

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

"DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATURALES
DE *Mycosphaerella fijiensis* A PROPICONAZOL EN PLANTACIONES
DE *Musa* sp. DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA"

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

POR

ESDRAS JACOBO MENDOZA LACAYO

en el acto de investidura como

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

Guatemala, noviembre 1995

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

01
T(1591)
e-4

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

Dr. JAFETH ERNESTO CABRERA FRANCO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
VOCAL I:	Ing. Agr. Juan José Castillo Mont
VOCAL II:	Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes
VOCAL III:	Ing. Agr. Carlos Roberto Motta
VOCAL IV:	P. Agrícola Henry Estuardo España Morales
VOCAL V:	Br. Mynor Joaquín Barrios Ochaeta
SECRETARIO a.i.:	Ing. Agr. Guillermo Méndez Beteta

Guatemala, noviembre 1995.

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

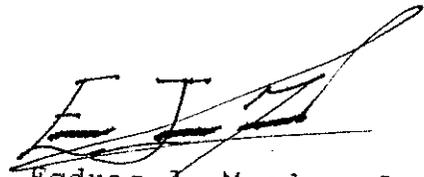
Señores miembros:

En cumplimiento a las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

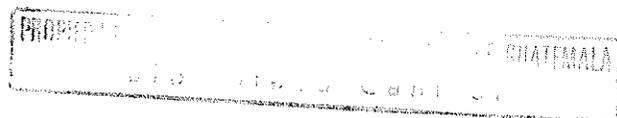
DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATURALES DE *Mycosphaerella fijiensis* A PROPICONAZOL EN PLANTACIONES DE *Musa* sp DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA.

Como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola en el grado académico de Licenciado.

Aténtamente:



Esdras J. Mendoza Lacayo.



ACTO QUE DEDICO

A DIOS TODOPODEROSO

Por bendecirme durante mis años de estudio y por hacer conciencia en mi que "El principio de la sabiduría es el temor a Jehová".

Proverbios 1:7

A MIS PADRES

Abel Mendoza Pineda
María Eugenia Lacayo de Mendoza

Que sus sacrificios y desvelos sean compensados en parte con este triunfo.

A MI ESPOSA

Mariela Patricia Gómez de Mendoza

Por su apoyo incondicional durante toda mi carrera.

A MI HIJO

Esdras Jacobo Mendoza Gómez

Por ser mi mayor motivación para alcanzar esta meta.

A MIS HERMANOS

Jeffrey y Abel

Por el apoyo brindado constantemente

A MIS ABUELOS

Fabio Mendoza Hernández
María Pineda de Mendoza
Hector Lacayo
Consuelo Sosa

Por sus sabios consejos.

A MIS TIOS, TIAS
PRIMOS Y PRIMAS

Con cariño especial.

A MIS SUEGROS

Con sincero aprecio

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

CONTENIDO

CONTENIDO	PAGINA
INDICE DE FIGURAS.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	v
RESUMEN.....	vii
1. INTRODUCCION.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
3. MARCO TEORICO.....	4
3.1. MARCO CONCEPTUAL.....	4
3.1.1. Descripción botánica de la especie.....	4
3.1.2. Clasificación taxonómica.....	4
3.1.3. Ecología del cultivo.....	4
3.1.4. Importancia económica del cultivo.....	5
3.1.5. El patógeno.....	6
3.1.5.1. Origen y dispersión.....	6
3.1.5.2. Organismo causal y ciclo de vida.....	6
3.1.5.3. Sintomatología de la Sigatoka negra.....	7
3.1.5.4. Efectos de la enfermedad.....	9
3.1.5.5. Etiología.....	9
3.1.5.6. Condiciones climáticas.....	10
3.1.6. Historia de fungicidas ISE.....	10
3.1.7. Biosíntesis del ergosterol.....	11
3.1.8. Mecanismo de acción del propiconazol.....	12
3.1.9. Definición de resistencia de fungicidas.....	12
3.1.10. Antecedentes de resistencia a fungicidas.....	12
3.1.11. Estrategias anti-resistencia.....	12
3.1.11.1. Evaluación de riesgos.....	13
3.1.11.2. Diseño de estrategias.....	13
3.1.12. Monitoreo de resistencia.....	13
3.1.13. Línea base de sensibilidad a propiconazol.....	14
3.2. MARCO REFERENCIAL.....	15
3.2.1. Métodos utilizados para detectar sensibilidad a fungicidas ISE.....	15
3.2.2. Estudios de sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ.....	15
3.2.2.1. Realizados en otros países.....	15
3.2.2.2. Realizados en Guatemala.....	17
3.2.3. Características del propiconazol.....	18
3.2.3.1. Otras características.....	19
4. OBJETIVOS.....	20
5. HIPOTESIS.....	20
6. METODOLOGIA.....	21
6.1. Procedencia del material de plátano y banano..	21
6.2. Epocas de muestreo.....	22
6.3. Ubicación del experimento.....	22
6.4. Variable de respuesta.....	22
6.5. Equipo y cristalería.....	22
6.6. Muestreo.....	22

6.7.	Procedimiento de laboratorio.....	23
6.7.1.	Preparación de las soluciones.....	23
6.7.2.	Producción y descarga de ascosporas.....	23
6.7.3.	Incubación.....	24
6.7.4.	Medición del crecimiento fungoso.....	24
6.8.	Análisis de las lecturas.....	24
6.9.	Cálculo del valor EC 50.....	25
6.9.1.	Análisis de regresión.....	25
6.9.2.	Análisis gráfico.....	25
6.10.	Porcentaje de Inhibición.....	26
6.11.	Comparación de los valores de EC 50.....	26
6.12.	Estudio de factores climáticos.....	27
6.13.	Línea base.....	27
7.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	28
7.1	Variabilidad de la sensibilidad de <u>Mycosphaerella fijiensis</u> a propiconazol de acuerdo a valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50).....	28
7.1.1	Comparación de valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50) por los métodos gráfico y matemático en los sitios bajo estudio.....	28
7.1.2	Análisis sobre la variabilidad de la sensibi- lidad del hongo entre muestreos para cada sitio.....	29
7.1.3	Comparación de la sensibilidad de <u>M. fijiensis</u> a propiconazol entre sitios para cada muestreo	31
7.1.4	Comparación de la sensibilidad de <u>M. fijiensis</u> a propiconazol entre los hospederos evaluados.	31
7.2	Variabilidad de la sensibilidad de <u>M. fijiensis</u> de acuerdo con el Porcentaje de Inhibición a 0.01 ppm y 0.1 ppm de propiconazol.....	35
7.3	Comparación entre los valores de sensibilidad obtenidos con los métodos de la Concentración Efectiva 50 y el Porcentaje de Inhibición.....	40
8.	CONCLUSIONES.....	45
9.	RECOMENDACIONES.....	46
10.	BIBLIOGRAFIA.....	47
11.	APENDICE.....	50

INDICE DE FIGURAS

No.	PAGINA
1. Ciclo reproductivo de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	8
2. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el primer muestreo (julio 1994).....	37
3. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el segundo muestreo (septiembre 1994).....	38
4. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el tercer muestreo (noviembre 1994).....	39
5. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el primer muestreo (julio 1994).....	41
6. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el segundo muestreo (septiembre 1994).....	42
7. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el tercer muestreo (noviembre 1994).....	43
8. Precipitación y temperatura ocurridas en 1994 para el período de lluvias en las Estaciones del Ingenio Santa Ana y Tiquisate (FUENTE:Ing.Santa Ana e INSIVUMEH)..	44
9 A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para las tres épocas de muestreo realizada en Puente Palo, Escuintla.....	51
10A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para las tres épocas de muestreo realizada en San Angel Masagua.....	52

11A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para las tres épocas de muestreo realizada en Cuyuta Escuintla.....	53
12A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para las tres épocas de muestreo realizada en Poza Verde Nueva Concepción.....	54
13A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para las tres épocas de muestreo realizada en San Francisco Nueva Concepción.....	55
14A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizada en La Ilusión Nueva Concepción.....	56
15A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizada en Ticanlú 1 El Semillero.....	57
16A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizada en Ticanlú 3 El Semillero.....	58
17A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Puente Palo, Escuintla, Guatemala.....	59
18A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio San Angel, Masagua, Escuintla.....	60
19A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Chemita, Cuyuta, Escuintla.....	61
20A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de <i>M. fijiensis</i> a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Chemita, Cuyuta, Escuintla.....	62

21A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio San Francisco, Nueva Concepción, Escuintla.... 63

22A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio La Ilusión, Nueva Concepción, Escuintla..... 64

23A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Ticanlú 1, El Semillero, Tiquisate..... 65

24A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Ticanlú 3, El Semillero, Tiquisate..... 66

INDICE DE CUADROS

No.	PAGINA
1. Sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a propiconazol en diferentes países en el periodo de 1982-86...	16
2. Valores de sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a propiconazol y flusilazol para ambas localidades y hospederos.....	17
3. Valores de sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a propiconazol en seis diferentes localidades del departamento de Izabal y en seis muestreos para evaluación de períodos libres.....	18
4. Ubicación geográfica y altitud en MSNM en los sitios en estudio.....	21
5. Precipitación promedio total anual, biotemperaturas medias anuales y series de suelos de las localidades en estudio.....	22
6. Tipo de planta muestreada en cada sitio.....	23
7. Valores de Concentración Efectiva 50, en ppm de propiconazol por el método matemático y método gráfico en diez sitios de muestreo del departamento de Escuintla, Guatemala.....	29
8. Análisis de variabilidad de sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ entre muestreos para los sitios en estudio del departamento de Escuintla.	30

9. Comparación de la sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ entre sitios para el primer muestreo (julio 1994).....	32
10. Comparación de la sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ entre sitios para el segundo muestreo (septiembre 1994).....	33
11. Comparación de la sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ entre sitios para el tercer muestreo (noviembre 1994).....	34
12. Comparación de la sensibilidad de <i>M. fijiensis</i> a PPZ entre los hospederos evaluados (banano y plátano) en los tres muestreos.....	35
13. Valores de longitud y porcentaje de reducción de tubos germinativos de <i>M. fijiensis</i> a propiconazol en los sitios de muestreo del departamento de Escuintla en las tres épocas.....	67
14. Valores de F calculada provenientes del Análisis de Varianza y su respectiva significancia para cada sitio de muestreo y para las tres épocas....	69

"DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATURALES DE *Mycosphaerella fijiensis* A PROPICONAZOL EN PLANTACIONES DE *Musa* spp. DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA"

"SENSITIVITY OF WILD-TYPE POPULATION OF *Mycosphaerella fijiensis* TO PROPICONAZOL IN *Musa* spp. AT ESCUINTLA, GUATEMALA"

RESUMEN

Se sometieron a evaluación seis diferentes concentraciones del fungicida propiconazol para establecer *in vitro* la sensibilidad original que presenta *Mycosphaerella fijiensis*. Para ello se ubicaron diez sitios pertenecientes a cinco localidades del departamento de Escuintla, siendo ellas: Escuintla, Masagua, Cuyuta, Nueva Concepción y El Semillero, Tiquisate, que presentaron material de plátano o banano infectados con la enfermedad Sigatoka negra; la característica primordial de ellos fue la no utilización de productos fungicidas dentro de la plantación. La metodología utilizada fue la propuesta por el Comité de Acción para Resistencia a Fungicidas (siglas en inglés: "FRAC") y la sensibilidad fue medida en términos del porcentaje de reducción del tubo germinativo de la ascospora del hongo.

Se realizaron un total de tres muestreos, a intervalos de dos meses (julio, septiembre y noviembre), determinándose para cada caso los valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50) por los métodos gráfico y matemático (regresión) y Gráficos de Porcentaje de Inhibición a 0.01 y 0.1 ppm de propiconazol.

La Línea Base de sensibilidad del hongo al fungicida quedó establecida entre el rango de 0.005 y 0.07 ppm de propiconazol. Además se determinó, mediante el método matemático de regresión de EC 50 que la sensibilidad de las poblaciones naturales del hongo permaneció estable, sin variación, durante la época de mayor presión de la enfermedad, en los tres muestreos realizados, aunque existieron ligeros cambios no significativos en la misma. Tampoco existió variación en sensibilidad entre los sitios evaluados. Por otra parte, *M. fijiensis*

no presentó variaciones en sensibilidad entre los hospederos sometidos a evaluación: plátano y banano.

Por último se determinó, mediante gráficos del Porcentaje de Inhibición a 0.01 ppm de propiconazol, que los cambios en sensibilidad que presentó *M. fijiensis* hacia el fungicida se relacionan directamente con la cantidad de agua precipitada en la época, así pues, en septiembre (segundo muestreo) se encontró reducción en sensibilidad, recuperándola en noviembre (tercer muestreo).

1. INTRODUCCION.

A nivel mundial, las especies de *Musa* se ven afectadas por la enfermedad fungosa denominada Sigatoka, producida por los hongos patógenos *Mycosphaerella musicola* Leach (Sigatoka amarilla) y *M. fijiensis* Morelet (Sigatoka negra) (14), de ellas, la segunda ha resultado ser más severa y destructiva y de difícil control, considerándose como la enfermedad foliar más importante (2).

Muchos países dependen grandemente de la exportación de productos agrícolas como el caso de los centroamericanos y caribeños, y perciben cuantiosas pérdidas por concepto de divisas debido al ataque de diversas enfermedades. El banano en nuestro país representa el tercer producto de mayor importancia en este rubro, solamente detrás de los cultivos del café y caña de azúcar (13).

Actualmente, en las grandes fincas bananeras, la única manera de obtener una producción de alta calidad en donde la fruta reúna los estándares requeridos por los países importadores (europeos y norteamericanos) es utilizando programas de aspersión con fungicidas protectantes y sistémicos ligadas con prácticas agronómicas adecuadas, para impedir de esta manera daños por patógenos.

El propiconazol es un producto perteneciente a los fungicidas Inhibidores de la Síntesis de Ergosterol (ISE) específicamente del grupo de los triazoles y es utilizado ampliamente en el país en programas de aspersiones de muchas fincas bananeras para control de Sigatoka.

Aún cuando se implemente un manejo adecuado de la enfermedad y del fungicida, existe el riesgo de que se seleccionen cepas resistentes o menos sensibles del hongo, por lo que los estudios dentro de este campo son necesarios para preservar la vida útil de los productos y el control de las enfermedades.

Esta investigación presenta los valores de sensibilidad *in vitro* de poblaciones naturales de *M. fijiensis* al propiconazol utilizando el método de rutina propuesto por la "FRAC" (siglas en inglés del "Comité de Acción para la Resistencia a Fungicidas") calculando el parámetro de Concentración Efectiva 50 (EC 50) y gráficos de Porcentaje de Inhibición con seis diferentes concentraciones del fungicida que aumentan de manera exponencial en diez sitios de plátano o banano del departamento de Escuintla que no posean historial de aplicaciones de fungicidas; además se establece la Línea Base de sensibilidad para poder comparar con otras poblaciones del hongo sometidas a la presión del propiconazol y así poder implementar estrategias anti-resistencia cuando correspondan.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Es bien conocido que en la agricultura moderna se utilizan diversos métodos de control de enfermedades para reducir daños económicos a los cultivos. El control a base de productos químicos ocupa un renglón muy importante en la protección vegetal por su efectividad, y hoy por hoy es el método más utilizado en las grandes fincas y empresas bananeras del país.

En las plantaciones de *Musa sp.* es común encontrar infecciones foliares de hongos ascomicetos del género *Mycosphaerella* causantes de la enfermedad de Sigatoka la que merma considerablemente la calidad de la fruta, sobre todo si las condiciones ambientales son adecuadas para su desarrollo.

Para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) es común la utilización de fungicidas de acción sistémica -como lo es el propiconazol- los que generalmente se aplican en época lluviosa ya que es donde la enfermedad causa mayor daño.

El uso constante e inadecuado de fungicidas sistémicos permite que los hongos utilicen mecanismos tanto fisiológicos como genéticos que conllevan a una pérdida gradual de sensibilidad al mismo, ya que actúan sobre un sitio específico del metabolismo del patógeno.

El propiconazol fue introducido al país en el año de 1987, su innovador mecanismo de acción permitió un buen grado de control contra Sigatoka negra, difundándose en las bananeras del país; en los últimos años ha disminuido ligeramente su efectividad.

