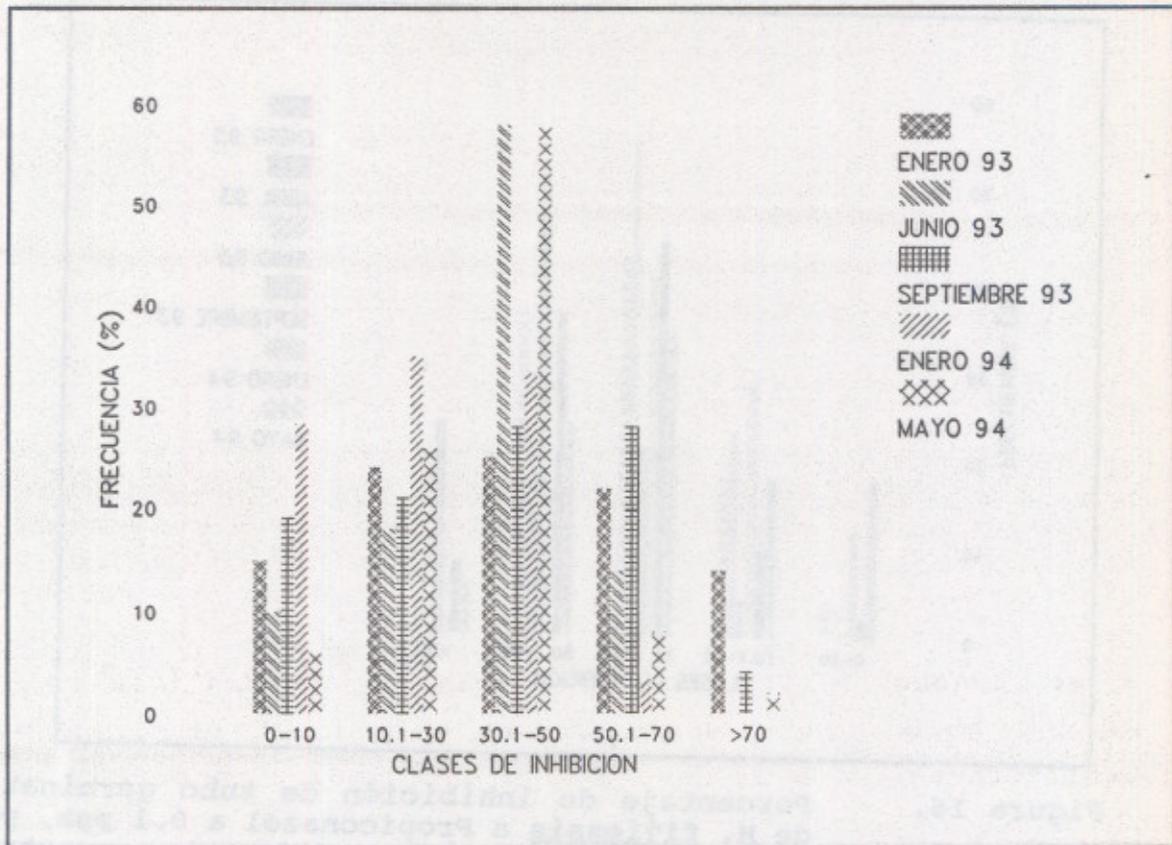


Figura 15. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 4, en los diferentes muestreos realizados.

- **Localidad 5:** Se observa en la figura 16, también un similar comportamiento que en la localidad 1 y 4, presentando su mayor frecuencia de inhibición en las clases que van de 30.1 a 70, lo que evidencia poca recuperación de la sensibilidad al final de los períodos libres de aplicación de PPZ. Esta localidad presenta la mayor inhibición para el cuarto muestreo (septiembre 93), éste resultado se sale considerablemente de lo mostrado por las otras

localidades en las cuales éste muestreo presentaba juntamente con el muestreo cinco (enero 94) los mayores porcentajes de inhibición. Se observa aunque en menor proporción el efecto de los periodos libres (muestreos en junio 93 y mayo 94).

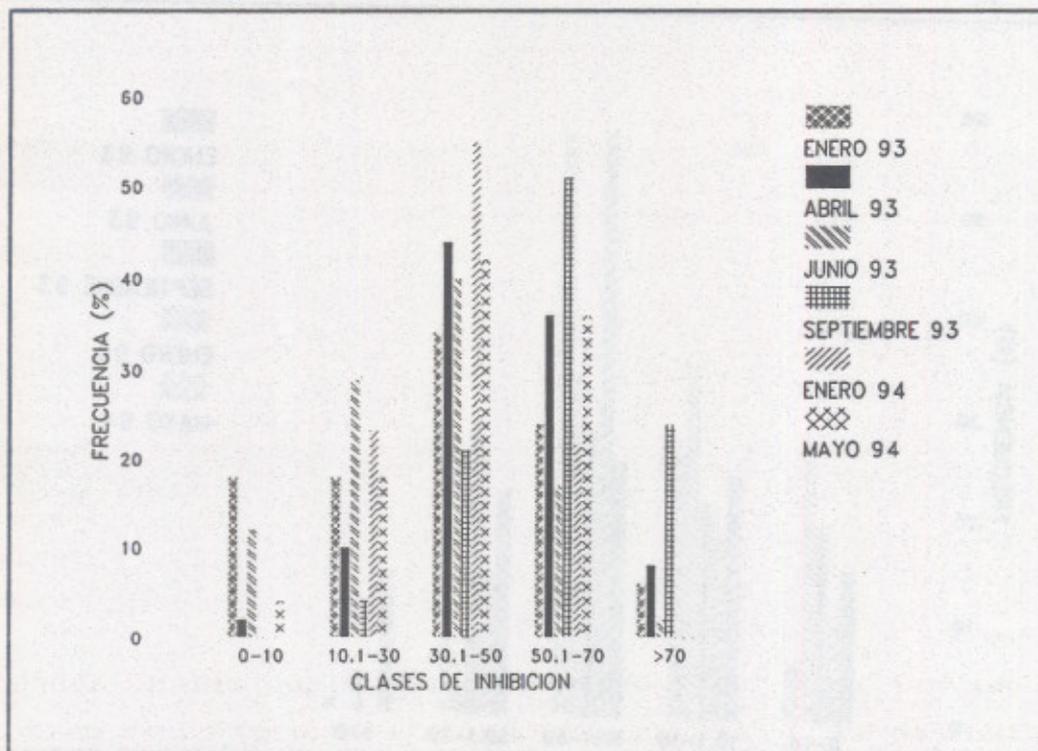


Figura 16. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, para la localidad 5, en los diferentes muestreos realizados.

## 7.2. Efecto del periodo libre en la sensibilidad de *M. fijiensis* a Propiconazol

### 7.2.1. Comparación de valores de concentración efectiva 50 y sensibilidad a propiconazol al inicio y final de dos periodos libres (1993 y 1994).

En el cuadro 15, se observa la comparación de los valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) y sensibilidad a propiconazol

al inicio y al final de dos periodos libres de aplicación del fungicida, se consideraron éstos muestreos ya que los mismos presentaron un período libre uniforme para la mayoría de las localidades, aunque no se debe olvidar que el período libre varió de una localidad a otra.

CUADRO 15. Comparación de valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) y sensibilidad a propiconazol al Inicio y Final de dos períodos libres de aplicación del fungicida; (De abril '93 a junio '93 y de enero '94 a mayo '94).

PERIODO LIBRE	VALORES $EC_{50}$ (ppm)					
	LOCALIDAD 1	LOCALIDAD 2	LOCALIDAD 3	LOCALIDAD 4	LOCALIDAD 5	BANANERA
26/4/93	SD	0.44	SD	SD	0.19	0.0007
29/6/93	SD	0.31	0.25	0.23	0.41	0.003
SENSIBILIDAD	SD	+	SD	SD	-	-
28/1/94	0.44	1.36	0.32	0.33	0.34	0.021
12/5/94	0.088	0.141	0.128	0.167	0.211	0.003
SENSIBILIDAD	+	+	+	+	+	+

+ Presentó mayor sensibilidad  
 - Presentó menor sensibilidad  
 SD Sin datos

Para la localidad 1, el período libre en 1994 (132 días) se observa que sí presenta mayor sensibilidad ya que el valor de  $EC_{50}$  (0.088 ppm) para el sexto muestreo es menor que el valor de  $EC_{50}$  (0.44 ppm) para el quinto muestreo (recuperación de sensibilidad de 5 veces: x5). La localidad 2, en ambos periodos libres, 1993 (93 días) y 1994 (120 días), presentó mayor sensibilidad, lo que indica el efecto positivo que tienen los periodos libres de aplicación de PPZ en la sensibilidad del hongo (1993: x1.4, 1994: x9.6). En la localidad 3, como el primer período libre se interrumpió con una aplicación de PPZ, la  $EC_{50}$  presentó un valor relativamente alto al final de éste período por lo que hubo menor sensibilidad. En el segundo período libre (1994) se presentó mayor sensibilidad (x2.5), ya que el mismo no fué interrumpido y fué de más larga duración. En la localidad 4, ocurrió lo mismo que en la localidad 3, en la cual el período libre fué interrumpido con una aplicación de PPZ, el período libre de 1994 presentó mayor sensibilidad (x2) lo que

ratifica el resultado de las otras localidades mencionadas. Para la localidad 5, en el primer período libre presentó menor sensibilidad. Para el segundo período libre presentó mayor sensibilidad (x1.6). En bananera, la localidad testigo, las variaciones en sensibilidad en los períodos libres sirven como comparadores de las otras localidades, considerando que en la misma no existen, ya que no tiene aplicación de PPZ. Entonces lo anteriormente expuesto indica que el período libre de 1993 (93 días), no presentó cambios en sensibilidad de M. fijiensis a PPZ, esto es resultado de la menor duración y de la alta precipitación en los últimos 30 días de éste período libre, lo que provocó una severidad alta de la enfermedad. Sin embargo en el segundo período libre (120 días), todas las localidades mostraron mayor sensibilidad de la sigatoka a PPZ (rango de 1.6 - 9.6 veces, y un promedio x4). Resulta importante señalar que la estrategia de los períodos libres es eficaz y que funciona mejor a medida que la duración del período libre es mayor.