Para detectar cambios de sensibilidad rutinariamente se monitorea al hongo en las plantaciones comerciales y se comparan los valores EC 50 y/o de porcentaje de inhibición contra los obtenidos en áreas cercanas en las que no se aplican fungicidas.

Los valores EC 50 y de porcentaje de inhibición que aquí se presentan constituyen la Línea Base de sensibilidad de Sigatoka negra (*M. fijiensis*) a propiconazol, se pretende que de alguna manera estos sustituyan a los valores de sensibilidad de poblaciones originales (antes de que se aplicara el producto por primera vez). La comparación de estos valores de sensibilidad "inicial" contra los de fincas comerciales actuales, permitirá establecer la intensidad de las variaciones de sensibilidad de Sigatoka negra (*M. fijiensis*) a propiconazol ocurridos durante los últimos siete años.

3. MARCO TEORICO:

3.1 Marco Conceptual.

3.1.1 Descripción Botánica de la Especie:

Tanto el banano como el plátano son considerados como plantas herbáceas que poseen un pseudotallo aéreo originado de cormos carnosos en los cuáles se desarrollan muchas yemas laterales o "hijos". Por otra parte, las hojas poseen una distribución helicoidal (filotaxia espiral) y las bases foliares circulan el tallo o cormo y dan origen al pseudotallo. En lo que respecta al sistema radicular, al momento de la germinación de una semilla de *Musa* la raíz primaria es rápidamente reemplazada por el sistema de raíces adventicias típicas del cultivo. El origen y desarrollo de las raíces adventicias y laterales es de tipo endógeno, iniciándose cerca de los tejidos vasculares y atravezando los demás tejidos localizados fuera del punto de origen. La inflorescencia es terminal y crece a través del centro del pseudotallo hasta alcanzar la superficie (28).

3.1.2 Clasificación Taxonómica:

Los géneros de *Musa* poseen la siguiente clasificación (19):

Reino:	Plantae
Subreino:	Embryobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Subclase:	Zyngiberidae
Orden:	Zyngiberales
Familia:	Musaceae
Genero:	<i>Musa</i>

3.1.3 Ecología del Cultivo:

Las plantas de *Musa* se desarrollan óptimamente en regiones tropicales que son húmedas y cálidas. Tanto la luz, temperatura y

reservas de agua son determinantes, además de un buen contenido de nutrimentos. La localización óptima se ubica entre los 0 y 15 grados de latitud norte y sur. La altitud comprendida entre los 0 y 300 MSNM es la adecuada, siempre y cuando la temperatura no sea limitante para el desarrollo. Para la obtención de cosechas económicamente rentables, se considera suministrar de 100 a 180 mm de agua por mes, para cumplir con los requerimientos necesarios de la planta; con respecto a la temperatura, su mínima absoluta es de 15.6 °C y su máxima de 37.8 °C. Exposiciones a temperaturas mayores o menores causan deterioro y lentitud en el desarrollo, además de daños a la fruta. Las texturas recomendadas para obtener buenas cosechas son las medias, desde franco arenosos muy finos y finos hasta franco arcillosos, texturas más livianas o más pesadas pueden provocar problemas de manejo. Por otra parte los suelos deben de presentarse bien balanceados físicamente hasta una profundidad no menor de 1.20 metros. Las condiciones de pH adecuadas oscilan entre los 6 y 7.5 (28).

3.1.4 Importancia Económica del Cultivo:

Guatemala es un país que depende grandemente de la producción agrícola, siendo sus principales cultivos: el café, la caña de azúcar y el banano, los cuáles se destinan, en su mayoría, a la exportación.

Según un reporte del Departamento de Estudios Económicos del Banco de Guatemala que comprende del 4 de enero al 27 de octubre de 1994, las exportaciones de banano guatemalteco dejaron en ese entonces US\$93 millones 945 mil 600, teniendo una disminución del 4.4% con respecto al año de 1993 (16). Esta disminución se debió a la depresión que sufrieron los precios a raíz de prácticas especulativas de los países europeos que son los principales consumidores de la fruta tropical (26).

Por otra parte, el plátano se comercializa en gran manera a nivel nacional en los mercados, y se consume como un artículo de sobremesa, sin tener carácter esencial en la alimentación(13).

El cultivo del banano genera empleo de manera directa e indirecta, y según la UPEB (Unión de Países Exportadores de Banano) éste tiende a aumentar (5).

3.1.5 El Patógeno:

3.1.5.1 Origen y Dispersión:

En el año de 1969 se detectó por primera vez a *Mycosphaerella fijiensis* en una finca experimental de la United Fruit Co. llamada Guaruma I y que se encontraba ubicada en Honduras. Tres años después, en 1972, se detectó en la finca Zapote que se encontraba situada frente a Guaruma I. En 1973 fue detectada en la finca Naranjo Chino distanciada 11 Kms. del foco inicial. El Huracán FIFI, que se presentó en el año de 1974 fue el principal causante de la dispersión de la enfermedad en todo el territorio hondureño, ya para el año de 1977 se encontraba en Guatemala. En Belice apareció en 1975, en Costa Rica en 1979, en Mexico, Panamá y Colombia en en año de 1981 (2,14).

El patógeno ha sido observado también en Fiji, Tonga, Samoa Occidental, Islas Cook, Papua, Taiwan, Islas Salomón y Nueva Guinea. Estas dos últimas regiones son consideradas como el centro de origen de los patógenos con epíteto Fijiensis (14).

El viento y el hombre han sido las principales causantes de la diseminación de la enfermedad a los países vecinos (2).

3.1.5.2 Organismo Causal y Ciclo de Vida:

La enfermedad de Sigatoka posee dos ciclos de reproducción, uno de tipo sexual en donde se dá la producción de ascosporas (género *Mycosphaerella*) y otro de tipo asexual en donde existe producción de conidias y que corresponde al género *Cercospora* (2).

El hongo posee tres tipos de cuerpos fructíferos: los espermogonios que producen espermacios, los peritecios que producen

3.1.5.4 Efectos de la Enfermedad:

La Sigatoka negra causa efectos directos e indirectos sobre las especies de *Musa*. Entre los efectos directos se puede mencionar un "quemado" o necrosamiento de las hojas lo que representa una pérdida de área foliar y además defoliación. Las hojas que presentan mayor exposición a la infección son la candela, particularmente el lado izquierdo de la misma, y la primera hoja. Los efectos indirectos se hacen notar en la fruta, ya que debido a la disminución del área foliar por el proceso de infección, se alteran los procesos fisiológicos del desarrollo de la misma, se puede mencionar entonces un retardo en la madurez fisiológica normal, racimos pequeños y deformados, dedos sin grosor adecuado, la fruta se vuelve blanda en el racimo antes de la cosecha, la pulpa adquiere coloración y sabor anormal, maduración prematura (2,14).

3.1.5.5 Etiología:

En el año de 1964 se descubrió una nueva enfermedad foliar del banano, similar a la Sigatoka amarilla pero más severa, la coloración negra de los síntomas de las hojas originó que se denominara raya negra. El exámen de las estructuras reproductivas sexuales, reveló que no existía diferencias en el estado sexual *Mycosphaerella sp*, pero sí era notable la diferencia en el estado imperfecto *Cercospora*, como para considerarse una nueva especie. Se denominó como *M. fijiensis* Morelet, Deighton, el estado perfecto y *Cercospora fijiensis* al estado imperfecto (6,23).

Se había referido a *M. fijiensis* como mutante de *M. musicola* las cuáles descendían de un ancestro común, pero el comportamiento en el campo y el estudio microscópico de las estructuras reproductivas revela que son dos especies diferentes (29).

En Honduras se identificó otra nueva especie del género *Mycosphaerella* que presentaba los mismos síntomas en el campo que *M.*

fijiensis pero la descripción de las estructuras asexuales no correspondían a las observadas. Denominaron a esta especie *M. fijiensis* var *difformis* el estado sexual y *Cercospora fijiensis* var *difformis* al estado asexual (24).

Las diferencias taxonómicas entre estas dos últimas especies no han sido lo suficientemente claras. En 1990, Pons (25) estableció mediante el estudio de las estructuras reproductivas de materiales de diferentes procedencias una única clasificación para ambas que es reconocida mundialmente *M. fijiensis* estado perfecto y *Cercospora fijiensis* estado imperfecto.

Tal citado por Tapia (30) ubica taxonómicamente a las especies en:

Clase: Ascomycetes.
 Subclase: Loculascomycetes.
 Orden: Dothiales.
 Familia: Dothiaceae.
 Género: *Mycosphaerella*.

3.1.5.6 Condiciones Climáticas:

Los elementos más importantes del clima que favorecen el desarrollo del hongo son: la lluvia, el rocío y la temperatura. Estos elementos intervienen en la germinación de esporas, crecimiento del tubo germinativo, penetración en el hospedero y en la producción y liberación de esporas. La temperatura óptima oscila entre los 26 y 28 °C y predomina a alturas inferiores de los 600 MSNM (30).

3.1.6 Historia de Fungicidas ISE:

Al final de los años sesentas fueron patentados los primeros compuestos imidazoles, triazoles y pirimidinas con propiedades fungicidas, los mismos demostraron características interesantes pero casi todos tuvieron un limitado espectro de actividad y ninguno fue

extremadamente activo. Fue en la época de los años setentas cuando un nuevo grupo de fungicidas triazoles fue desarrollado con distintas ventajas en el control de un amplio espectro de enfermedades en frutas, vegetales y otros cultivos. Esos productos han mostrado un alto nivel de eficacia en la mayoría de las enfermedades de los cereales. El sucesivo uso de esos productos es la causa de que, hasta 1986, el área tratada de los cereales europeos continuó cultivado. Investigaciones bioquímicas han mostrado que todos esos fungicidas han sido efectivos en la inhibición de la biosíntesis de compuestos esteroides. Con excepción de las morfolinas, que también son considerados fungicidas ISE, todos los compuestos tienen un sitio común de acción. Desde 1980, han sido desarrollados nuevos fungicidas ISE, con un diferente espectro de actividad y eficacia a bajas dosis (7).

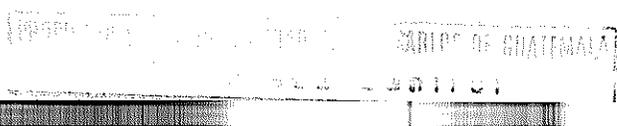
3.1.7 Biosíntesis del ergosterol:

Nes citado por Delp (8) indica que la mayoría de hongos fitopatógenos (Ascomicetos, Basidiomicetos y Deuteromicetos) sintetizan sus propios esteroides los que son requeridos en el crecimiento y reproducción de los hongos.

"La primera estructura que se forma en la biosíntesis del ergosterol, el lanosterol, es formado por la ciclización del 2,3-epoxiescualeno el que proviene de la vía del isoprenoide. El lanosterol sufre considerables modificaciones antes de llegar al final de la biosíntesis. La primera modificación es una metilización en la posición del carbono veinticuatro (C-24), seguido de una remoción oxidativa del grupo metil en las posiciones de los carbonos catorce (C-14) y cuatro (C-4). Los pasos finales incluyen un rearreglamiento de dobles enlaces formándose, en la mayoría de fitopatógenos el compuesto final denominado ergosterol" (7).

3.1.8 Mecanismo de Acción del propiconazol:

"El producto interfiere con el traslado del grupo metil a la



posición del carbono catorce (C-14). La secuencia de la demetilización del C-14 inicia con la hidroxilación del grupo metil C-14 mediante la unión del ingrediente activo al citocromo P-450 monooxigenasa, lo que conduce a una acumulación de metabolitos intermedios del ergosterol, agotándose el contenido del mismo en el micelio" (7,32).

3.1.9 Definición de Resistencia a Fungicidas:

"El desarrollo de resistencia a un determinado fungicida es un ajuste estable y hereditario de un hongo hacia un fungicida, que da como resultado una menor sensibilidad a ese fungicida. El término es usado generalmente para cepas de especies sensibles que han cambiado, usualmente por mutación, para ser menos sensibles a un tóxico" (8).

3.1.10 Antecedentes de Resistencia a Fungicidas:

Conforme se han utilizado los fungicidas durante años para el control de diversas enfermedades, se han formado cepas fitopatógenas resistentes a algunos fungicidas. La resistencia a fungicidas con anillo bencénico apareció alrededor de los años sesentas, ejemplos de esos productos son: difenilo, hexaclorobenceno, PCNB. Posteriormente apareció una cepa de *Venturia inaequalis* resistente al dodine. Lo mismo ha sucedido con antibióticos que se utilizan ampliamente para el control de bacterias patógenas. Sin embargo fue la utilización de los fungicidas sistémicos, como el benomyl, lo que propició la aparición de numerosas cepas de hongos resistentes a uno o más fungicidas. Esto se debe a que los mismos actúan sobre un sitio específico del metabolismo del hongo y es más fácil que los hongos, por medio de mutación o selección, se hagan resistentes (1).

3.1.11 Estrategias Anti-Resistencia:

En los casos tempranos de resistencia a fungicidas es necesario tomar acciones inmediatas. Para la implementación de este tipo de estrategias se deben de tomar en cuenta los siguientes elementos:

evaluación de riesgos y el diseño de estrategias.

3.1.11.1 Evaluación de Riesgos:

Los principales factores que influyen el riesgo de resistencia pueden dividirse en dos grupos, el primero corresponde a factores inherentes tales como la biología del hongo o la química del fungicida e incluyen el modo de acción del producto, la dinámica de población del hongo, reproducción y movilidad de esporas así como la duración del período de mayor presión de la enfermedad (clima). El segundo grupo corresponde al uso y manejo de los fungicidas en donde se considera la duración de la exposición del hongo (en generaciones), presencia de otros factores de control (efectividad de mezclas, resistencia del huésped), proporción del área tratada del cultivo (7).

3.1.11.2 Diseño de Estrategias:

En esta etapa es necesario considerar dos tipos de elementos, los elementos técnicos que incluyen la evaluación temprana del riesgo inherente durante el desarrollo del producto, establecimiento de línea base de sensibilidad para cada patosistema y desarrollo de métodos de monitoreo, detección y programas de monitoreo bajo condiciones prácticas del uso del producto. También existen los elementos de manejo, entre los cuáles están el uso de recomendaciones (dosis, número de aplicaciones por temporada, duración de la exposición al patógeno, proporción de área tratada), integrar otros métodos de supresión de enfermedades; la implementación de estos elementos deben de realizarse tempranamente antes de que la resistencia se vuelva un verdadero problema (7).

3.1.12 Monitoreo de Resistencia:

El término "monitoreo" significa ver, observar, chequear, etc y el término monitoreo de resistencia es utilizado para reconocer y predecir resistencia de un patógeno a un fungicida. El "FRAC" (siglas en inglés

del Comité de Acción para Resistencia a Fungicidas) comenzó a trabajar con el grupo de los fungicidas ISE en el año de 1982, e inició con validar reportes de resistencia en cereales y cucúrbitas con poblaciones de mildius felpudos. Otras compañías e instituciones que trabajaban con el grupo de los ISE desarrollaron independientemente métodos para evaluar la sensibilidad de los patógenos. Esos métodos fueron designados para simular condiciones prácticas. En un principio se compararon campos con historial de aplicaciones con otros campos en donde no se han utilizado los productos. Más tarde, sistemáticamente, fueron usándose áreas de mayor tamaño. En adición a las pruebas en donde se utilizaron los mildius, existen en la actualidad un número alto de métodos para determinar sensibilidad de patógenos a fungicidas ISE, éstos métodos han sido desarrollados y publicados por compañías que trabajan con esos grupos. Se ha trabajado los siguientes patógenos: *Sphaerotheca fulginea* en cucurbitáceas (in vivo), *Uncinula necator* en uva (in vivo), *Venturia inaequalis* en manzana (in vitro, in vivo), *Cercospora sp.* en maní (in vitro), *Pseudocercospora sp.* en cereales (in vitro), *Mycosphaerella musicola* y *fijiensis* (in vitro, y estudios iniciales in vivo) (7).