#### 7.2.2. Determinación del porcentaje de inhibición a 0.1 ppm de Propiconazol por fecha de muestreo.

Las figuras 17, 18, 19, 20 y 21, presentan el porcentaje de inhibición de tubo germinativo de M. fijiensis a Propiconazol (PPZ) en los diferentes muestreos realizados a la concentración de 0.1 ppm.

- **Primer período libre:** Al comparar la localidad cinco en las figuras 17 y 19 puede verse que hay una ligera recuperación de sensibilidad porque al final del período libre de 1993 (tercer muestreo) la mayor frecuencia de inhibición es hacia las clases mas altas (movimiento hacia la derecha), la localidad cinco tuvo un período libre de 162 días.

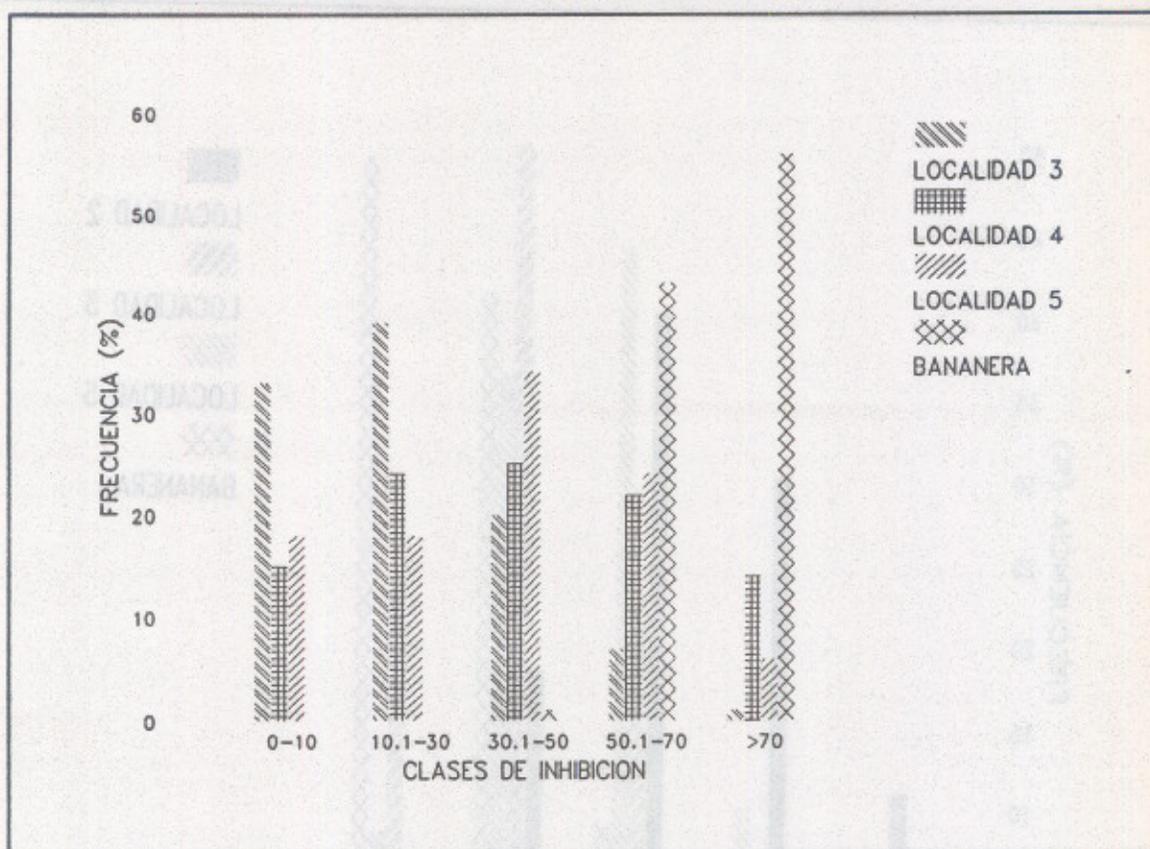


Figura 17. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, en el primer muestreo. Enero 93

Debido a que el periodo libre para las localidades 3 y 4 fué interrumpido por una aplicación de PPZ, hubo reducción del periodo a 93 días. Al comparar las figuras 18 y 19 puede verse que para la localidad 2, no hubo efecto alguno pues al final del periodo libre el porcentaje de inhibición de tubos se mueve ligeramente hacia las clases de inhibición más bajas (menor sensibilidad). Para la localidad 3 se observa que el comportamiento es similar a la localidad 2, donde no se nota ningun efecto en sensibilidad del periodo libre, la situación es muy parecida para la localidad 4.

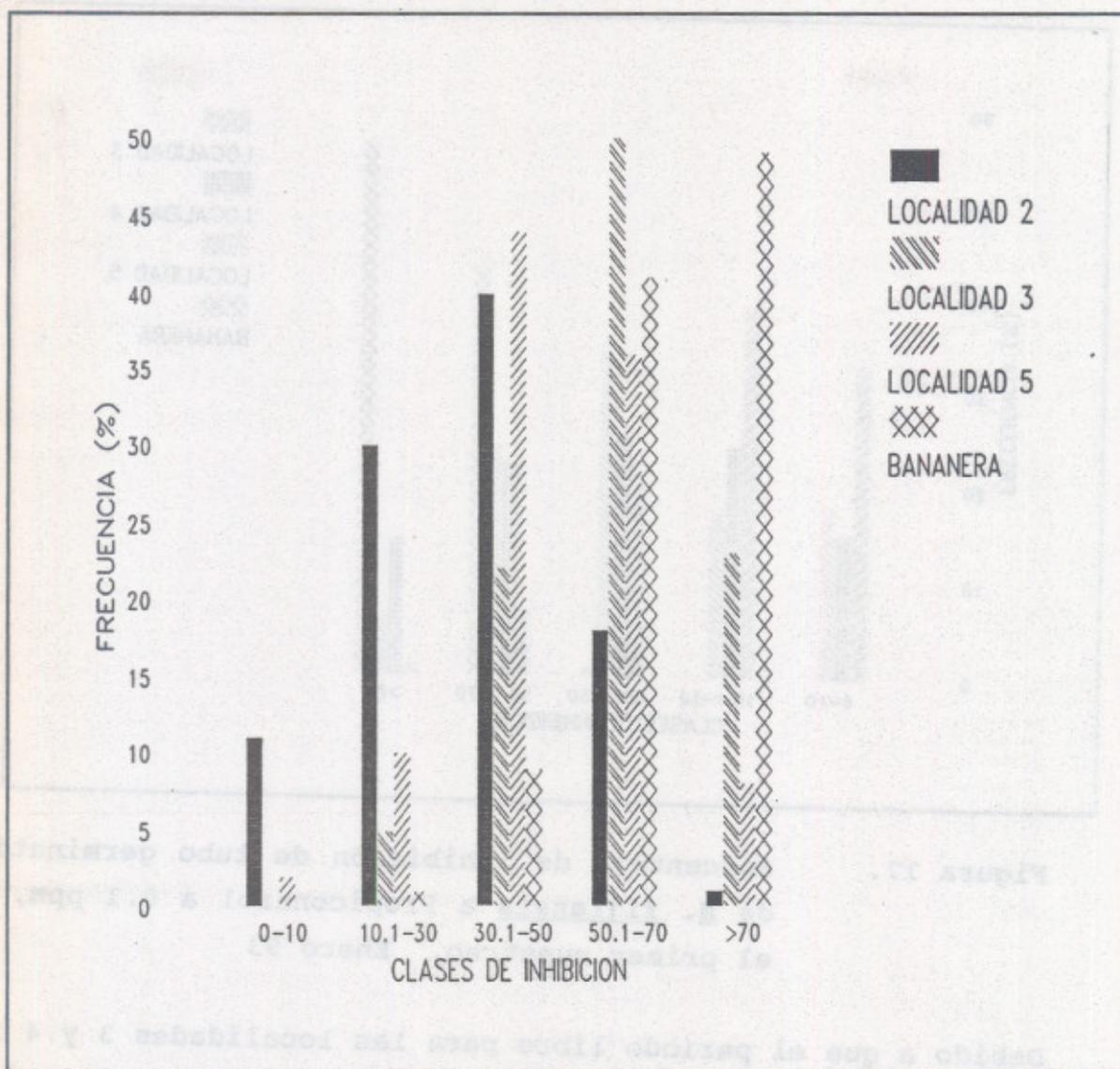


Figura 18. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, en el segundo muestreo. Abril 93

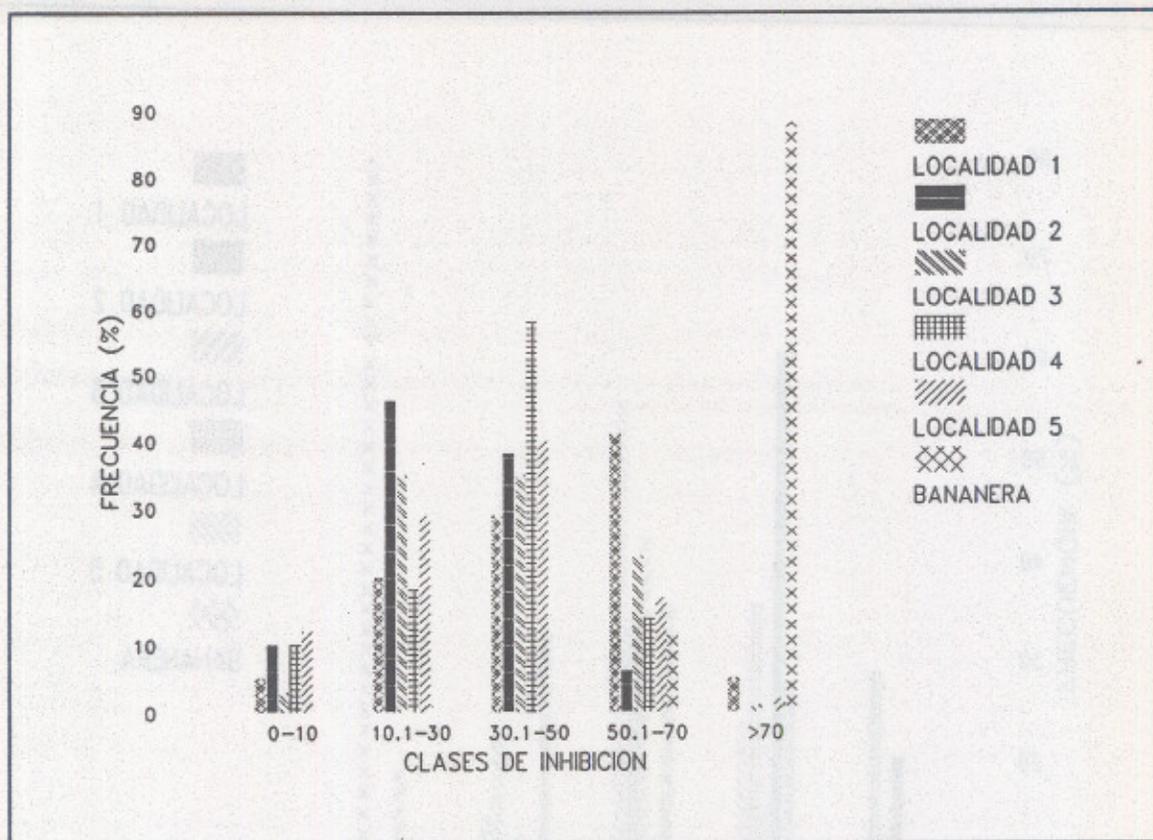


Figura 19. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, en el tercer muestreo. Junio 93

- **Segundo período libre:** Para las cinco localidades al comparar las figuras 20 y 21 puede verse al iniciar el periodo libre de 1994 (figura 20), los porcentajes de inhibición de las localidades con aplicaciones de PPZ, siguen corriéndose hacia la izquierda del eje equis (X), lo que implica que continuaron perdiendo sensibilidad. Al comparar el último muestreo (figura 21) con el quinto muestreo (figura 20), se ve un desplazamiento hacia la derecha, lo que indica una recuperación de la sensibilidad de las localidades con historial de aplicación (localidades 1 a la 5).

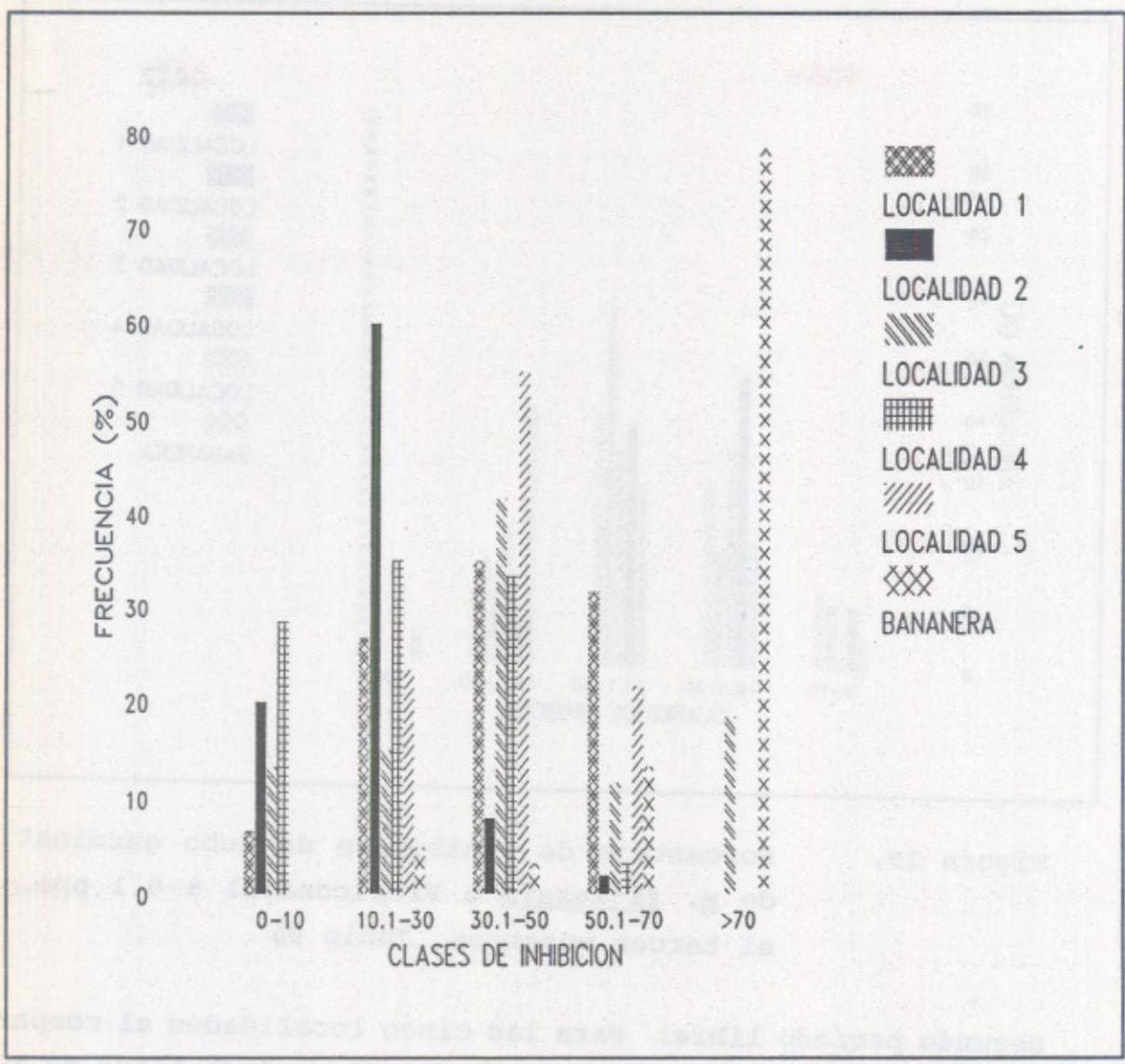


Figura 20. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, en el quinto muestreo. Enero 94

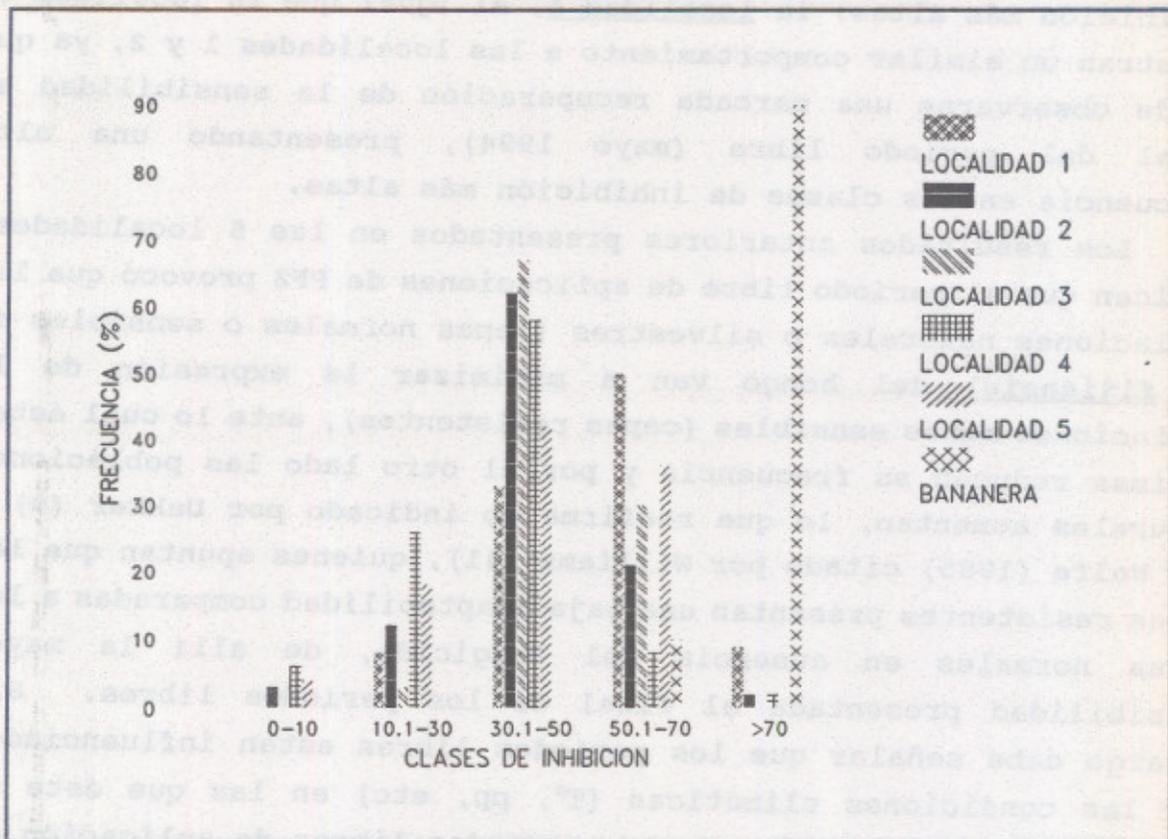


Figura 21. Porcentaje de inhibición de tubo germinativo de *M. fijiensis* a Propiconazol a 0.1 ppm, en el sexto muestreo. Mayo 94

Para la localidad 1, hay una marcada recuperación de sensibilidad porque al final del periodo libre de 1994 después de 132 días (figura 21), la mayor frecuencia de inhibición se dió en las clases más altas (movimiento hacia la derecha); la localidad 2, en el quinto muestreo (figura 20) presenta la mayor frecuencia de inhibición en las clases más bajas, indicando una pérdida de sensibilidad, sin embargo, para el sexto muestreo el movimiento de la mayor frecuencia de inhibición es hacia la derecha denotando una mayor sensibilidad al final del periodo libre; para el caso de la localidad 3 puede verse que hay una ligera recuperación de sensibilidad, pues al final del periodo libre de 1994 (sexto muestreo) la mayor frecuencia se presentó en las clases de

inhibición más altas; la localidad 4, al igual que la localidad 5, muestran un similar comportamiento a las localidades 1 y 2, ya que puede observarse una marcada recuperación de la sensibilidad al final del período libre (mayo 1994), presentando una alta frecuencia en las clases de inhibición más altas.