3.1.13 Línea Base de Sensibilidad a propiconazol:

En los años de 1982/3 Ciba Geigy inició programas de monitoreo en países clave, con el objeto de establecer la línea base de sensibilidad de *Mycosphaerella sp.* a propiconazol para que fuera posible dejarlo como un patrón para el futuro. Esos programas fueron establecidos para la detección temprana de un eventual brote de "resistencia" y poder adaptar estrategias si se llegaran a requerir. Para poder detectar una disminución de sensibilidad, es importante conocer la sensibilidad de poblaciones naturales (libres de aplicación de fungicidas) del patógeno. Esos datos se obtienen con experimentos utilizando un rango de concentraciones- y es expresado como EC 50 (concentración del fungicida que reduzca el 50% de la longitud de los tubos germinativos o

el desarrollo de micelio del hongo), ese conjunto de datos de poblaciones naturales es denominado como Línea Base. Los valores de EC 50 pueden variar dependiendo de la versión del método, las condiciones experimentales y la localidad, es por ello que es necesario incluir en todos los monitoreos de resistencia el método utilizado además de conocer la variación de la prueba y los parámetros utilizados para una correcta interpretación de los valores obtenidos para cada monitoreo (7)

3.2 Marco Referencial:

3.2.1 Métodos utilizados para detectar sensibilidad a fungicidas ISE:

Uno de los métodos para determinar sensibilidad, es el llamado Método de Crecimiento de Colonias, que se basa en descargar ascosporas del hongo en un medio agar-V8 que contiene una determinada concentración de fungicida incluido un testigo libre del producto. Se mide el crecimiento del micelio en cuatro repeticiones de la concentración, con estos resultados se realiza una gráfica de dosis-respuesta en papel semilogarítmico, por último se busca la concentración del fungicida que redujo en 50% (EC 50) el crecimiento del micelio (3).

En la actualidad, la metodología utilizada es la propuesta por el "FRAC" (siglas en inglés del Comité de Acción para resistencia a Fungicidas)(11), la que es similar a la recomendada por Dupont (10) para monitoreo de resistencia a benzimidazoles. Esta metodología consiste en la medición de la longitud del tubo germinativo de las ascosporas del hongo después de 48 horas, las que germinaron en agar-agua-fungicida, comparándose luego con un testigo libre de fungicida, en términos de reducción de la longitud del tubo germinativo (10,12).

3.2.2 Estudios de sensibilidad de *M. fijiensis* a propiconazol:

3.2.2.1 Realizados en otros países:

Ciba Geigy inició programas de monitoreo de sensibilidad en Centro América en el año de 1982. Programas adicionales de monitoreo fueron iniciados en Africa, específicamente en Camerún y en las Filipinas en los años de 1983 y 1985 respectivamente. Los datos generados en 1982-83 correspondieron a poblaciones naturales (Línea Base). El método utilizado en ese entonces fue el de crecimiento de micelio. Los valores de EC 50 fluctuaron entre 0.02 y 0.7 ppm de propiconazol. Los resultados de los aislamientos colectados en 1984-85 en pruebas de campo o plantaciones comerciales donde el propiconazol fue utilizado para el control de Sigatoka, se determinó que no existió cambio en comparación a los niveles de sensibilidad de la línea base (3). El siguiente cuadro resume los valores de sensibilidad determinados.

Cuadro 1. Sensibilidad de *M. fijiensis* a propiconazol en diferentes países en el período de 1982-86.

Año	País	Número de ejemplo	Rango de valores EC 50 en ppm de i.a
1982	Costa Rica	1	0.1
	Guadalupe	1	0.26
	Martinica	2	0.07-0.10
1983	Belize	13	0.02-0.70
	Camerún	5	0.04-0.36
	Martinica	1	0.18
1984	Belize	8	0.02-0.10
	Camerún	15	0.02-0.17
1985	Camerún	1	0.04
	Honduras	3	0.09-0.16
	Filipinas	1	0.07
1986	Camerún	1	0.09
	Guadalupe	1	0.13
	Honduras	1	0.18
	Filipinas	1	0.12

En Costa Rica, Williams (32) evaluó la sensibilidad de *M. fijiensis* a los fungicidas propiconazol y flusilazol utilizando para el caso dos localidades, una de ellas con historial de aplicaciones de los fungicidas (Guápiles) y otra sin historial (La Lola) de aplicaciones, además se utilizaron plantas de banano y plátano. En ese entonces no se encontraron diferencias entre las poblaciones del hongo provenientes de las dos localidades, como tampoco existió diferencias entre los fungicidas, ni entre las poblaciones del hongo de ambos hospederos. Se

utilizó la metodología propuesta por el "FRAC" (longitud de tubo germinativo) así como la ecuación de saturación para calcular los valores de EC 50, para determinar las diferencias entre poblaciones se utilizaron límites de confianza superiores e inferiores. El resumen de los resultados se muestra a continuación.

Cuadro 2. Valores de sensibilidad de *M. fijiensis* a propiconazol y flusilazol para ambas localidades y hospederos.

		propiconazol		flusilazol	
		Banano	Plátano	Banano	Plátano
La Lola	Lim sup.	0.0121	0.0132	0.0620	0.0299
	EC 50	0.0085	0.0083	0.0358	0.0214
	Lim inf.	0.0048	0.0034	0.0095	0.0130
Guápiles	Lim sup.	0.1594	-----	0.0229	-----
	EC 50	0.0024	-----	0.0173	-----
	Lim inf.	-0.0111	-----	0.0117	-----

Lim sup.: Límites de confianza superiores al valor de EC 50.

Lim inf.: Límites de confianza inferiores al valor de EC 50.

3.2.2.2 Realizados en Guatemala:

De 1992 a 1995, Ciba Geigy ha realizado rutinariamente monitoreos de sensibilidad de Sigatoka a propiconazol. El programa actual incluye también evaluación de la sensibilidad de otros triazoles. Otras compañías productoras de banano también lo hacen. El método usado es el de longitud de tubos germinativos. (18).

Mancilla Ruano (21) evaluó el efecto de los períodos libres de aplicación de propiconazol en plantaciones de banano, en seis localidades del departamento de Izabal, cinco de ellas con historial de aplicaciones y una sin historial. Para determinar los valores de sensibilidad, utilizó el método de la longitud de tubos germinativos recomendado por "FRAC" (siglas en inglés del Comité de Acción para Resistencia a Fungicidas) determinando los valores de EC 50 por medio de regresión y utilizando el método gráfico. En ese trabajo se determinó que el hongo recupera la sensibilidad al fungicida por medio de la utilización de períodos libres, concluyéndose que a mayor duración del mismo existe mayor recuperación de sensibilidad. Los

valores de concentración efectiva 50 de las poblaciones con historial de aplicaciones fluctuaron entre 0.088 a 1.36 ppm de i.a. y los valores de las poblaciones sin aplicación de fungicida variaron entre 0.0007 a 0.048 ppm de i.a.

Cuadro 3. Valores de sensibilidad de *M. fijiensis* a propiconazol en seis diferentes localidades del departamento de Izabal y en seis muestreos para evaluación de periodos libres.

MUESTREO						
	1	2	3	4	5	6
LOCALIDAD						
1	SD	SD	0.27	0.28	0.44	0.088
2	SD	0.44	0.31	0.57	1.36	0.141
3	0.56	SD	0.25	1.05	0.32	0.128
4	0.43	SD	0.23	0.81	0.33	0.167
5	0.37	0.19	0.41	0.20	0.34	0.211
A	0.038	0.0007	0.003	0.048	0.021	0.003

A = Localidad sin historial de aplicaciones.
 Todos los valores en ppm de i.a.

3.2.3 Características del propiconazol:

El propiconazol es el ingrediente activo del producto comercial Tilt 250 EC (250 gramos de i.a./litro) y pertenece específicamente al grupo de los triazoles por poseer tres átomos de nitrógeno. El Tilt es un fungicida sistémico de amplio campo de acción, desarrollado por Ciba Geigy Ltda. especialmente para el control del complejo de enfermedades en cereales; posee un gran valor para controlar eficientemente la Sigatoka. En banano, Tilt controla además a *Mycosphaerella musae*, *Cordana musae*, *Cladosporium musarum*. Es ligeramente tóxico a mamíferos y peces y se clasifica como WHO clase III. El producto posee poca movilidad en el suelo siendo moderadamente persistente en el mismo. La mejor forma de utilizar Tilt es en bloques con un mínimo de tres aplicaciones consecutivas y debe de usarse solamente en el período de lluvias. Posee registro de residualidad extendido por la Agencia para la Protección Ambiental de los Estados Unidos ("EPA", siglas en inglés "Environmental Protection Agency")(3).

3.2.3.1 Otras características:

- Es altamente sistémico.
- Penetra rápidamente en la lámina foliar.
- Se presenta como un concentrado emulsificable.
- Posee una fuerte acción curativa.
- Es bien tolerado por bananos y plátanos.
- Es compatible con aceites agrícolas.
- Toxicológicamente se encuentra bien documentado lo que garantiza seguridad al usuario.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- 4.1.1 Conocer la sensibilidad original (*in vitro*) de poblaciones naturales de *Mycosphaerella fijiensis* a propiconazol (PPZ) en la época de mayor presión de la enfermedad.

4.2 ESPECIFICOS

- 4.2.1 Determinar los valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50) y Gráficos de Porcentaje de Inhibición de poblaciones de *M. fijiensis* a PPZ.
- 4.2.2 Establecer la Línea Base de sensibilidad de *M. fijiensis* a PPZ en Guatemala.

5. HIPOTESIS

- 5.1 Las generaciones de *Mycosphaerella fijiensis* de cada población no presentan variación entre sí en sus valores de sensibilidad (EC 50) al fungicida propiconazol.
- 5.2 No existe variación en la sensibilidad (EC 50) de *M. fijiensis* al PPZ entre los sitios de muestreo.
- 5.3 La sensibilidad que presenta *Mycosphaerella fijiensis* al propiconazol en plantas de banano y plátano se considera estadísticamente similar.

6. METODOLOGIA.

6.1 Procedencia del material de plátano y banano:

Las muestras de hojas infectadas con Sigatoka que se utilizaron en el experimento, procedían de diez sitios de banano y plátano de la región sur del país en el departamento de Escuintla y no poseían historial de aplicación de fungicidas.

Cuadro 4. Ubicación geográfica y altitud en metros sobre el nivel del mar de los sitios en estudio.

Nombre Sitio	Localidad	Latitud	Longitud	Elevación
Puente Palo	Escuintla	14 18'53"	90°47'15"	347
En Angel	Escuintla	14 07'08"	90°53'05"	225
Chemita	Cuyuta	14 06'17"	90°51'48"	41
El Placer	Nva Concepción	14 14'32"	91°13'31"	50
En Francisco	Nva Concepción	14 12'34"	91°13'42"	50
Poza Verde	Nva Concepcion	14 10'23"	91°14'02"	50
La Ilusión	Nva Concepcion	14 17'41"	91°17'41"	50
Ticanlú 1	Semillero, Tiq.	14 03'52"	91°31'02"	05
Ticanlú 2	Semillero, Tiq.	14 03'52"	91°31'02"	05
Ticanlú 3	Semillero, Tiq.	14 03'52"	91°31'02"	05

Según IGN basado en Thornwaite (15) los sitios o fincas de la localidad de Escuintla poseen un clima seco, sin estación fría bien definida, muy húmedo, sin estación seca bien definida. Los sitios de Cuyuta, Nueva Concepción y El Semillero, Tiquisate poseen un clima cálido, sin estación fría bien definida, húmedo con invierno seco.

Los sitios ubicados en la localidad de El Semillero poseen una zona de vida de bosque seco subtropical; las localidades de Escuintla, Cuyuta y Nueva Concepción poseen una zona de vida de bosque muy húmedo subtropical (cálido) (4).

Cuadro 1. Precipitación promedio total anual, biotemperaturas medias anuales y series de suelos (4) de las localidades en estudio.

Localidad	Precipitación(mm)	Biotemperatura(°C)	Suelos
Escuinta	3,284	21 - 25	Torolita
Cuyuta	3,284	21 - 25	Parimaná
Nva Concepción	3,284	21 - 25	Tiquisate
Semillero, Tig	855	19 - 24	Arana playa de mar

6.2 Epocas de Muestreo:

Se realizaron tres muestreos durante la época de mayor presión de la enfermedad correspondiente al período de lluvias; con esto se aseguró la presencia de ascosporas del hongo. Entre muestreos hubo un intervalo de dos meses, estimándose al menos dos generaciones del hongo en ese período. El primero se realizó en el mes de julio, el segundo en el mes de septiembre y el último en el mes de noviembre de 1994.

6.3 Ubicación del experimento.

El ensayo se realizó en el laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico y en el laboratorio de Microbiología, ambos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

6.4 Variable de respuesta:

La longitud del tubo germinativo de las ascosporas del hongo fue considerada como variable de respuesta, para el caso se midieron los tubos más largos y rectos, tomados al azar dentro de las cajas de petri.

6.5 Equipo y cristalería:

La cristalería y equipo utilizado en el ensayo fue: cajas petri, balones, erlenmeyers, pipetas, discos de papel filtro, incubadora, campana, termómetros, mechero, refrigeradora, microscopios y estereoscopios entre otros.

6.6 Muestreo:

Dentro de cada finca o sitio de muestreo se colectaron las hojas

más jóvenes con tejido necrótico o "quemado" afectados con Sigatoka negra, se utilizaron de veinte a veinticinco plantas dentro del sitio. En cada sitio se muestrearon plantas de banano o plátano, las que se indican en el cuadro siguiente.

Cuadro 6. Tipo de planta muestreada en cada sitio.

No	Nombre Sitio	Tipo Planta
1	Puente Palo	Banano*, Platano
2	San Angel	Banano*
3	Cuyuta	Plátano
4	La Ilusión	Plátano
5	Poza Verde	Plátano
6	San Francisco	Plátano
7	El Placer	Banano*
8	Ticanlú 1	Plátano
9	Ticanlú 2	Plátano
10	Ticanlú 3	Plátano

* Banano del tipo no comercial.

6.7 Procedimiento de laboratorio:

6.7.1 Preparación de las soluciones:

Se preparó una solución de agar-agua al 2% con una respectiva concentración de fungicida que varió de la siguiente manera:

1. 0.0001 ppm
2. 0.001 ppm
3. 0.01 ppm
4. 0.1 ppm
5. 1.0 ppm
6. 0.0 (testigo)

La solución agar-fungicida se depositó en las cajas petri y se dejó solidificar. Se utilizaron dos repeticiones de cada concentración del fungicida.

6.7.2 Producción y descarga de ascosporas:

De los pedazos de hoja infectada de Sigatoka que provenían de cada sitio de muestreo se cortaron trocitos de 1 cm² y se colocaron en cámara húmeda (dentro de una bolsa plástica con alta humedad relativa)

durante 48 horas. Transcurrido este lapso, se engraparon siete trocitos provenientes de siete diferentes hojas en un disco de papel con el envés hacia abajo. Los discos de papel se sumergieron en agua destilada por cinco minutos y se colocaron en la parte interna superior de la tapadera de las cajas petri que contenían agar-fungicida. Se dejaron descargar las ascosporas durante una hora retirándose luego el disco de papel de la parte superior de la caja petri y marcándose con lápiz de cera la parte inferior externa de la caja en el área que correspondió a los trocitos de hoja. Se identificó cada caja petri con la concentración de fungicida y el número correlativo de finca (17).

6.7.3 Incubación:

Las cajas de petri se introdujeron a la incubadora a una temperatura de 26°C durante 48 horas con lo cual se indujo la formación y desarrollo de los tubos germinativos.

6.7.4 Medición del crecimiento fungoso

Se localizaron a simple vista o con el microscopio estereoscopio las áreas de la superficie del agar con poblaciones del hongo y se marcaron. Generalmente se usaron de cinco a seis campos de descarga por caja petri. Con el objetivo 10X se ubicaron los campos y las lecturas se realizaron con el objetivo 40X midiendo veinticinco tubos germinativos en cada caja. Las mediciones de longitud se realizaron directamente sobre la caja petri utilizando un micrómetro ocular. Estos valores fueron transformados a micras, luego de calibrar el microscopio con un micrómetro objetivo.