Los resultados anteriores presentados en las 5 localidades, indican que el período libre de aplicaciones de PPZ provocó que las poblaciones naturales o silvestres (cepas normales o sensibles de M. fijiensis) del hongo van a minimizar la expresión de la poblaciones menos sensibles (cepas resistentes), ante lo cual éstas últimas reducen su frecuencia y por el otro lado las poblaciones naturales aumentan, lo que reafirma lo indicado por Dekker (9) y por Wolfe (1985) citado por Williams (41), quienes apuntan que las cepas resistentes presentan una baja adaptabilidad comparadas a las cepas normales en ausencia del fungicida, de allí la mayor sensibilidad presentada al final de los períodos libres. Sin embargo cabe señalar que los períodos libres están influenciados por las condiciones climáticas ( $T^{\circ}$ , pp, etc) en las que éste se presente, aunque normalmente los períodos libres de aplicación de PPZ se ubican en la época de verano (baja precipitación pluvial), hay indicar que si las condiciones climáticas específicamente la precipitación es intensa, la severidad de la enfermedad se incrementa, haciéndose necesario la aplicación de fungicidas, y la sensibilidad del hongo se reduce, ya que como indica Wolfe (1985) citado por Williams (41), en el transcurso de un ciclo de cultivo en ausencia del fungicida la frecuencia de cepas resistentes de Erysiphe graminis f.s.p hordei puede bajar considerablemente.

### 7.3. Comparación de cambios de sensibilidad con los métodos $EC_{50}$ y porcentajes de inhibición de tubo germinativo.

El método de porcentaje de inhibición demuestra una mayor evidencia de recuperación de la sensibilidad de las localidades (por ejemplo en la concentración 0.1 ppm es posible discriminar diferentes niveles de sensibilidad entre muestreos) que el método

de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ), en los periodos libres presentados, ya que el método  $EC_{50}$  en el primer periodo libre no presentó recuperación en sensibilidad. Sin embargo las diferencias cuantitativas entre muestras pueden describirse más precisamente con  $EC_{50}$  que con porcentaje de inhibición. El método a elegir va a estar en función de los objetivos del monitoreo,  $EC_{50}$  para realizar base de datos, análisis de estrategias y conocer pequeños cambios de sensibilidad, y, porcentaje de inhibición para tener una visión general de la situación.

#### 7.4. Comparación de valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) obtenidos con método gráfico y método matemático.

En el cuadro 16, se compara los valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) de propiconazol (PPZ) entre el método gráfico y el método matemático para las diferentes localidades evaluadas en los seis muestreos realizados; se puede notar que los valores son similares para ambas formas de determinar la  $EC_{50}$ , manteniéndose una tendencia definida para cada método. Lo anterior queda demostrado con la siguiente información: el rango de los valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) para el método gráfico se encuentra entre 0.007-1.85 ppm y la media general de los valores es de 0.94 ppm; lo que comparado con el método matemático, donde el rango va de 0.0007-1.36 ppm y la media es de 0.87 ppm, se puede evidenciar entonces que no existe diferencia en la tendencia presentada por ambos métodos, por lo tanto puede usarse uno y otro método, en este caso se usó el método matemático. Sin embargo hay que considerar que cuando todos los datos (puntos) de la curva están dentro del rango lineal, los valores  $EC_{50}$  de ambos métodos se correlacionan muy bien. Esto no ocurre para el método gráfico con un reducido número de concentraciones, aunque los valores  $EC_{50}$  obtenidos gráficamente son fáciles de revisar e interpretar.

CUADRO 16. Comparación de valores de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) de propiconazol entre el método Gráfico y el método de Regresión; para las diferentes localidades en los muestreos realizados; de enero '93 a mayo '94.

FECHA DE MUESTREO	VALORES $EC_{50}$ (ppm)											
	LOCALIDAD 1		LOCALIDAD 2		LOCALIDAD 3		LOCALIDAD 4		LOCALIDAD 5		BANANERA	
	MG	MR	MG	MR	MG	MR	MG	MR	MG	MR	MG	MR
27/1/93	SD	SD	SD	SD	0.45	0.56	0.25	0.43	0.25	0.37	0.026	0.036
26/4/93	SD	SD	0.31	0.44	0.05	0.08	SD	SD	0.13	0.19	0.007	0.0007
29/6/93	0.16	0.27	0.25	0.31	0.20	0.25	0.22	0.23	0.36	0.41	0.011	0.003
16/9/93	0.25	0.28	0.52	0.57	1.85	1.05	1.25	0.81	0.07	0.20	0.033	0.048
28/1/94	0.40	0.44	0.39	1.36	0.22	0.32	0.35	0.33	0.22	0.34	0.026	0.021
12/5/94	0.09	0.09	0.17	0.14	0.15	0.13	0.21	0.17	0.17	0.21	0.008	0.003

MG Método Gráfico  
 MR Método de Regresión  
 SD Sin datos

## 8. CONCLUSIONES

1. En los 17 meses que duró el estudio, el comportamiento de la sensibilidad de M. fijiensis, fué hacia un incremento en su sensibilidad a Propiconazol. Tanto con el método de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) como con el método de porcentaje de inhibición.
2. La sensibilidad en las poblaciones de M. fijiensis fluctúa según los distintos niveles de presión de selección ejercidos por el Propiconazol (PPZ) y las condiciones de clima. A mayor cantidad de aplicaciones de PPZ y mayor severidad de la enfermedad (época lluviosa) el hongo presentaba menor sensibilidad.
3. En los períodos libres de aplicación de Propiconazol, M. fijiensis recupera la sensibilidad al fungicida, mostrando la eficacia de dicha estrategia; aquellas localidades donde dicho período fué interrumpido no presentaron recuperación de sensibilidad. En general a mayor duración del período libre mayor recuperación de sensibilidad.
4. El método de concentración efectiva 50 ( $EC_{50}$ ) detecta pequeños cambios en sensibilidad fácilmente comparables que el método de porcentaje de inhibición de tubo germinativo, pero con este último se tiene una visión general de la situación.
5. De los métodos utilizados para calcular la Concentración efectiva 50, método gráfico y método de regresión, este último es el que ajusta los datos a un modelo. Sin embargo el método gráfico es más simple, y, ambos dan similares resultados.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Realizar monitoreos de sensibilidad de M. fijiensis a Propiconazol permanentemente, para así poder detectar a tiempo la pérdida de sensibilidad a través del uso continuo del fungicida.
2. Continuar con la estrategia de los "períodos libres" de aplicaciones de Propiconazol, para minimizar las poblaciones de cepas resistentes de M. fijiensis dada su baja adaptabilidad en ausencia del fungicida. Ampliar la duración del período libre al máximo posible.
3. Los valores  $EC_{50}$  y de porcentaje de inhibición dan un conocimiento relativo de la situación de sensibilidad. A la fecha, se desconoce que valor puede considerarse como pérdida real de sensibilidad (resistencia). Es necesario determinar un valor que pueda considerarse como un indicador objetivo o límite de resistencia, en ese sentido deberán orientarse otras investigaciones.

## 10. BIBLIOGRAFIA

1. BENZIMIDAZOLE RESISTANCE WORKSHOP (1990, SAN JOSE, COSTA RICA). s.n.t. 4 p.
2. BUCHENAUER, H. ; HELLWALD, K.H. 1985. Resistance of Erysiphe graminis on barley and wheat to sterol C-14 demethylation inhibitors. EPPO Bulletin (U.K.) 15:459-466.
3. BUSTAMANTE, M. ; LOPEZ, S. 1982. La sigatoka negra del plátano (Musaa AAA y AAB) y su impacto económico en Centroamérica y Sureste de México. México, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 53 p.
4. CIBA GEIGY (GUA). 1987. Control de sigatoka en panamá. Identificación de tilt. 8 p.
5. CRUZ S., J.R. DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto nacional forestal. 42 p.
6. DANIEL, W. 1978. Applied nonparametric statistics. EE.UU., Houghton Mifflin Company. 503 p.
7. DE WAARD, M.A. 1986. Fungicide which inhibit sterol biosynthesis. 1- Introduction and overview of laboratory studies. In International Workshop in Fungicide Resistance in Crop Protection for Latin America. San Jose, C.R. 7 p.
8. DEKKER, L. 1976. Acquired resistance to fungicides. Ann. Rev. Phytopathology (EE.UU.) 14:405-428.
9. \_\_\_\_\_. 1985. The fungicide resistance problem: will it grow worse?. EPPO Bulletin (U.K.) 15(3):337-344.
10. \_\_\_\_\_. 1986. Development of resistance in the field. In fungicide resistance in crop protection international workshop for Latin America. San Jose, (C.R.) 4 p.
11. \_\_\_\_\_. 1986. Emergence of resistance in pathogen populations, historical and biological perspectives. In Fungicide resistance in crop protection workshop for Latin America. San Jose (C.R.) 4 p.
12. DELP, J.C. ; DEKKER, J. 1985. Fungicide resistance: definitions and use of terms. EPPO Bulletin (U.K.) 15(3):333-335.