6.8 Análisis de las lecturas:

Se calculó el promedio de la longitud de los 50 tubos/concentración (25 en cada repetición o caja petri) y su desviación estándar. Se calculó también el porcentaje de longitud respecto al testigo (0 ppm) para cada valor promedio de cada concentración por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Longitud respecto al testigo} = \frac{\text{Valor promedio de la concentración} * 100}{\text{Valor promedio del testigo}}$$

Con este valor se calculó el porcentaje de reducción de cada concentración con respecto al testigo (0 ppm) con la siguiente fórmula (18):

$$\% \text{ Reducción respecto al testigo: } 100 - \% \text{ Longitud de la concentración.}$$

También se realizaron gráficos de porcentaje de inhibición de las ascosporas para la concentración de 0.01 ppm de i.a.

6.9 Cálculo del Valor EC 50:

6.9.1 Análisis de Regresión:

Se usó el modelo que más se ajustó de acuerdo al valor de coeficiente de regresión más alto (Valor R^2). Se usaron los valores de las medias del porcentaje de reducción con respecto al testigo para cada concentración. Se utilizó el modelo semilogarítmico: $10^Y = a(x^b)$, en donde "x", la variable independiente fue la concentración de propiconazol y "Y" fue la variable dependiente o sea el porcentaje de reducción, "a" y "b" son valores constantes en la ecuación de regresión. Al definirse la ecuación, la variable "Y" tomó el valor de 50 y se despejó la variable "X" a cuyo resultado se le calculó su antilogaritmo para expresarlo como valor de concentración de i.a (EC 50) (18).

6.9.2 Análisis Gráfico:

Se plotearon los valores de porcentaje de longitud de tubo de cada concentración con respecto al testigo en papel semilogarítmico, trazándose la curva respectiva. El eje "X" correspondió a la concentración de propiconazol (en escala logarítmica) y en el eje "Y" se colocaron los valores de porcentaje de longitud de los tubos (escala normal). Al valor de 50% de longitud del tubo se le trazó una línea horizontal hasta tocar la curva calculada y de este punto se trazó una línea vertical hasta alcanzar el eje "X" que correspondió a la

concentración de fungicida, siendo este valor la Concentración efectiva 50 (18).

6.10 Porcentaje de Inhibición:

Para tener una mejor idea de la sensibilidad se realizaron gráficos de barras para determinar el porcentaje de inhibición para cada finca o sitio de muestreo, calculándose primero el porcentaje de longitud con respecto al testigo y luego el porcentaje de reducción de cada longitud de tubo de la ascospora en las concentraciones de 0.01 y 0.1 ppm de PPZ con las fórmulas descritas anteriormente. Estos valores se agruparon en las clases de inhibición siguientes: 0-10%, 10.1-30%, 30.1-50%, 50.1-70% y mayor de 70% de reducción. Las frecuencias se transformaron en porcentajes y se trazaron las gráficas correspondientes para cada muestreo.

6.11 Comparación de los valores EC 50:

Para ello se usaron límites de confianza superiores e inferiores para la variable dependiente en la ecuación de regresión ("Y" o % de reducción). Estos datos fueron utilizados para calcular sus respectivos valores de EC 50 (variable independiente) mediante la fórmula ya establecida. Este análisis se hizo a cada sitio y en los tres muestreos realizados y se compararon. También se compararon los valores de EC 50 entre los sitios evaluados. Si existió traslape entre ellos entonces no hubo variación entre los mismos. El intervalo de confianza para la variable dependiente ("Y") se construyó con la siguiente fórmula (31):

$$y_0 - t_{\alpha/2} * S \sqrt{\{1/n + [(x_0 - \bar{x})/S_{xx}]\}} < Y < y_0 + t_{\alpha/2} * S \sqrt{\{1/n + [(x_0 - \bar{x})/S_{xx}]\}}$$

En donde:

- y_0 = Valor de % de reducción (50%)
- t = Valor de la distribución t con n-2 grados de libertad al 95%.
- S = Desviación estándar.
- x_0 = Valor de EC 50.
- \bar{x} = Media de los valores de x (concentración).

Sxx= Desviación estándar de x.

$$Sxx = \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 / n$$

Previo a calcularse los límites de confianza con la fórmula descrita anteriormente se realizó un análisis de varianza a cada análisis de regresión para evaluar la calidad de la recta y un análisis de residuos a los resultados de cada sitio o finca en cada muestreo para poder cuantificar la normalidad de los resultados (9,20,22).

6.12 Estudio de factores climáticos:

Se consultaron las estaciones meteorológicas del Ingenio Santa Ana, y Tiquisate para poder relacionar la sensibilidad con los factores precipitación y temperatura ocurrida en el período de lluvias ya que son las mas cercanas a las localidades en estudio.

6.13 Línea Base:

Todos los resultados obtenidos expresados como Porcentaje de Inhibición o valores EC 50 se consideraron como la Línea Base de sensibilidad de poblaciones naturales de *Mycosphaerella fijiensis* al PPZ.

7. RESULTADOS Y DISCUSION:

7.1 Variabilidad de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a propiconazol de acuerdo a valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50):

7.1.1 Comparación de valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50) por los métodos gráfico y matemático en los sitios bajo estudio:

El cuadro 7 muestra los resultados de Concentración Efectiva 50, en partes por millón (ppm) de propiconazol por el método matemático y método gráfico, en los tres muestreos realizados en 1994; se puede observar que en algunos sitios existen ligeras diferencias entre los valores de EC 50 de ambos métodos evaluados, existiendo un rango de variabilidad entre ellos de 0 a 2.85X; los mismos se basan principalmente en que el método matemático (regresión) debe ajustar los resultados a una recta, y existen valores de la variable dependiente que tienden a alejarse de la misma por lo que los resultados cambian en comparación con el método gráfico el cuál nos proporciona el resultado en función de la dispersión de los puntos en el eje X,Y que corresponden a la concentración del fungicida y al porcentaje de longitud respectivamente (ver figuras del apéndice). El método gráfico resulta ser de sencilla aplicación, pero con el mismo se hace imposible establecer intervalos de confianza, lo que sí es factible con el método de matemático de regresión y que fue de mucha utilidad en la presente investigación como se verá adelante.

De los diez sitios evaluados solamente fue posible obtener datos en nueve de ellos y en algunos sitios solamente se obtuvieron datos para un solo muestreo tal y como lo demuestra el cuadro 7. A cada sitio se le ha asignado un número correlativo y el tipo de planta muestreada y se presenta en el mismo cuadro. Se puede observar que la EC 50 de los sitios muestreados tiende a concentrarse entre el rango de 0.005 y 0.047 ppm de propiconazol, aunque existe el valor de 0.07 ppm (EC 50 más alto proveniente del método matemático) correspondiente al caserío Ticanlú 1 que se aleja del rango anteriormente expuesto; el mismo sitio posee el valor más alto de EC 50 por el método gráfico.

Cuadro 7. Valores de Concentración Efectiva 50, en ppm de propiconazol por el método matemático y método gráfico en diez sitios de muestreo del departamento de Escuintla, Guatemala.

No.	Nombre Sitio	Localidad	1er Muestreo		2do Muestreo		3er Muestreo	
			MR	MG	MR	MG	MR	MG
1.	Puente Palo (B)	Escuintla	0.020	0.007	0.014	0.016	0.018	0.010
1.	Puente Palo (P)	Escuintla	SD	SD	0.012	0.012	SD	SD
2.	San Angel (B)	Masagua	0.025	0.012	0.029	0.015	0.013	0.008
3.	Chemita (P)	Cuyuta	0.012	0.006	0.008	0.019	0.006	0.006
4.	El Placer (B)	Nva. Concep.	SD	SD	0.008	0.011	SD	SD
5.	Poza Verde (P)	Nva. Concep.	0.023	0.020	0.011	0.013	0.013	0.021
6.	Sn. Francisco (P)	Nva. Concep.	0.010	0.006	0.040	0.022	0.018	0.022
7.	La Ilusión (P)	Nva. Concep.	0.047	0.041	0.027	0.019	SD	SD
8.	Ticanlú 1 (P)	El Semillero	0.070	0.045	SD	SD	0.0054	0.008
9.	Ticanlú 3 (P)	El Semillero	0.027	0.014	SD	SD	0.0053	0.009

MR = Método regresión (matemático)

MG = Método gráfico

B = Banano

P = Plátano

SD = Sin datos

1er Muestreo = Julio

2do Muestreo = septiembre

3er Muestreo = noviembre

Todos de 1994.

7.1.2 Análisis sobre la variabilidad de la sensibilidad del hongo al propiconazol entre muestreos para cada sitio:

Para poder determinar si existió variación estadística entre los tres muestreos para cada sitio, se recurrió a la obtención de intervalos de confianza para la variable dependiente ("Y") en cada ecuación de regresión para luego poder determinar un rango de confiabilidad de valores de EC 50 (variable "X"). Si un valor de EC 50 correspondiente a un muestreo estuviera dentro del rango establecido, se concluye que no existe variación entre ellos; por el contrario, si no correspondiera al mismo, esto indicaría que hay bastante variabilidad de la población de *M. fijiensis* al propiconazol en los diferentes muestreos.

El rango de confiabilidad de cada valor de EC 50 proveniente del método de regresión se encuentra entre paréntesis y se muestra en el cuadro 8. Se puede observar que los valores de EC 50 de cada muestreo para los sitios bajo evaluación ingresan a sus respectivos rangos de confiabilidad, con ello se determina que las generaciones de

Mycosphaerella fijiensis de cada población (sitios) presentaron sensibilidad estadísticamente similar durante las épocas de muestreo del año de 1994 y que las condiciones ambientales predominantes en cada una de ellas no alteraron significativamente la sensibilidad.

Cuadro 8. Análisis de variabilidad de sensibilidad de *M. fijiensis* a PPZ entre muestreos para los sitios en estudio del departamento de Ecuintla.

Sitio	Muestreo	Rango	KC 50 M 1	KC 50 M 2	KC 50 M 3	Sensibilidad
1	1	(0.002,0.17)	-	0.014	0.018	Sin Variación
1	2	(0.002,0.082)	0.02	-	0.018	Sin Variación
1	3	(0.005,0.085)	0.02	0.014	-	Sin Variación
2	1	(0.004,0.30)	-	0.03	0.013	Sin Variación
2	2	(0.007,0.09)	0.025	-	0.013	Sin Variación
2	3	(0.002,0.09)	0.025	0.03	-	Sin Variación
3	1	(0.001,0.1)	-	0.008	0.008	Sin Variación
3	2	(0.001,0.2)	0.012	-	0.008	Sin Variación
3	3	(0.0008,0.04)	0.012	0.008	-	Sin Variación
5	1	(0.004,0.1)	-	0.01	0.013	Sin Variación
5	2	(0.001,0.07)	0.023	-	0.013	Sin Variación
5	3	(0.002,0.08)	0.023	0.01	-	Sin Variación
6	1	(0.0001,0.1)	-	0.04	0.02	Sin Variación
6	2	(0.007,0.17)	0.01	-	0.02	Sin Variación
6	3	(0.003,0.12)	0.01	0.04	-	Sin Variación
7	1	(0.004,0.55)	-	0.027	SD	Sin Variación
7	2	(0.004,0.5)	0.047	-	SD	Sin Variación
8	1	(0.004,0.5)	-	SD	0.005	Sin Variación
8	3	(0.002,0.1)	0.07	SD	-	Sin Variación
9	1	(0.003,0.2)	-	SD	0.005	Sin Variación
9	3	(0.002,0.15)	0.027	SD	-	Sin Variación

SD: Sin Datos.
M1: Muestreo 1
M2: Muestreo 2
M3: Muestreo 3

7.1.3 Comparación de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a propiconazol entre sitios para cada muestreo:

Para facilitar éste análisis, se procedió a realizar las comparaciones de cada sitio con cada muestreo. También se utilizaron los rangos ya establecidos.

En el cuadro 9 podemos observar que no existió variación en sensibilidad entre los sitios para el primer muestreo. El sitio de El Placer se obvió por el hecho de no tener datos.

En el segundo muestreo tampoco se encontró variabilidad significativa en sensibilidad entre los sitios, tal y como se observa en el cuadro 10.

El cuadro 11 corresponde al tercer muestreo, y en el mismo también no se encontró variación entre los sitios.

La uniformidad relativa de los valores de la sensibilidad de Sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* al fungicida entre sitios indica que en las áreas muestreadas del departamento de Escuintla podríamos tener la misma cepa o raza del hongo o que entre las razas presentes no hay variabilidad en cuanto a su respuesta a propiconazol. También podría indicarnos que los cambios en las condiciones del clima prevalescentes entre las áreas muestreadas no afectaron sustancialmente la manifestación de sensibilidad de *M. fijiensis* a propiconazol.

7.1.4 Comparación de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a propiconazol entre los hospederos evaluados:

Los hospederos evaluados fueron plantas de banano y plátano. También se manejaron los resultados para su interpretación con base a los muestreos realizados y a los rangos de confiabilidad ya establecidos. Debido a que se evaluaron más plantas de plátano que de banano, las comparaciones se realizaron con relación a las plantas de plátano, y donde sus valores de EC 50 se encuentran dentro de los rangos de confianza de las plantas de banano, estos valores corresponden a los resultados de regresión que se muestran en el cuadro 7. No se encontró variabilidad significativa entre los dos tipos de

Cuadro 9. Comparación de la sensibilidad de *M. fijiensis* a PPZ entre sitios para el primer muestreo (julio 1994).

Nombre Sitio	Rango de Confianza	EC 50 Sn. Angel	EC 50 Chemita	EC 50 P. Verde	EC 50 Sn. Fco.	EC 50 Ilusión	EC 50 Tican. 1	EC 50 Tican. 3	EC 50 P. Palo
P. Palo	(0.002, 0.17)	0.025	0.012	0.023	0.01	0.047	0.07	0.027	---
Sn. Angel	(0.004, 0.33)	---	0.012	0.023	0.01	0.047	0.07	0.027	0.02
Chemita	(0.001, 0.10)	0.025	---	0.023	0.01	0.047	0.07	0.027	0.02
P. Verde	(0.004, 0.12)	0.025	0.012	---	0.01	0.047	0.07	0.027	0.02
San. Fco.	(0.0001, 0.1)	0.025	0.012	0.023	---	0.047	0.07	0.027	0.02
Ilusión	(0.004, 0.55)	0.025	0.012	0.023	0.01	---	0.07	0.027	0.02
Tican. 1	(0.009, 0.52)	0.025	0.012	0.023	0.01	0.047	---	0.027	0.02
Tican. 3	(0.003, 0.21)	0.025	0.012	0.023	0.01	0.047	0.07	---	0.02

Cuadro 10. Comparación de la sensibilidad de *M. fijjensis* a PPZ entre sitios para el segundo muestreo (septiembre 1994).

Nombre Sitio	Rango de Confianza	EC 50 Sn. Angel	EC 50 Chemita	EC 50 Placer	EC 50 P. Verde	EC 50 Sn. Fco.	EC 50 Ilusión	EC 50 P. Palo
P. Palo	(0.002, 0.08)	0.029	0.008	0.008	0.011	0.040	0.027	---
Sn. Angel	(0.007, 0.09)	---	0.008	0.008	0.011	0.040	0.027	0.014
Chemita	(0.001, 0.24)	0.029	---	0.008	0.011	0.040	0.027	0.014
Placer	(0.002, 0.10)	0.029	0.008	---	0.011	0.040	0.027	0.014
P. Verde	(0.001, 0.07)	0.029	0.008	0.008	---	0.040	0.027	0.014
Sn. Fco.	(0.007, 0.17)	0.029	0.008	0.008	0.011	---	0.027	0.014
Ilusión	(0.004, 0.57)	0.029	0.008	0.008	0.011	0.040	---	0.014

Cuadro 11. Comparación de la sensibilidad de *M. fijiensis* a PPZ entre sitios para el tercer muestreo (noviembre 1994).