13. DUPONT (GUA). 1988. Sigatoka negra y amarilla técnicas mejoradas para manejo e identificación. Guatemala. 8 p.
14. \_\_\_\_\_. 1992. Mode of action of benzimidazole and ergosterol biosynthesis inhibiting fungicides. Guatemala. 36 p.
15. FUCHS, A. 1982. Resistance to ergosterol-biosynthesis inhibitors 1. chemistry and phenomenological aspects. In Fungicide resistance in crop protection. Ed. J. Dekker and S.G. Georgopoulos. p 71-86.
16. FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTE (FRANCIA). 1991. FRAC methods for monitoring fungicide resistance. Bulletin EPPO (FRANCIA) 21:291-354.
17. GAUHL, F. 1992. Epidemiología y ecología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*. Morelet) en plátano (*Musa* sp.) en Costa Rica. Panamá, Union de Países Exportadores de Banano. 114 p.
18. GEORGOPOULOS, S.G. 1986. Genetic and biochemical basis of resistance. In Fungicide resistance in crop protection workshop for Latin America. San Jose (C.R.). 3 p.
19. GEORGOPOULOS, S.G. ; SKYLAKAKIS, G. 1986. Genetic variability in the fungi and the problem of fungicide resistance. Crop Protection 5(5):299-305.
20. GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. 1992. Guatemala valor de las exportaciones (FOB) periodo 1980-1991. Guatemala. p 12-15.
21. GUATEMALA. INSTITUTO DE SISMOLOGIA VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. Tarjetas de control de estaciones meteorológicas de Guatemala de 1990. Guatemala.  
sin publicar
22. GUTIERREZ, A. 1991. Método de monitoreo de sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* para fungicidas DMI (tilt). Guatemala, Ciba Geigy. 2 p. (Correspondencia personal).
23. \_\_\_\_\_. 1993. Análisis de los datos de monitoreo. Cálculo de la concentración efectiva 50 (EC<sub>50</sub>). Guatemala, Ciba Geigy. 1 p. (Correspondencia personal).

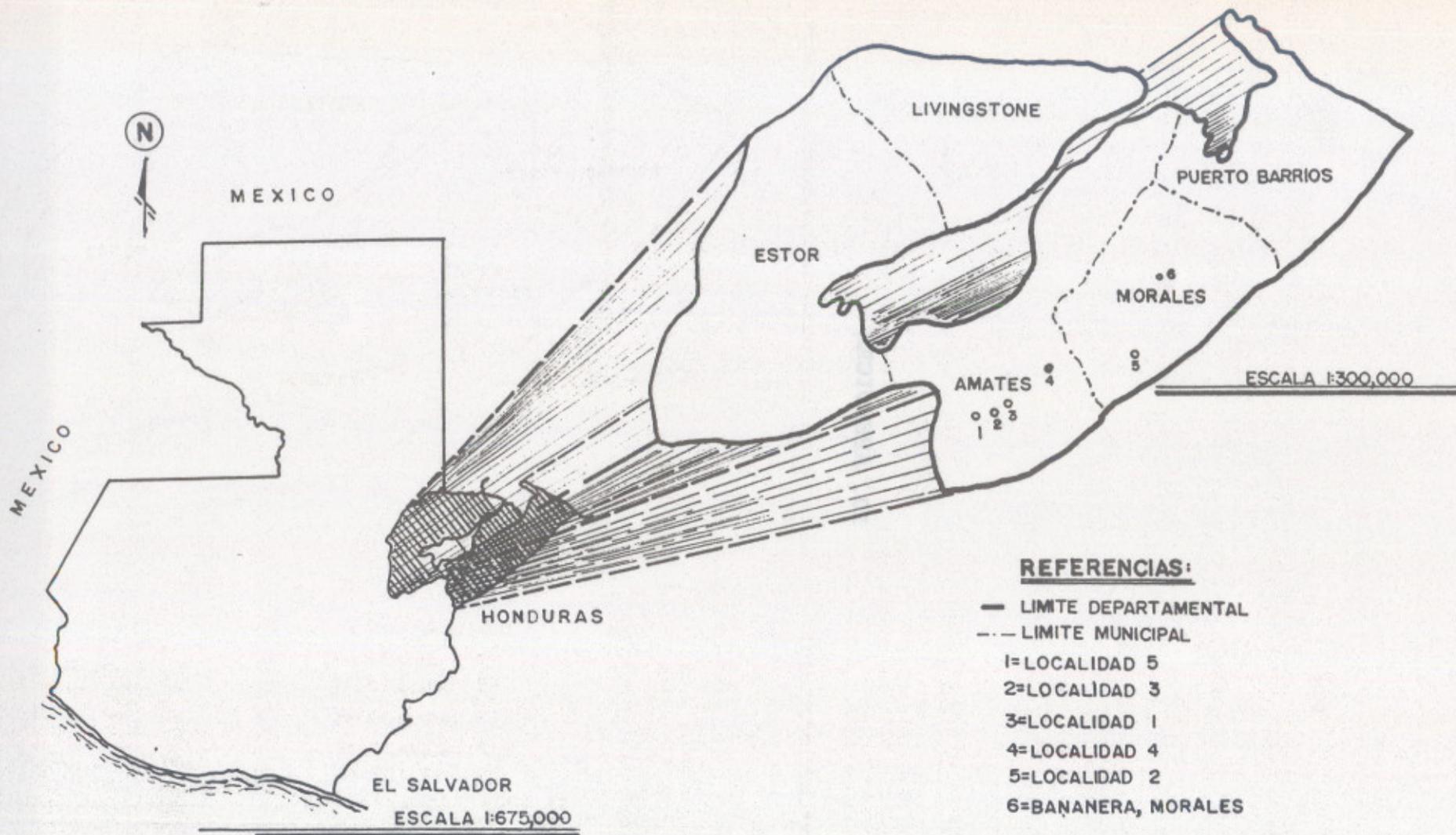
24. MOLINA, G. 1989. A phytotoxic in extracts of broth cultures of Mycosphaerella fijiensis var. difformis and its use to evaluate host. resistance to black sigatoka. Plant Disease (EE.UU.) 73(2):234-255.
25. PONS, S. 1987. Breve cronología del control de la sigatoka. Union de Países Exportadores de Banano (Pan.) 11(83):29-44.
26. PREVOT, R.L. 1980. Resistance of fungi to fungicides. Paris, France, Rohm and Haas France. 8 p.
27. RIVERA, J. ; KRAUZ, J. 1988. Sigatoka negra en plátano: recomendaciones para su combate efectivo con aspersiones terrestres. Páginas divulgativas (hond.) no. 10(14):1-8.
28. ROMERO, A. ; MARIN, D. 1989. Observations to the sensivity monitoring method of Mycosphaerella fijiensis to triazol fungicides. In INIBAP Workshop Sigatoka Leaf Spots Disease Mycosphaerella spp. (1989, San José, C.R.). San José, C.R, INIBAP. p 1-11.
29. SCHROEDER, W.T. ; PROVVIDENTI, R. 1969. Resistance to benomyl in powdery mildew cucurbita. Plant Disease (EE.UU.) 63(2):271-275.
30. SERRES, J.M. 1979. El uso de programas combinados para controlar el desarrollo de razas de hongos resistentes a fungicidas de acción específica. Delaware, EE.UU., Du Pont. 115 p.
31. SIEGEL, M.R. 1981. Sterol-inhibiting fungicide: Effects on sterol biosynthesis and sites of action. Plant Disease (EE.UU.) 65(12):986-989.
32. SIMMONS, CH. S. ; TARANO, J.M. ; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Salsona. Guatemala. José de Pineda Ibarra. 1000 p.
33. SKYLAKIS, G. 1982. The development and use of models describing outbreaks of resistance to fungicides. Crop Protection 1(3):249-262.
34. \_\_\_\_\_. 1983. Theory and strategy of chemical control. Ann. Rev. Phytopatholy (EE.UU.) 21:117-135.
35. \_\_\_\_\_. 1985. Two different processes for the selection of fungicide-resistant sub-populations. EPPO Bulletin (U.K.) 15:519-525.

36. STAUB, T. 1987. Fungicide resistance: terms and what's behind them. Switzerland, Phytopath news. 14 p.
37. STOVER, R.H. 1969. The effect of benomyl on Mycosphaerella musicola. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 53(10):830-833.
38. \_\_\_\_\_. 1977. Extranuclear inherited resistance to benomyl in Mycosphaerella fijiensis var. difformis. Trans. Br. Mycol. Soc. (U.K.) 68(1):11-114.
39. \_\_\_\_\_. 1980. Sigatoka leaf spots of bananas and plantains. Plant Disease (EE.UU.) 64(8):750-756.
40. TERNISIEN, E. 1986. Les cercosporioses des banniers et plantains. Francia, s.n. 85 p.
41. WILLIAMS, C.W. 1989. Determinación de la sensibilidad de Mycosphaerella fijiensis a fungicidas inhibidores de la síntesis de ergosterol (ISE) utilizando ascosporas y conidios. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Programa de Posgrado. 114 p.

*Vo. Bo. Quiam de la Raca*



10. APENDICES



**FIGURA 2A** UBICACION GEOGRAFICA DE LA ZONA DE ESTUDIO

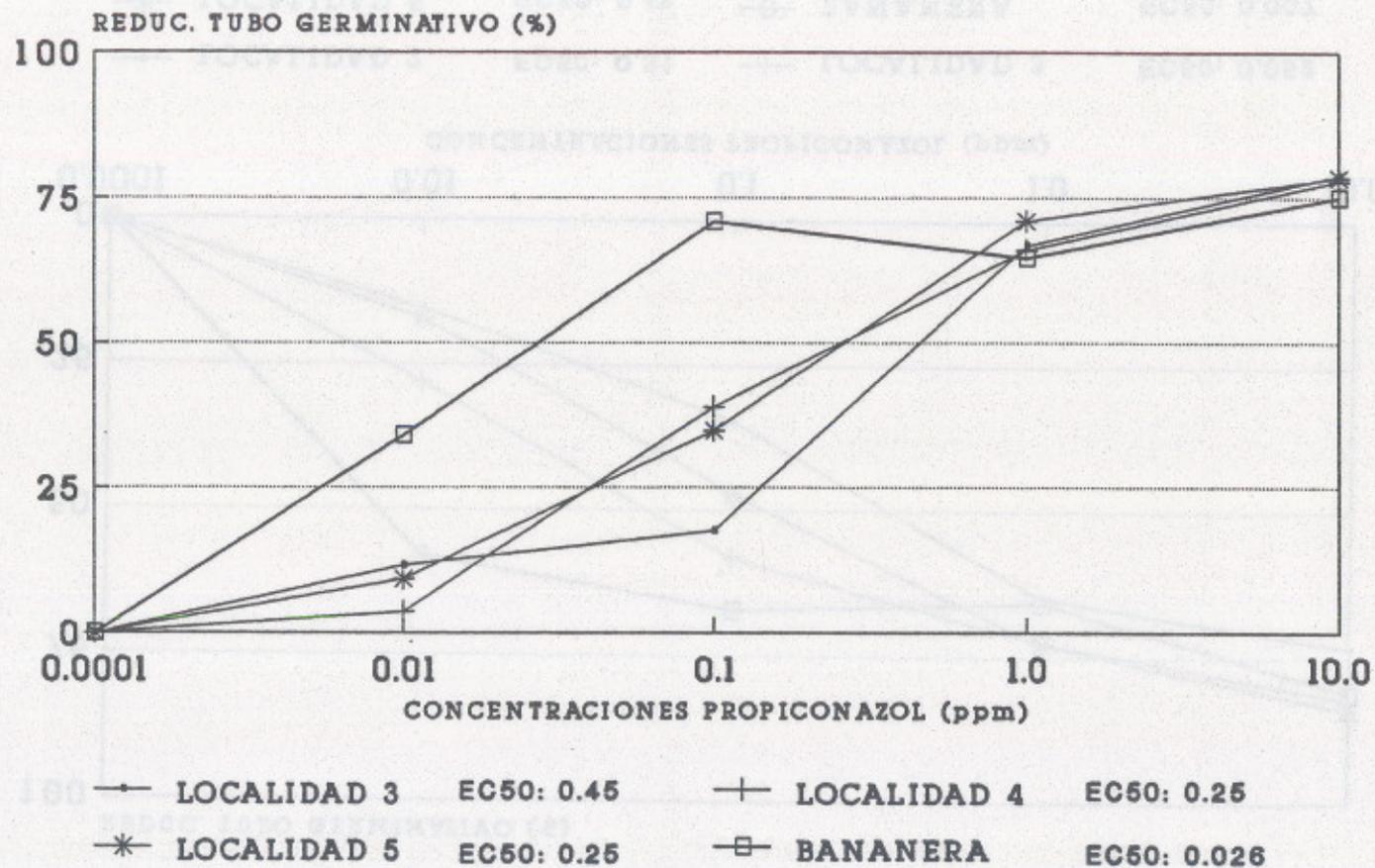
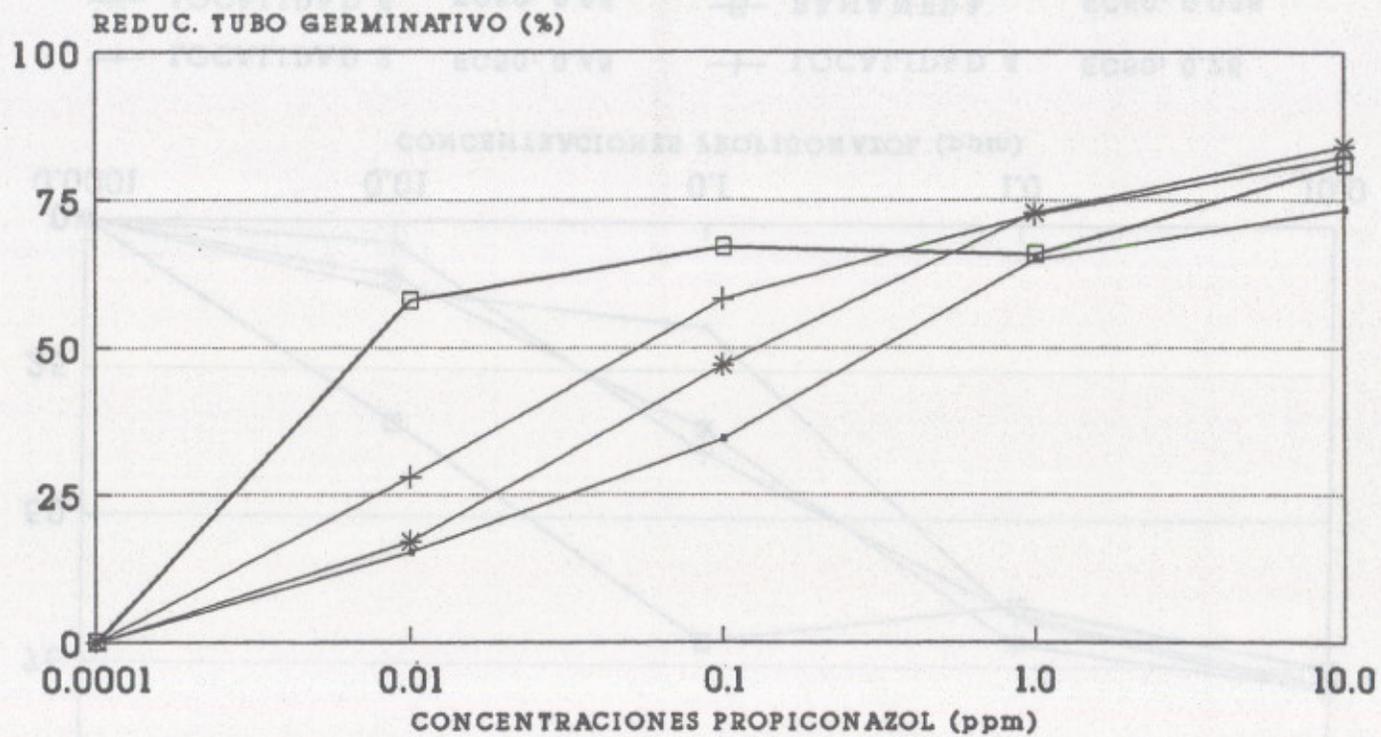


Figura 3A. Reducción de tubo germinativo a Propiconazol en cuatro localidades, muestreadas en Enero 93.



—●— LOCALIDAD 2	EC50: 0.31	—+— LOCALIDAD 3	EC50: 0.052
—*— LOCALIDAD 5	EC50: 0.13	—□— BANANERA	EC50: 0.007

Figura 4A. Reduccion de tubo germinativo a Propiconazol en cuatro localidades muestreadas en Abril 93