Nombre Sitio	Rango de Confianza	EC 50 Sn. Angel	EC 50 Chemita	EC 50 P. Verde	EC 50 Sn. Fco.	EC 50 Tican. 1	EC 50 Tican. 3	EC 50 P. Palo
P. Palo	(0.005, 0.06)	0.013	0.006	0.013	0.018	0.0054	0.0053	---
Sn. Angel	(0.002, 0.09)	---	0.006	0.013	0.018	0.0054	0.0053	0.017
Chemita	(0.001, 0.04)	0.013	---	0.013	0.018	0.0054	0.0053	0.017
P. Verde	(0.002, 0.08)	0.013	0.006	---	0.018	0.0054	0.0053	0.017
Sn. Fco.	(0.003, 0.10)	0.013	0.006	0.013	---	0.0054	0.0053	0.017
Tican. 1	(0.002, 0.02)	0.013	0.006	0.013	0.018	---	0.0053	0.017
Tican. 3	(0.0002, 0.1)	0.013	0.006	0.013	0.018	0.0054	---	0.017

plantas tal y como lo demuestra el cuadro 12.

Con ello se puede inferir en que tanto en plantas de banano como de plátano, no se afectó significativamente la sensibilidad que presentaron las ascosporas hacia el propiconazol.

Cuadro 12. Comparación de la sensibilidad de *M. fijiensis* a PPZ entre los hospederos evaluados (banano y plátano) en los tres muestreos.

Muestreo 1 (julio) Rango (a) (0.002,0.17) Rango (b) (0.004,0.33)		Muestreo 2 (septiembre) Rango (a) (0.0025,0.082) Rango (b) (0.007,0.09) Rango (c) (0.002,0.10)		Muestreo 3 (Noviembre) Rango (a) (0.005,0.08) Rango (b) (0.001,0.09)	
Valores de EC 50 de plantas de plátano		Valores de EC 50 de plantas de plátano		Valores de EC 50 de Plantas de plátano	
No. Sitio	EC 50	No. Sitio	EC 50	No. Sitio	EC 50
3	0.012	1	0.012	3	0.006
5	0.023	3	0.008	5	0.013
6	0.010	5	0.011	6	0.018
7	0.047	6	0.04	8	0.0054
8	0.07	7	0.027	9	0.0053
9	0.027				

(a)= Sitio Puente Palo (Banano)

(b)= Sitio San Angel (Banano)

(c)= Sitio El Placer (Banano)

7.2 Variabilidad de la sensibilidad de *M. fijiensis* de acuerdo con el Porcentaje de Inhibición a 0.01 y 0.1 ppm de propiconazol.

En las figuras del apéndice se puede observar el comportamiento de las esporas de las poblaciones del hongo *Mycosphaerella fijiensis* en los tres muestreos para cada sitio.

Con dicho análisis se pudo detectar algunas variaciones en la sensibilidad en el transcurso del período de lluvias, ya que es evidente el movimiento de las barras en las diferentes clases de inhibición establecidas. Por ejemplo, si la mayor concentración de esporas se dá en las clases con bajo porcentaje de reducción ello indicará que la sensibilidad se reduce, si por el contrario, la mayor concentración de esporas se dá en las clases altas, nos indicará aumento de sensibilidad; aunque como se analizó anteriormente, las variaciones de sensibilidad de las poblaciones evaluadas no son estadísticamente significativas.

Este análisis se facilita con las figuras 2, 3 y 4: las mismas presentan la variabilidad de la sensibilidad de las poblaciones de

todos los sitios para cada muestreo, así pues, se tiene que para el primer muestreo realizado en el mes de julio la mayor concentración de esporas correspondió a la clase de inhibición de 50.1-70% (alta sensibilidad). Para el segundo muestreo realizado en septiembre, la clase predominante fue la 30.1-50% (menor sensibilidad con respecto al muestreo anterior) y para el muestreo de noviembre la clase predominante fue nuevamente 50.1-70% (alta sensibilidad). Aquí se ve un ligero movimiento de las barras en el segundo muestreo (se reduce la sensibilidad) pero las mismas vuelven a su punto de partida en el tercer muestreo.

Este fenómeno se relaciona directamente con los cambios de precipitación de la época. Al aumentar la misma se observa mayor variabilidad con tendencia hacia menor sensibilidad, es decir desplazamiento de las barras hacia las clases de menor reducción del tubo germinativo (en septiembre las mismas aumentan con respecto al mes de junio y disminuyen en noviembre). Para tal caso se consultaron las estaciones meteorológicas del Ingenio Santa Ana de Escuintla y Tiquisate por ser las mas cercanas a los sitios en estudio (ver figura 8).

Al existir abundante humedad, y especialmente agua libre sobre las hojas se favorece el desarrollo de *M. fijiensis*, como consecuencia la expresión de la sensibilidad del hongo al fungicida es mayor, es decir se muestra el todo espectro de sensibilidad del hongo. Se puede observar en la misma figura que la temperatura estuvo entre los rangos óptimos que requiere *M. fijiensis* (28-29 °C) descritos en la sección 3.1.5.6.

Por último, el análisis a 0.1 ppm de propiconazol detectó más estabilidad de las poblaciones del hongo con respecto a las épocas de muestreo (figuras 5-7). La clase de inhibición dominante en las tres épocas fue la > 70% seguido de la clase 50.1-70%, ello indica que la sensibilidad aumenta al aumentar la concentración del fungicida, siendo lógico ya que el valor de la concentración del fungicida que reduce el 50% de la longitud del tubo de las ascoesporas es mas bajo que 0.1 ppm (alrededor de 0.01 ppm) tal y como se observó en los apartados

Clase de Inhibicion

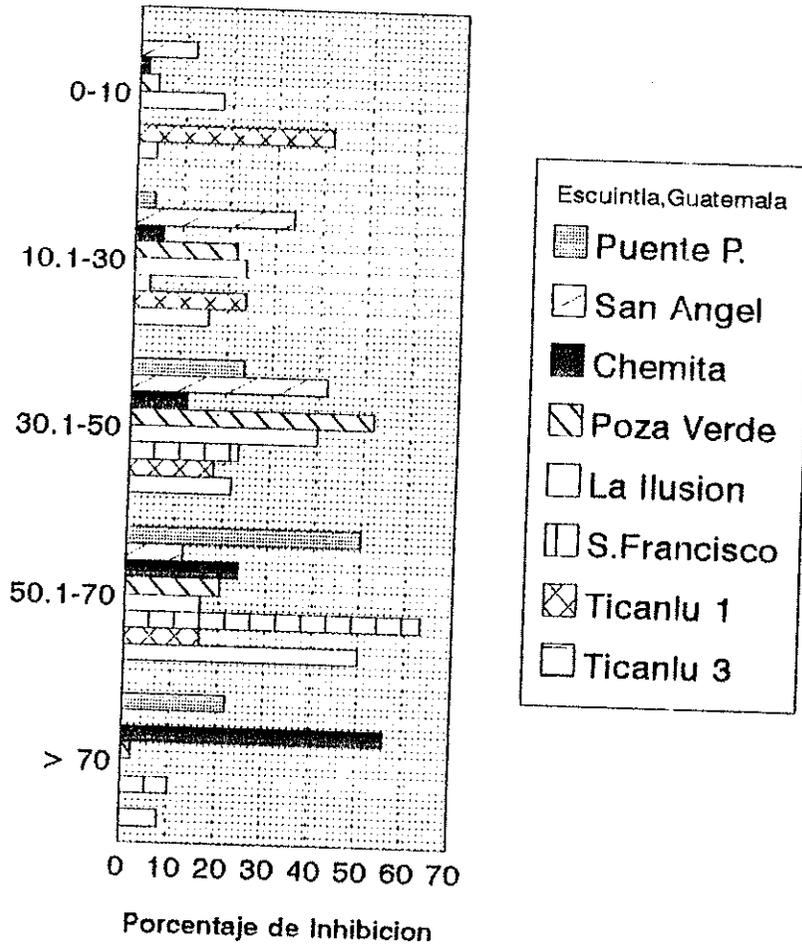


Figura 2. Porcentaje de Inhibicion de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el primer muestreo (julio 1994).

Clase de Inhibicion

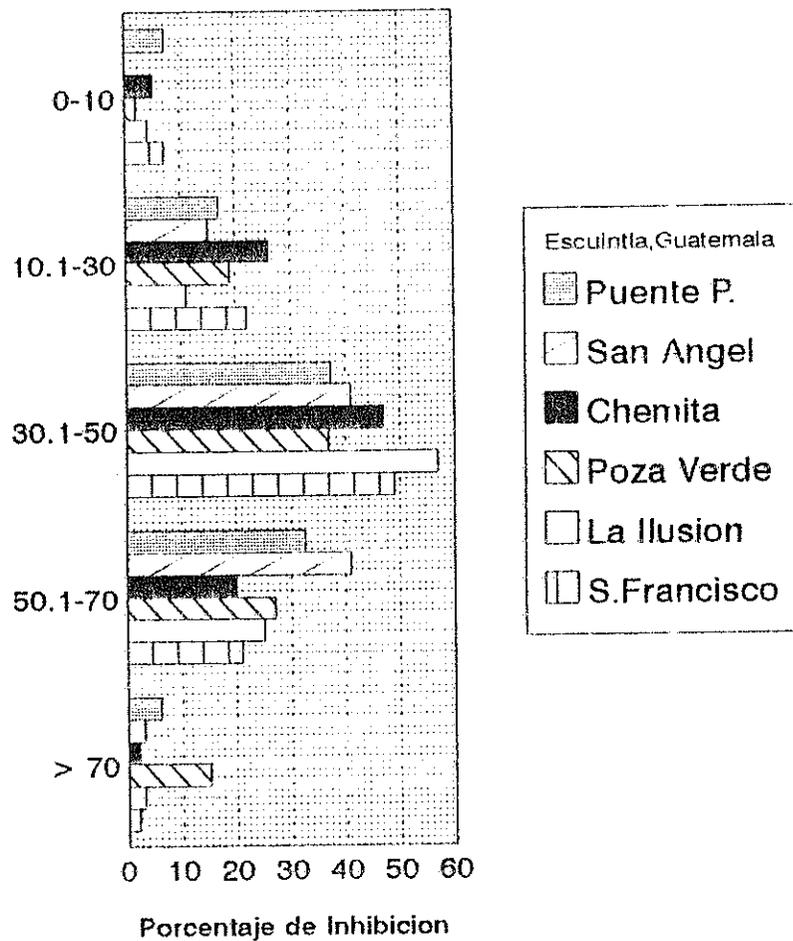


Figura 3. Porcentaje de Inhibicion de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el segundo muestreo (septiembre 1994)

Clase de Inhibicion

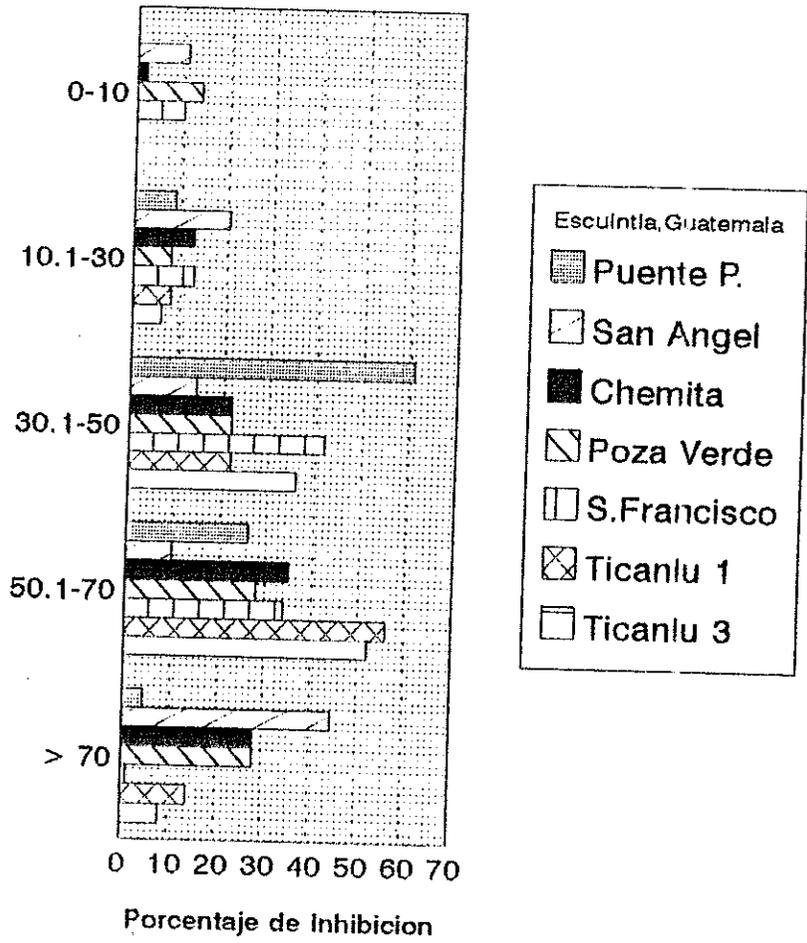


Figura 4. Porcentaje de Inhibicion de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el tercer muestreo (noviembre 1994)

anteriores. Este análisis se incluyó debido a que generalmente se utiliza ésta concentración (0.1 ppm de i.a) en los estudios de sensibilidad en base al Porcentaje de Inhibición ya que poblaciones del hongo sometidas al fungicida poseen menor sensibilidad (las clases de inhibición dominantes son las menores) y al compararlas con poblaciones naturales se logra discriminar de mejor manera la variabilidad de la sensibilidad.

7.3 Comparación entre los valores de sensibilidad obtenidos con los métodos de la Concentración Efectiva 50 y el Porcentaje de Inhibición:

Como se pudo observar a lo largo de la presente discusión, ambos métodos detectan cambios en sensibilidad. El método de la Concentración Efectiva 50 es mas general y determina un valor exacto de la concentración del fungicida que reduce el 50% de la longitud del tubo de la espora del hongo, tanto de manera matemática como de manera gráfica.

El porcentaje de Inhibición refleja la situación en forma más puntual porque considera unicamente una concentración, aunque muestra el comportamiento de una parte de la población de esporas.

De todas formas, ambos métodos resultan útiles en cualquier estudio de ésta índole, permitiendo conocer de una mejor forma la sensibilidad que presente un determinado hongo hacia algún fungicida perteneciente a los inhibidores de la síntesis del ergosterol.