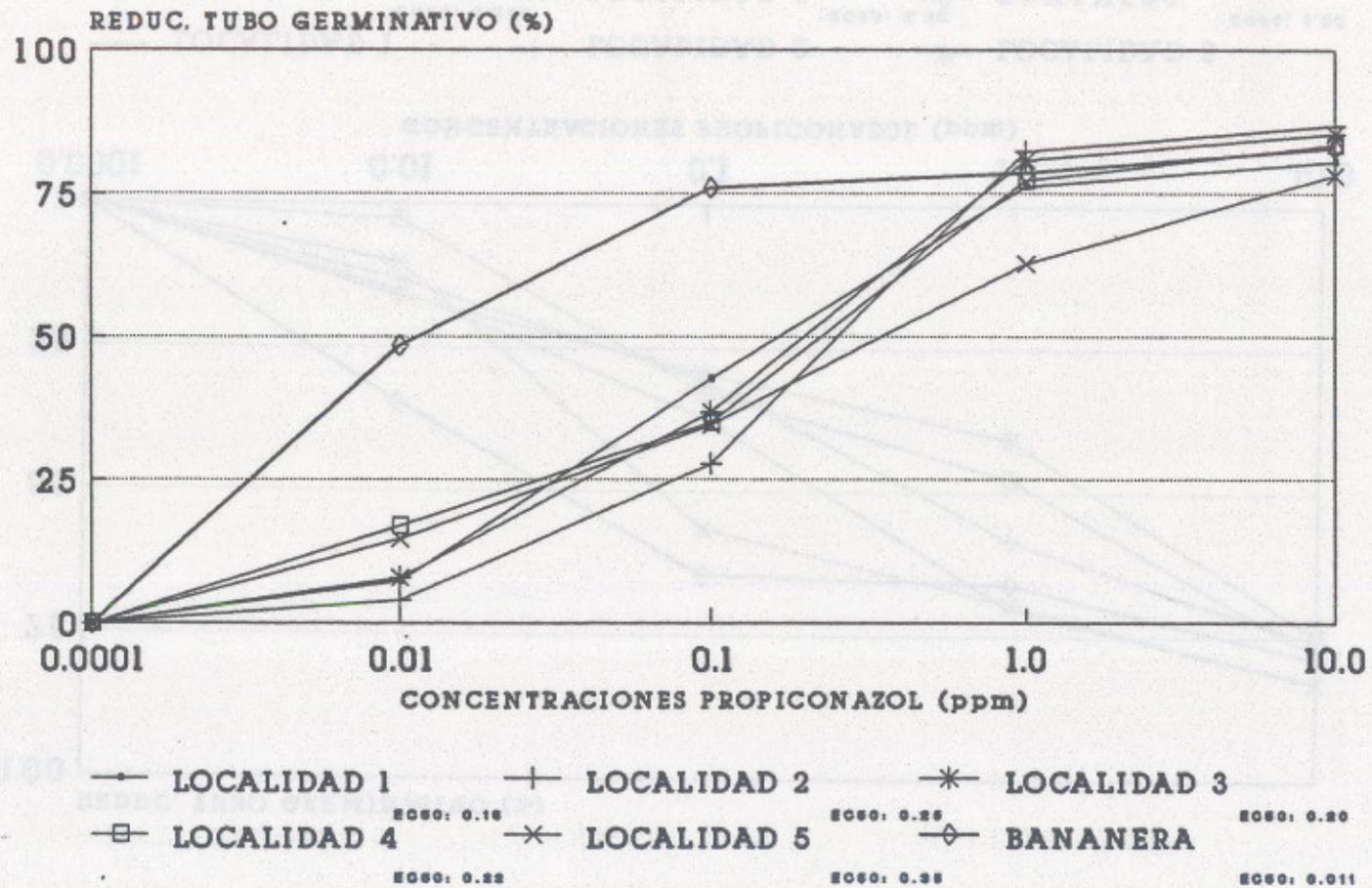


Figura 5A. Reduccion de tubo germinativo a Propiconazol en  
 seis localidades muestreada en Junio 93



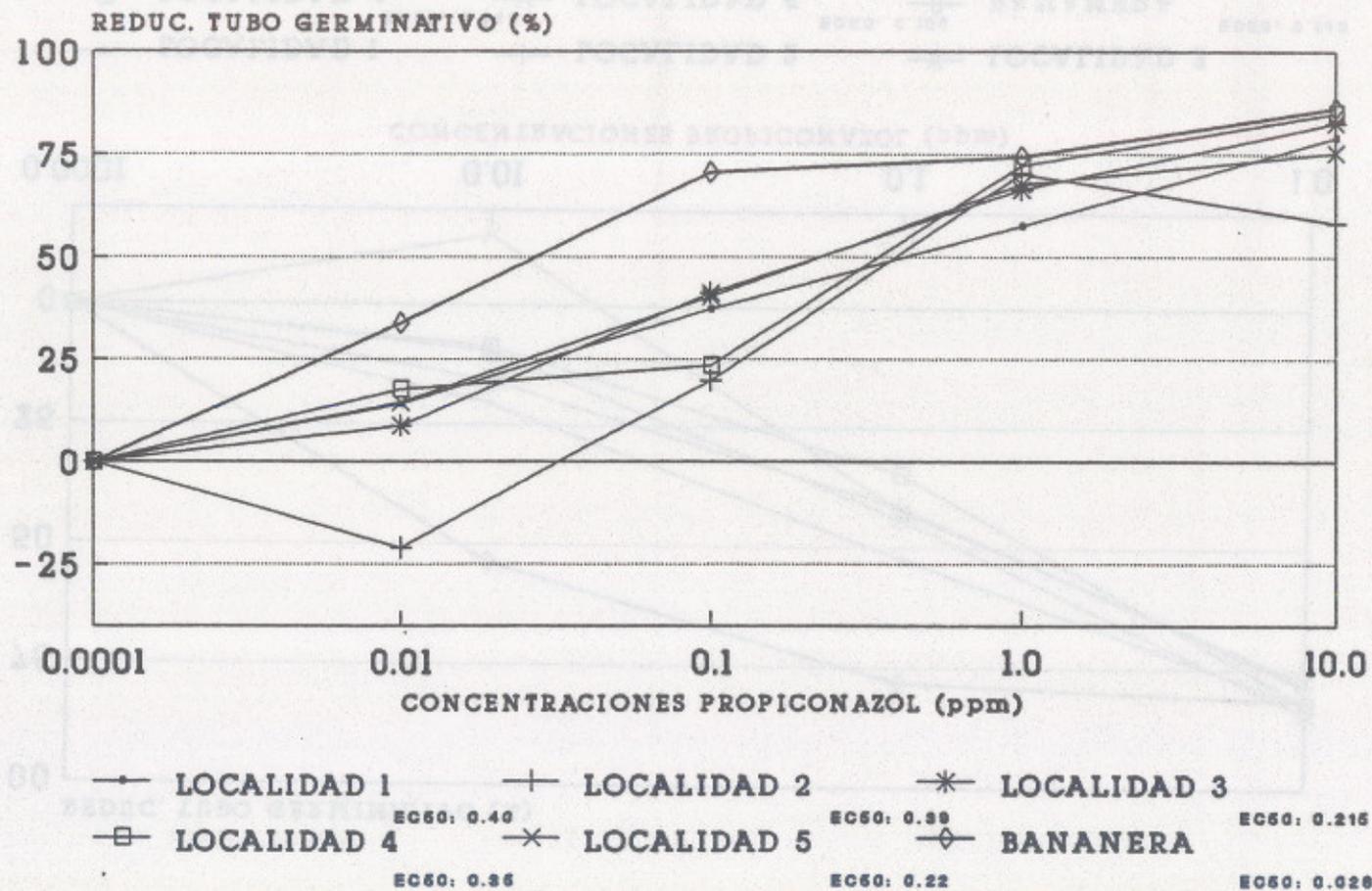


Figura 7A. Reduccion de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreada en Enero 94

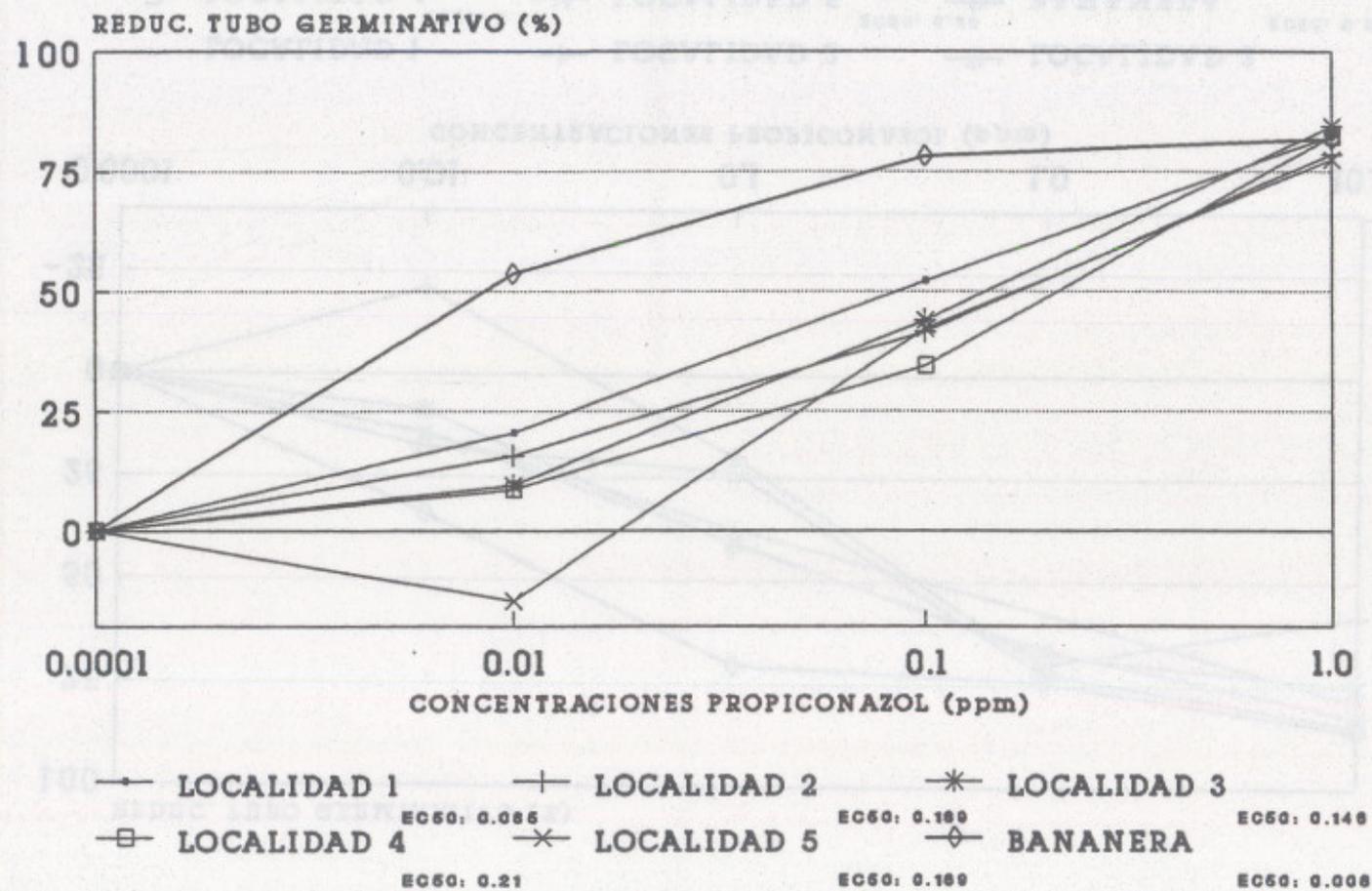


Figura 8A. Reduccion de tubo germinativo a Propiconazol en seis localidades muestreadas en Mayo 94.