Clase de Inhibición

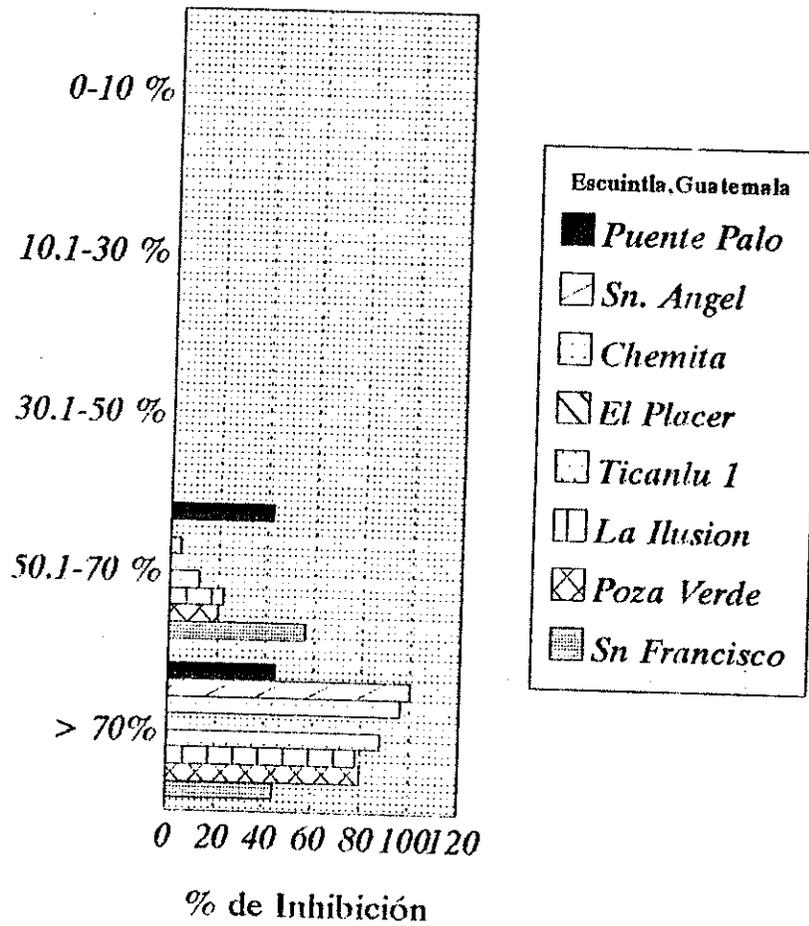


Figura 5. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el primer muestreo (julio 1994)

Clase de Inhibición

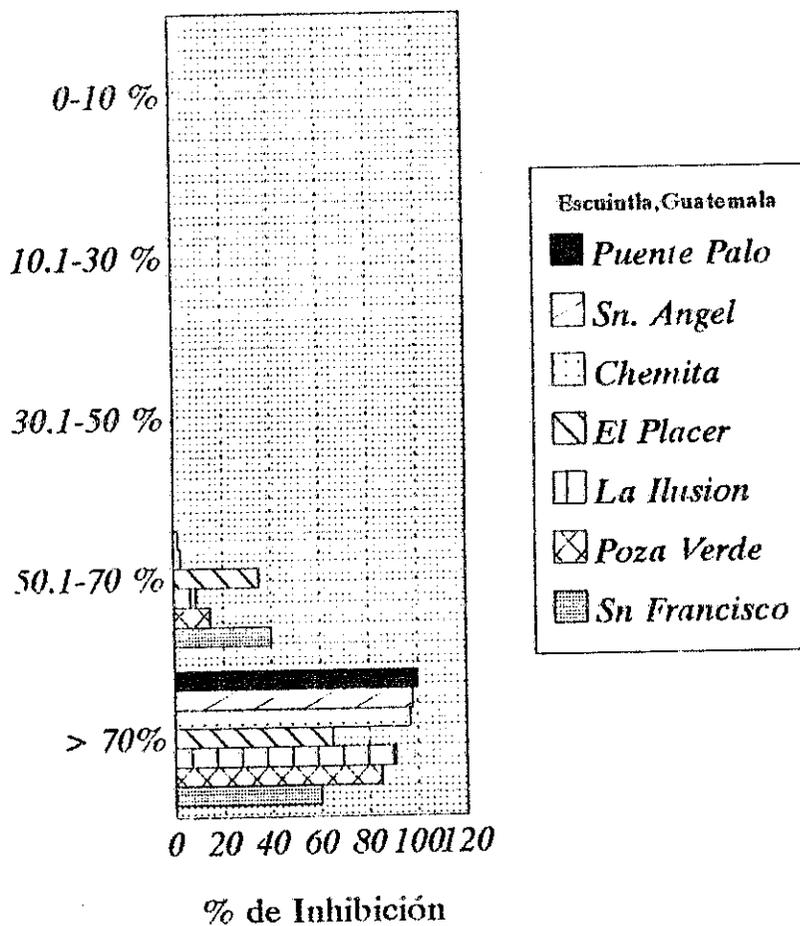


Figura 6. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el segundo muestreo (septiembre 1994)

Clase de Inhibición

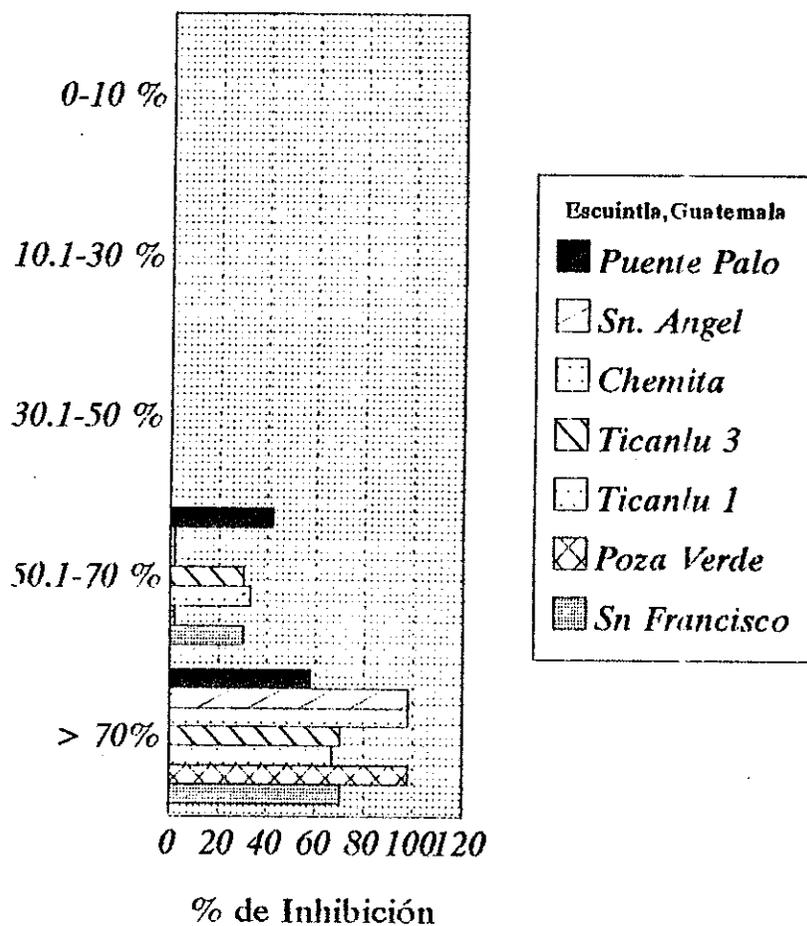


Figura 7. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.1 ppm de PPZ para los sitios en estudio en el tercer muestreo (noviembre 1994)

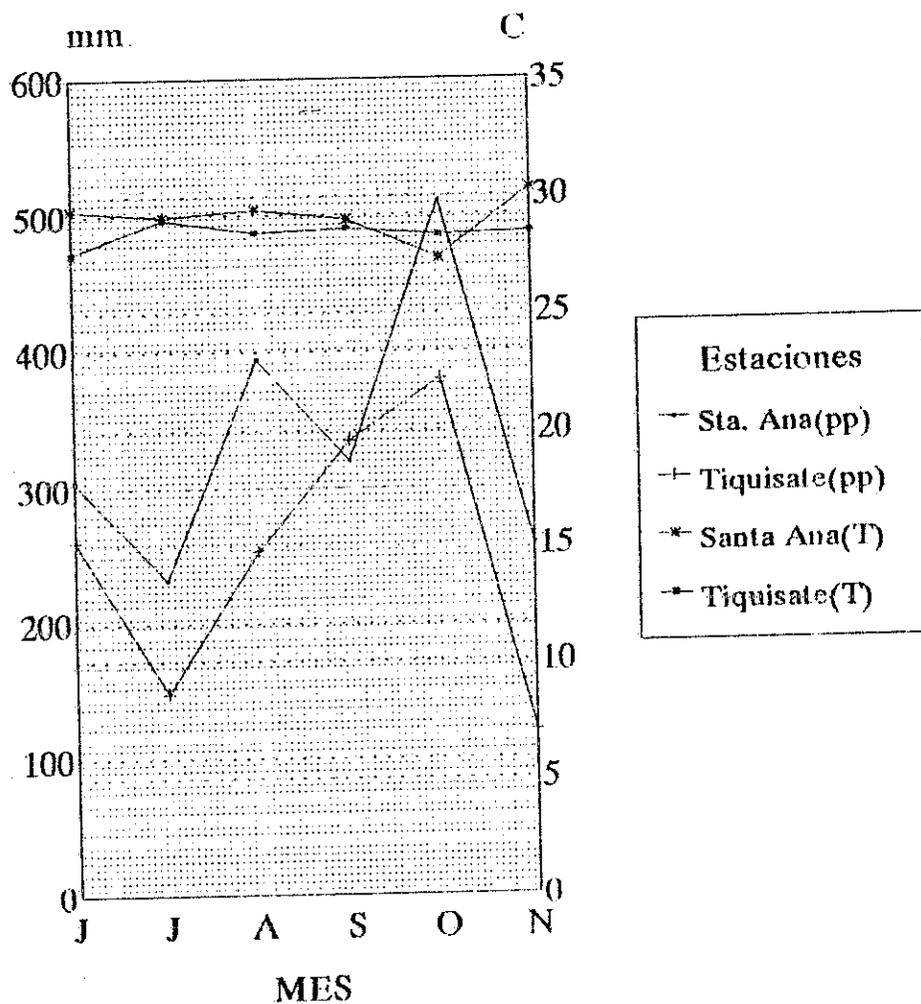


Figura 8. Precipitacion y temperatura ocurridas en 1994 para el periodo de lluvias en las Estaciones del Ingenio Santa Ana y Tiquisate (FUENTE:Ing.Santa Ana e INSIVUMEH)

B. CONCLUSIONES:

1. El rango de concentraciones de propiconazol que reducen el 50% de la longitud de los tubos germinativos de *Mycosphaerella fijiensis* y que se consideraron como el parámetro básico para medir la sensibilidad original del hongo, osciló entre 0.005 y 0.07 ppm de propiconazol; los mismos son considerados como la Línea Base.
2. En general, la sensibilidad de las poblaciones naturales de *M. fijiensis* al fungicida propiconazol, se mantuvo estable, estadísticamente sin variación, en los diferentes sitios evaluados del departamento de Escuintla, tal y como lo demostraron los valores de Concentración Efectiva 50 (EC 50) de los tres muestreos realizados en 1994.
3. Las poblaciones naturales de *M. fijiensis* sometidas a evaluación, presentan una sensibilidad estadísticamente similar tanto en plantas de banano como de plátano.
4. El método del Porcentaje de Inhibición a 0.01 ppm de propiconazol detectó variabilidad de la sensibilidad de *M. fijiensis* en los diferentes sitios durante las épocas de muestreo. Esta variación fue mayor en los meses de mayor precipitación.

9. RECOMENDACIONES

1. Utilizar la Línea Base establecida en la presente investigación para comparar la sensibilidad de poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* sometidas a la constante presión del propiconazol en las plantaciones comerciales de banano.
2. Implementar el uso de los intervalos de confianza en los estudio de sensibilidad, ya que los mismos facilitan la interpretación de resultados. Para tal caso, es necesario utilizar el método de EC 50 por regresión, siempre y cuando los mismos cumplan con el principio de normalidad.

10. BIBLIOGRAFIA:

1. AGRIOS, G.N. 1991. Fitopatología. Trad. por Manuel Guzmán Ortiz. México D.F., Limusa. 530 p.
2. BUSTAMANTE, M. ; LOPEZ, S. 1982. La sigatoka negra del plátano (Musa AAA y AAB) y su impacto económico en Centroamérica y Sureste de México. México, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 53 p.
3. CIBA GEIGY (GUA). 1987. Control de sigatoka en Panamá; identificación de Tilt. Guatemala. 8 p.
4. CRUZ S., J.R DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
5. CHIBARRRO, A. 1986. La actividad bananera y los mercados no tradicionales; experiencia latinoamericana en la expansión de las exportaciones bananeras. Panamá, Unión de Países Exportadores de Banano. 391 p.
6. DE WAARD, M.A. 1986. Fungicide wich inhibit sterol biosynthesis. 1- Introduction and overview of laboratory studies. In International Workshop in Fungicide Resistance in Crop Protection for Latin America. San José, C.R., Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 7 p.
7. DELP, J.C. 1992. Fungicide resistance in Noth America. Eds. Bryan R. Delp, Thomas M. Fort. Washington, EE.UU., Associate Subjet Matter. 153 p.
8. _____; DEKKER, J. 1985. Fungicide resistance: definitions and use of terms. EPPO Bulletin (U.K.) 15(3):333-335.
9. DRAPER, N.R. ; SMITH, H. 1981. Applied regression analysis. 2 ed. Chicago, EE.UU., Library of Congress in Publication Data. p 223-250.
10. DUFONT (GUA). 1988. Sigatoka negra y amarilla, técnicas mejoradas para manejo e identificación. Guatemala. 8 p.
11. _____. 1992. Mode of action of benzimidazole and ergosterol biosynthesis inhibiting fungicides. Guatemala. 36 p.

12. FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE (FRANCIA). 1991. FRAC methods for monitoring fungicide resistance. Bulletin EPPO (FRANCIA) 21:291-360.
13. GAROZ VALENZUELA, C.F. 1992. Las exportaciones de banano guatemalteco en el mercado mundial: tendencias (1962-1988) y perspectivas. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 84 p.
14. GONZALEZ, L. 1987. Enfermedades del cultivo del banano. San José, C.R., Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 98 p.
15. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1983. Mapa climatológico de Guatemala, según el sistema Thornwaite, hoja no. 2261 I. Guatemala. Esc. 1:50,000. Color.
16. GUATEMALA HA exportado US\$ 360 millones más comparado con 1993. 1994. Prensa Libre, Guatemala (Guatemala); Nov. 18:65.
17. GUTIERREZ, A. 1991. Método de monitoreo de sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* para fungicidas DMI (tilt). Guatemala, Ciba Geigy. 2 p. (Correspondencia personal).
18. ————. 1993. Análisis de los datos de monitoreo; cálculo de la concentración efectiva 50 (EC 50). Guatemala, Ciba Geigy. 1 p. (Correspondencia personal).
19. JONES JUNIOR, S. 1987. Sistemática vegetal. Trad. por María de Lourdes Hueca Tapia. 2 ed. México, D.F., McGraw-Hill. 536 p.
20. KLEINBAUM, D.G ; KUPPER, L.L. 1978. Applied regression analysis and other multivariable methods. Delaware, EE.UU., Duxbury Press. 877 p.
21. MANCILLA RUANO, R.E. 1994. Evaluación de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a propiconazol, bajo diferentes condiciones de presión de la enfermedad, en la zona bananera del atlántico de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de Guatemala, Facultad de Agronomía. 68 p.
22. MARTINEZ, A. ; CASTILLO, A. 1987. Teoría de la regresión: con aplicaciones agronómicas. Chapingo, México, Colegio de Post Graduados. 675 p.

23. MOURICHON, X. ; FULLERTON, R.A. 1990. Geographical distribution of *Mycosphaerella musicola* (*Cercospora musae*) and *Mycosphaerella fijiensis* (*Cercospora fijiensis*), respectively agents of Sigatoka disease and black leaf streak disease in bananas and plantains. *Fruits* (FRANCIA) 45(3): 213-218.
24. MULDER, J.J. ; STOVER, R.H. 1976. *Mycosphaerella* species causing banana leaf spot. *Transaction British*. 67(1):77-90.
25. PONS, N. 1990. Taxonomy of *Cercospora* and related genera. In *Sigatoka leaf spot diseases of bananas: Proceedings of an international workshop (1989, San José, C.R.)*. Eds. R.A. Fullerton y R.H. Stover, Montpellier. San José, C.R., INIBAP. p. 350-370.
26. PRODUCTOS TRADICIONALES dejan US\$ 573.9 millones. 1994. *Prensa Libre Guatemala* (GUATEMALA); Agos 4:72
27. SIMMONS, CH ; TARANO, J.M. ; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1000 p.
28. SOTO, M. 1985. Bananos: cultivo y comercialización. San José, C.R., Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 627 p.
29. STOVER, R. 1987. Sigatoka leaf spot of banana and plantains. *Plant Disease* 64(8): 750.
30. TAPIA, A. 1993. Distribución altitudinal de la sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola*) y la sigatoka negra (*M. fijiensis*) en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Costa Rica, Universidad Rodrigo Facio de Costa Rica. Programa de Post Grado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales Renovables. 75 p.
31. WALPOLE, R.E. ; MYERS, R.H. 1986. Probabilidad y estadística para ingenieros. Trad. por Alfredo Díaz Mata. 3 ed. México, D.F., McGraw-Hill. 733 p.
32. WILLIAMS, C.W. 1989. Determinación de la sensibilidad de *Mycosphaerella fijiensis* a fungicidas inhibidores de la síntesis del ergosterol (ISE) utilizando ascosporas y zoosporas. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Programa de Post Grado en Información Agrícola. 114 p.

P. Aguilar



11. A P E N D I C E

Clase de Inhibicion

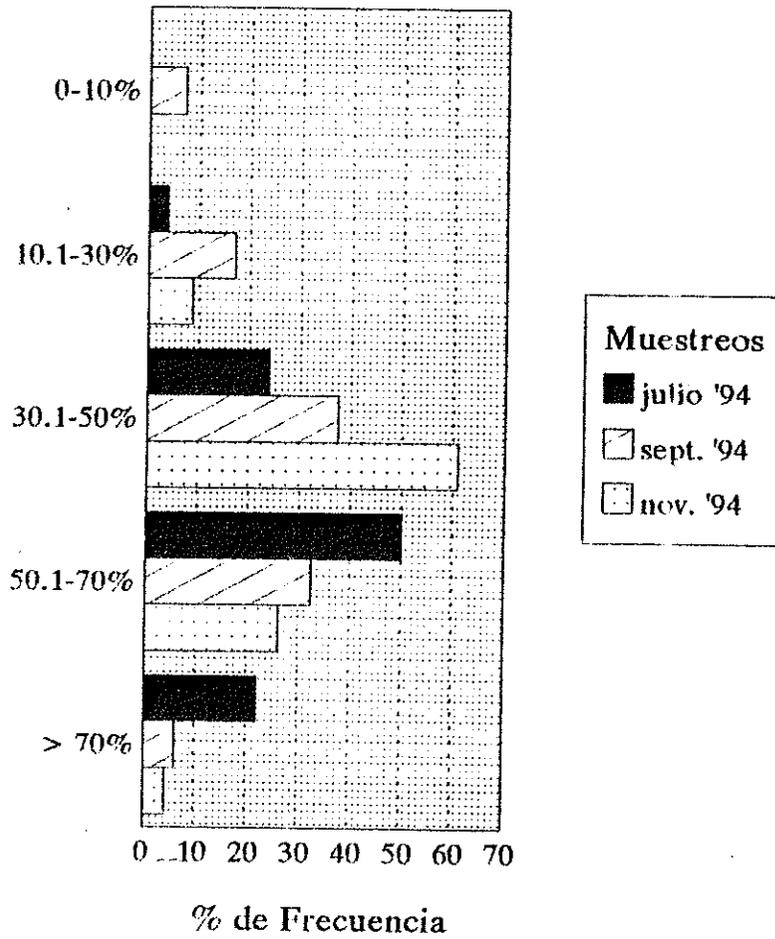


Figura 9A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para las épocas de muestreo realizada en Puente Palo, Escuintla, Guatemala

Clase de Inhibicion

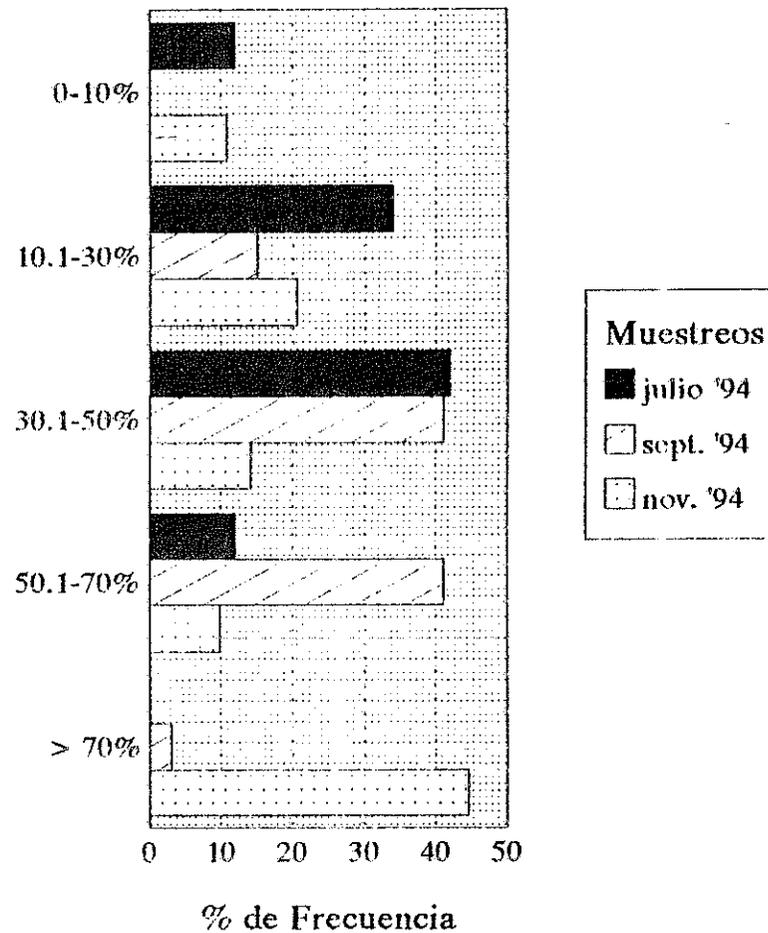


Figura 10A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para las épocas de muestreo realizadas en San Angel, Escuintla, Guatemala

Clase de Inhibicion

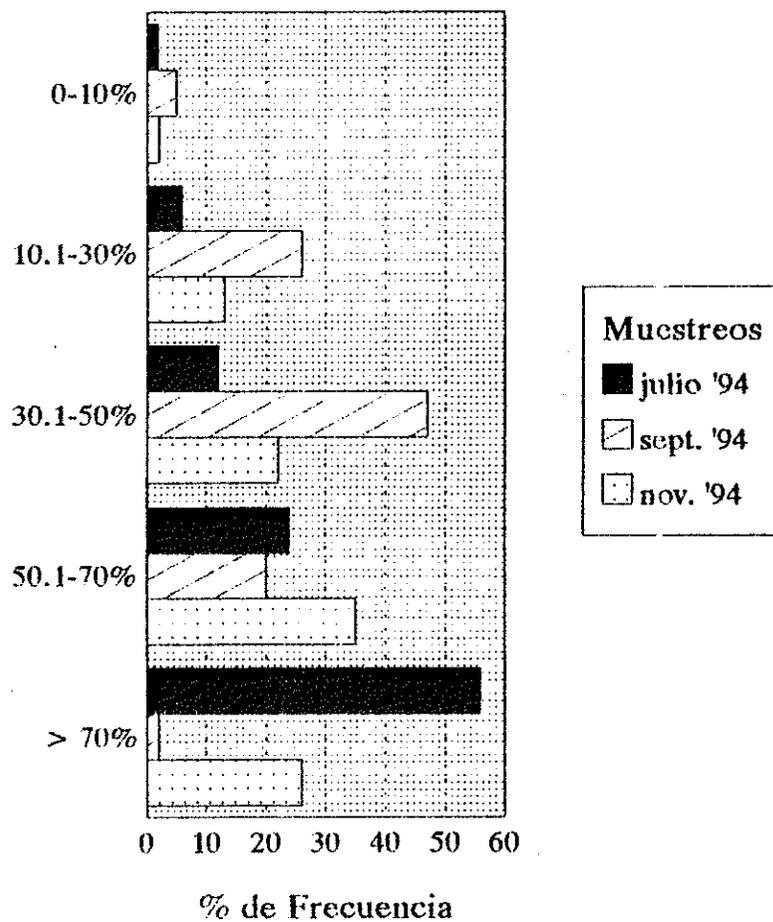


Figura 11A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para las épocas de muestreo realizadas en Chemitá, Cuyutá, Guatemala.

Clase de Inhibición

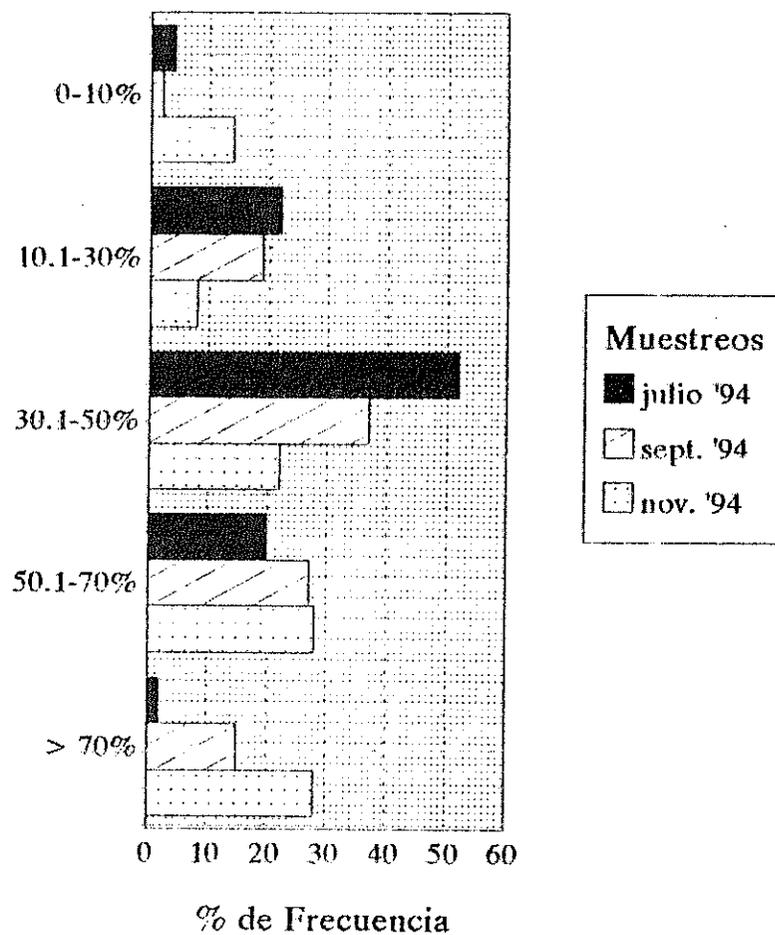


Figura 12A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para las épocas de muestreo realizadas en Poza Verde, Nueva Concepción.

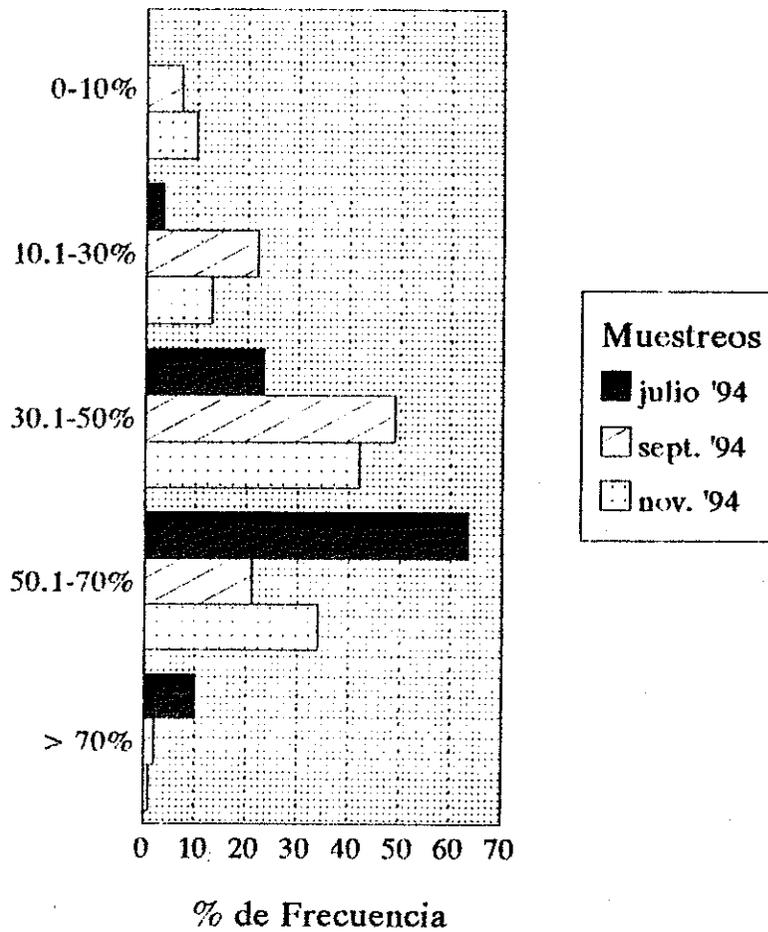


Figura 13A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para las épocas de muestreo realizadas en San Francisco, Nueva Concepción.

Clase de Inhibición

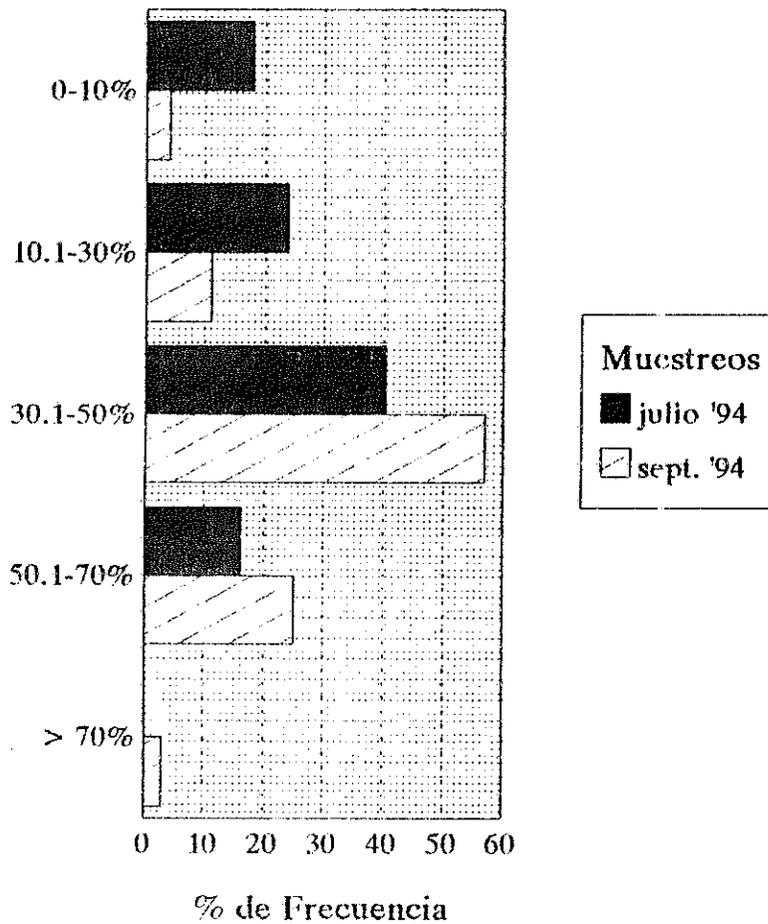


Figura 14A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizadas en La Ilusión, Nueva Concepción.

Clase de Inhibición

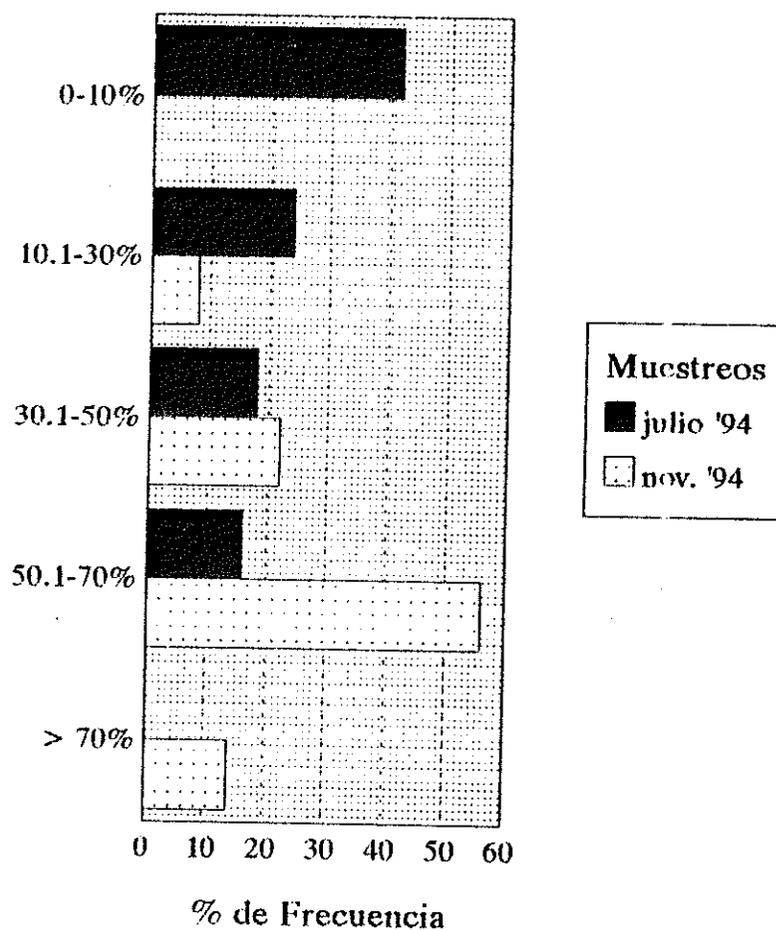


Figura 15A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizadas en Ticanlú 1, El Semillero.