CUADRO 9A. Localidad 1. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Junio '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES (ppm)	MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD	LONG. TUBO GERMINATIVO (%)	REDUCCION DE TUBO GERMINATIVO (%)
I y II*	----- ---	----- -	----- -	----- --	----- --
III 29/6/93	0	168.34	61.37	100.0	0.0
	0.01	155.88	47.99	92.60	7.40
	0.1	96.57	33.42	57.37	42.63
	1.0	40.15	13.76	23.85	76.15
	10.0	32.82	14.57	19.49	80.51
IV 16/9/93	0	149.97	30.26	100.0	0.0
	0.01	127.20	21.48	84.81	15.19
	0.1	94.46	14.94	62.99	37.01
	1.0	44.73	13.29	29.83	70.17
	10.0	25.23	7.62	16.82	83.18
V 28/1/94	0	180.16	48.18	100.0	0.0
	0.01	154.71	28.08	85.87	14.13
	0.1	113.20	29.61	62.83	37.17
	1.0	76.70	20.16	42.57	57.43
	10.0	37.67	16.30	20.91	79.09
VI 12/5/94	0	250.65	46.09	100.0	0.0
	0.01	199.35	47.11	79.53	20.47
	0.1	119.93	37.92	47.85	52.15
	1.0	44.16	7.24	17.62	82.38

\* Los muestreos I y II no se efectuaron en ésta localidad.

CUADRO 10A. Localidad 2. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Abril '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES DE PROPICONAZOL (ppm)	LONGITUD MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD DE LONGITUD MEDIA	LONGITUD (%)	REDUCCION (%)
I*	-----	-----	-----	-----	-----
II 26/4/93	0	130.28	32.28	100.0	0.0
	0.01	110.39	32.11	84.73	15.27
	0.1	85.34	25.63	65.50	34.50
	1.0	45.77	8.85	35.13	64.87
	10.0	34.72	13.17	26.65	73.35
III 29/6/93	0	245.95	53.44	100.0	0.0
	0.01	236.21	45.47	96.01	3.96
	0.1	177.74	42.69	72.27	27.73
	1.0	43.43	9.06	17.66	82.34
	10.0	32.41	11.69	13.18	86.82
IV 16/9/93	0	105.63	32.02	100.0	0.0
	0.01	91.81	33.20	86.91	13.09
	0.1	73.43	24.42	69.51	30.49
	1.0	43.96	11.24	41.61	58.39
	10.0	25.54	9.74	24.18	75.82
V 28/1/94	0	129.16	26.76	100.0	0.0
	0.01	156.354	43.49	121.05	-21.05
	0.1	103.62	21.69	80.22	19.78
	1.0	38.48	9.86	29.79	70.21
	10.0	53.99	19.96	41.80	58.20
VI 12/5/94	0	197.22	47.33	100.0	0.0
	0.01	166.44	47.11	84.39	15.61
	0.1	115.22	28.29	58.42	41.58
	1.0	42.18	12.36	21.39	78.61

\* El muestreo I no se efectuó en ésta localidad.

CUADRO 11A. Localidad 3. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES DE PROPICONAZOL (ppm)	LONGITUD MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD DE LONGITUD MEDIA	LONGITUD (%)	REDUCCION (%)
I 27/1/93	0	157.94	44.62	100.0	0.0
	0.01	139.57	36.87	88.37	11.63
	0.1	130.24	34.75	82.46	17.54
	1.0	52.66	11.57	33.34	66.66
	10.0	33.30	7.647	21.08	78.92
II 26/4/93	0	174.2	43.85	100.0	0.0
	0.01	125.37	44.58	71.97	28.03
	0.1	72.76	24.71	41.76	58.24
	1.0	47.95	13.07	27.52	72.48
	10.0	30.89	9.58	17.73	82.27
III 29/6/93	0	291.65	44.02	100.0	0.0
	0.01	268.55	46.11	92.08	7.92
	0.1	184.21	45.94	63.16	36.84
	1.0	56.13	12.94	19.25	80.75
	10.0	42.67	11.20	14.63	85.37
IV 16/9/93	0	86.66	36.57	100.0	0.0
	0.01	72.80	29.56	84.01	15.99
	0.1	61.22	29.51	70.64	29.36
	1.0	51.20	13.00	59.10	40.82
	10.0	21.88	10.29	25.25	74.75
V 28/1/94	0	142.53	45.37	100.0	0.0
	0.01	130.08	47.68	91.26	8.74
	0.1	83.88	37.11	58.85	41.15
	1.0	47.96	12.71	33.65	66.35
	10.0	24.81	7.50	17.40	82.60
VI 12/5/94	0	228.38	51.09	100.0	0.0
	0.01	206.72	50.14	90.52	9.48
	0.1	127.87	21.71	55.99	44.01
	1.0	35.49	9.55	15.54	84.46

CUADRO 12A. Localidad 4. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES DE PROPICONAZOL (ppm)	LONGITUD MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD DE LONGITUD MEDIA	LONGITUD (%)	REDUCCION (%)
I 27/1/93	0	164.47	37.92	100.0	0.0
	0.01	158.53	56.10	96.39	3.61
	0.1	100.58	41.61	61.16	38.84
	1.0	56.03	11.14	34.07	65.93
	10.0	36.47	11.12	22.17	77.83
II*	----- -	----- -	----- -	----- -	----- -
III 16/6/93	0	284.13	54.06	100.0	0.0
	0.01	235.98	52.14	83.05	16.95
	0.1	184.73	45.25	65.02	34.98
	1.0	64.65	12.70	22.75	77.25
	10.0	46.86	14.84	16.49	83.51
IV 16/9/93	0	91.28	34.40	100.0	0.0
	0.01	88.84	28.40	97.32	2.68
	0.1	61.48	24.59	67.35	32.65
	1.0	47.85	20.93	52.42	47.58
	10.0	20.26	7.40	22.20	77.80
V 28/1/94	0	260.70	71.78	100.0	0.0
	0.01	214.78	40.26	82.38	17.62
	0.1	199.65	43.63	76.58	23.42
	1.0	72.33	16.21	27.74	72.26
	10.0	38.99	13.52	14.96	85.04
VI 12/5/94	0	202.77	43.01	100.0	0.0
	0.01	185.29	42.24	91.38	8.62
	0.1	132.77	35.75	65.48	34.52
	1.0	35.87	9.28	17.69	82.31

\* El muestro II no se efectuó en ésta localidad

CUADRO 13A. Localidad 5. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES DE PROPICONAZOL (ppm)	LONGITUD MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD DE LONGITUD MEDIA	LONGITUD (%)	REDUCCION (%)
I 27/1/93	0	172.59	49.13	100.0	0.0
	0.01	156.58	41.93	90.72	9.28
	0.1	112.55	43.83	65.21	34.79
	1.0	50.12	15.64	29.04	70.96
	10.0	37.16	10.94	21.53	78.47
II 26/4/93	0	176.62	51.28	100.0	0.0
	0.01	146.42	28.46	82.90	17.10
	0.1	93.51	28.29	52.94	47.06
	1.0	48.05	13.18	27.20	72.80
	10.0	28.21	7.83	15.97	84.03
III 29/6/93	0	167.44	71.21	100.0	0.0
	0.01	142.91	47.31	85.35	14.65
	0.1	109.65	31.96	65.48	34.52
	1.0	62.50	25.46	37.32	62.68
	10.0	36.60	14.27	21.86	78.14
IV 16/9/93	0	146.41	27.91	100.0	0.0
	0.01	131.49	24.32	89.81	10.19
	0.1	63.77	21.38	43.56	56.44
	1.0	44.76	17.50	30.57	69.43
	10.0	24.99	7.75	17.07	82.93
V 28/1/94	0	184.84	46.28	100.0	0.0
	0.01	158.02	35.96	85.49	14.51
	0.1	110.52	20.74	59.79	40.51
	1.0	59.86	17.54	32.39	67.61
	10.0	45.50	15.69	24.62	75.38
VI 12/5/94	0	236.06	48.70	100.0	0.0
	0.01	270.71	36.47	114.68	-14.68
	0.1	136.19	33.69	57.69	42.31
	1.0	53.12	12.67	22.50	77.50

CUADRO 14A. Bananera. Longitud y reducción de tubo germinativo (media, desviación standard, porcentaje) a diferentes concentraciones de Propiconazol, en los diferentes muestreos realizados. De Enero '93 a Mayo '94

NUMERO Y FECHA DE MUESTREO	CONCENTRACIONES DE PROPICONAZOL (ppm)	LONGITUD MEDIA (micras)	DESVIACION STANDARD DE LONGITUD MEDIA	LONGITUD (%)	REDUCCION (%)
I 27/1/93	0	193.92	46.16	100.0	0.0
	0.01	128.09	27.58	66.06	33.94
	0.1	56.53	14.51	29.15	70.85
	1.0	68.60	13.23	35.38	64.62
	10.0	48.33	11.60	24.92	75.08
II 26/4/93	0	182.42	56.93	100.0	0.0
	0.01	76.63	20.41	42.00	58.00
	0.1	60.09	20.37	32.94	67.06
	1.0	62.44	40.02	34.23	65.77
	10.0	34.68	13.44	19.01	80.99
III 29/6/93	0	216.02	56.03	100.0	0.0
	0.01	111.41	32.45	51.57	48.43
	0.1	51.91	10.06	24.03	75.97
	1.0	46.20	9.14	21.39	78.61
	10.0	36.80	11.64	17.03	82.97
IV 16/9/93	0	89.29	9.98	100.0	0.0
	0.01	58.44	32.75	65.45	34.55
	0.1	31.65	8.39	35.45	64.55
	1.0	30.36	13.38	34.00	66.00
	10.0	18.98	8.78	21.26	78.74
V 28/1/94	0	257.79	41.04	100.0	0.0
	0.01	170.83	44.63	66.27	33.73
	0.1	75.79	36.05	29.40	70.60
	1.0	66.00	13.00	25.60	74.40
	10.0	35.15	13.93	13.63	86.37
VI 12/5/95	0	290.09	66.73	100.0	0.0
	0.01	134.29	29.44	46.29	53.71
	0.1	63.05	16.64	21.73	78.27
	1.0	52.59	11.90	18.13	81.87