Clase de Inhibición

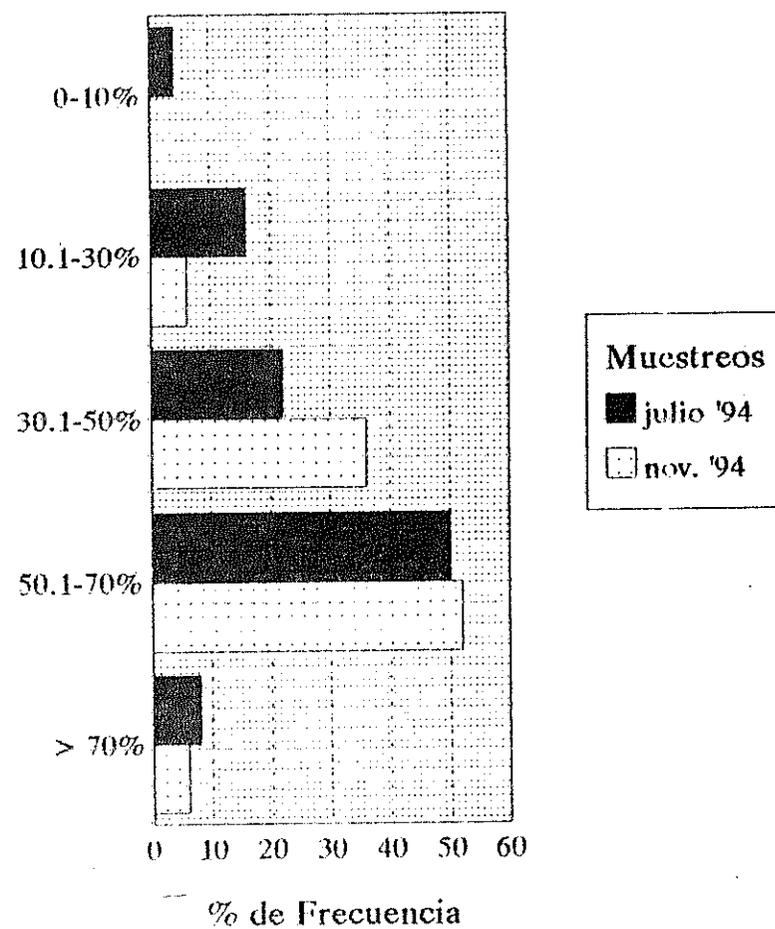


Figura 16A. Porcentaje de Inhibición de tubo germinativo de ascosporas de *M. fijiensis* a 0.01 ppm de PPZ para dos épocas de muestreo realizadas en Ticanlú 3, El Semillero.

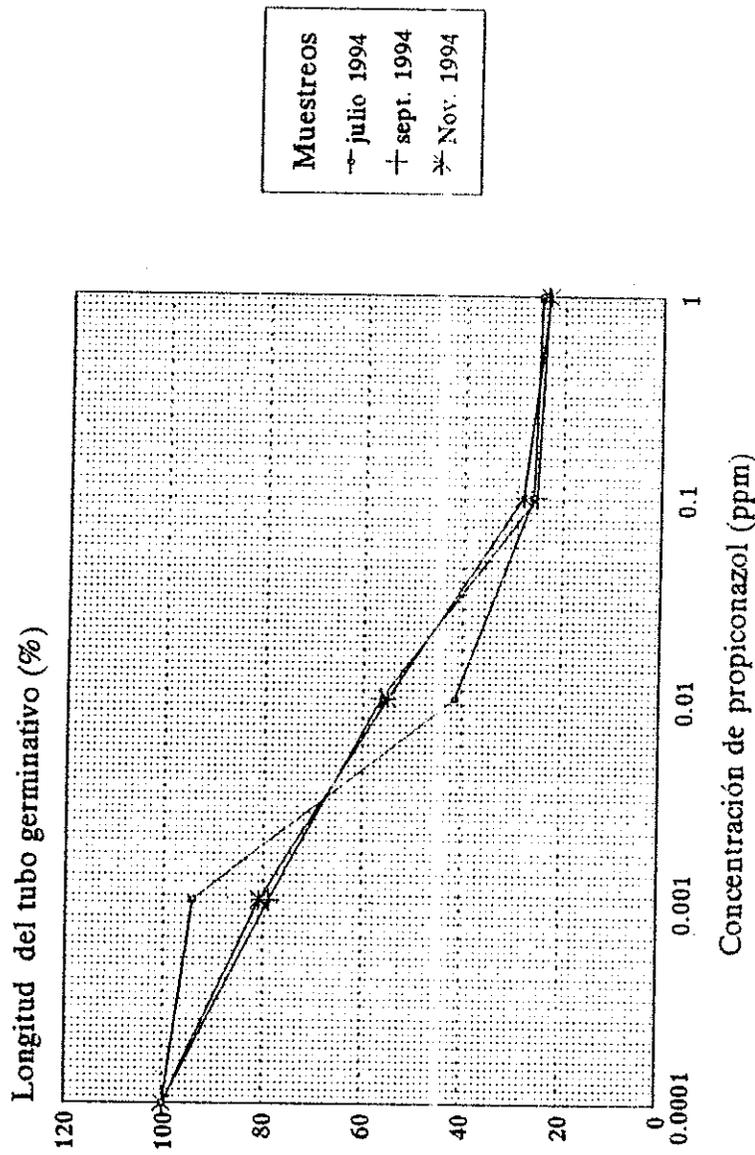


Figura 17A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de M. fijiensis a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Puente Palo, Escuintla.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

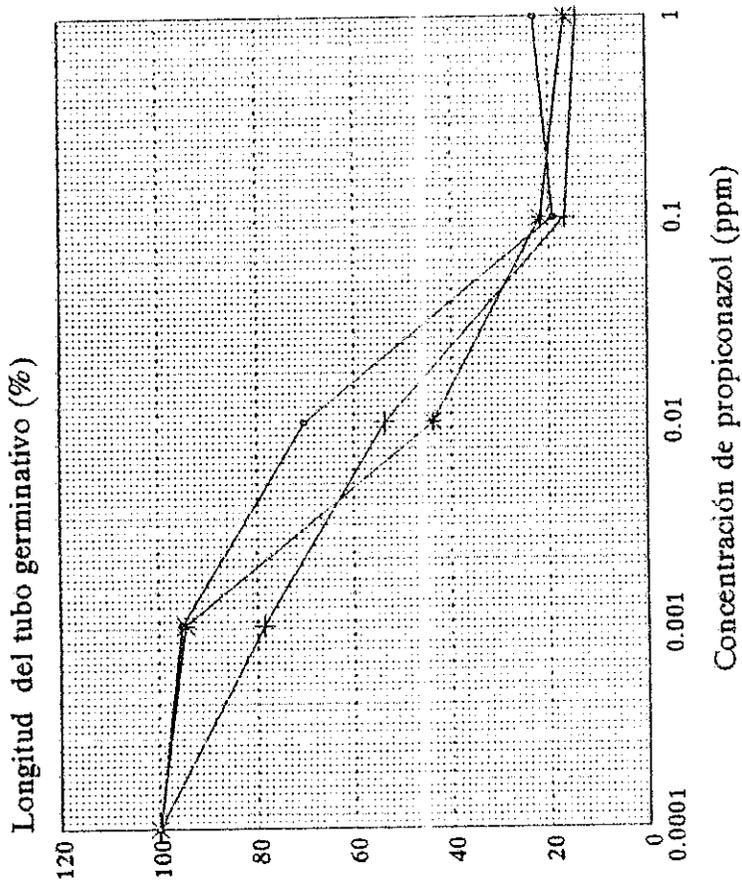


Figura 18A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio San Angel, Masagua, Escuintla.

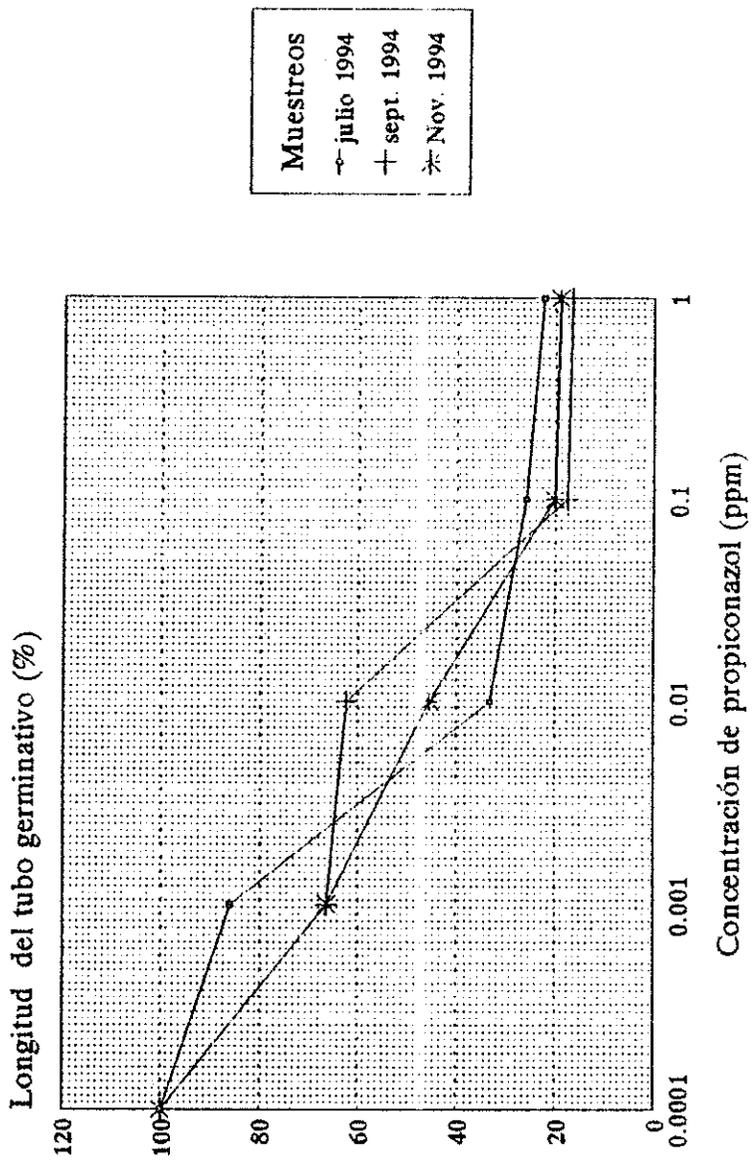


Figura 19A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Chemita, Cuyuta, Escuintla.

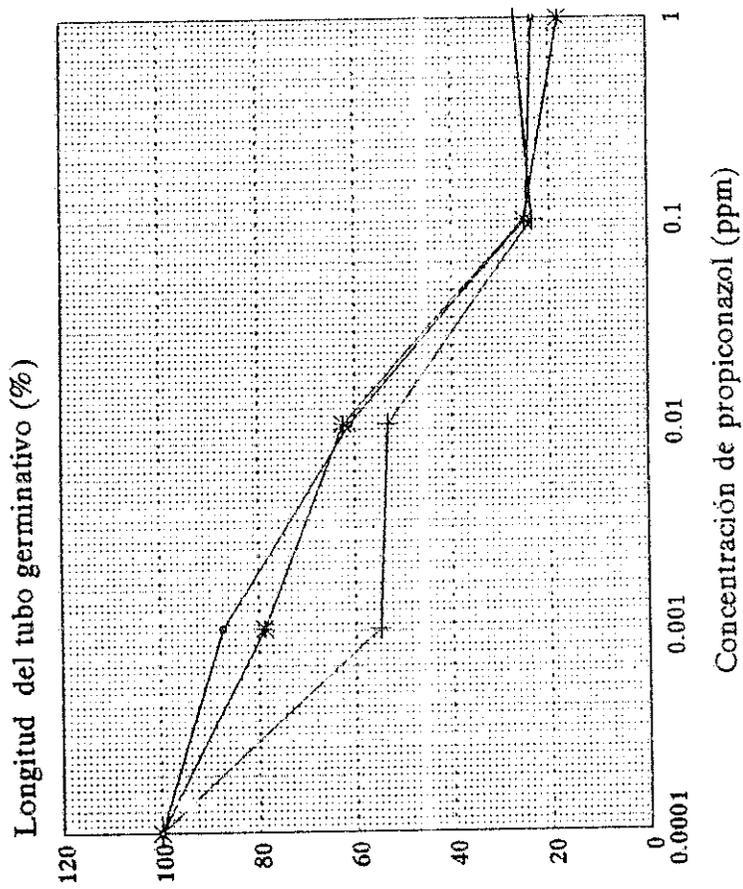


Figura 20A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de M. fijiensis a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Poza Verde, Nueva Concepción, Escuintla.

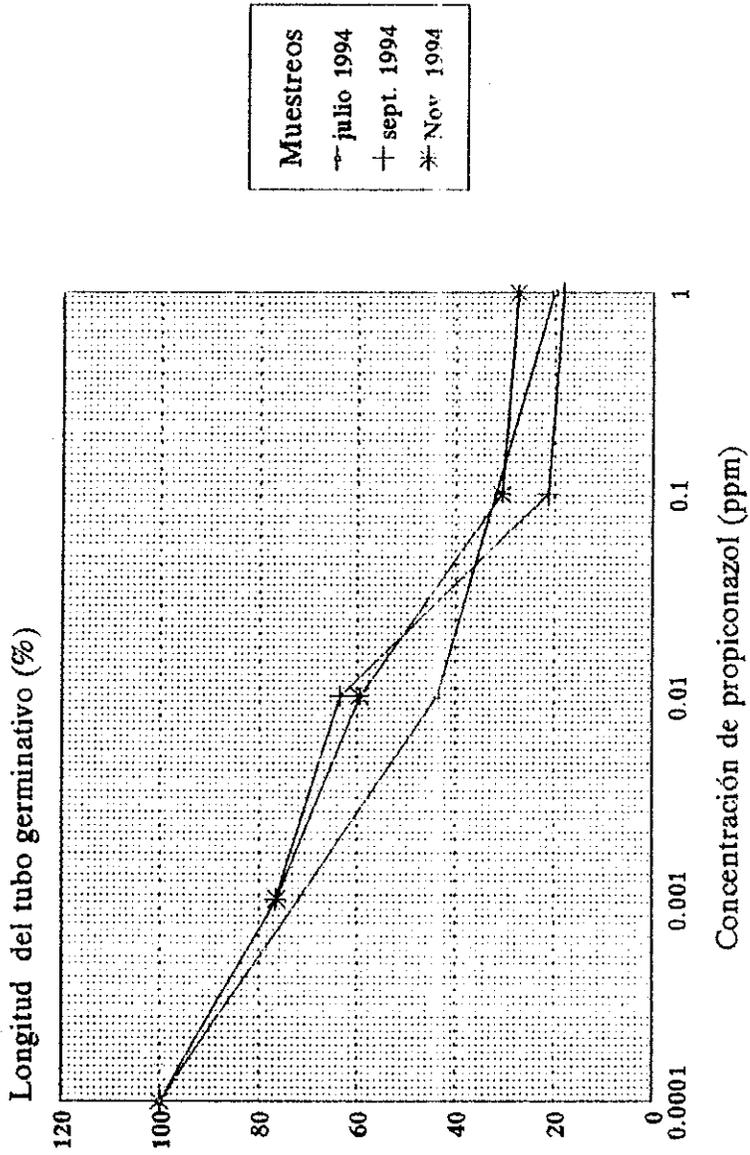


Figura 21A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de *M. fijiensis* a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio San Francisco, Nueva Concepción, Escuintla.

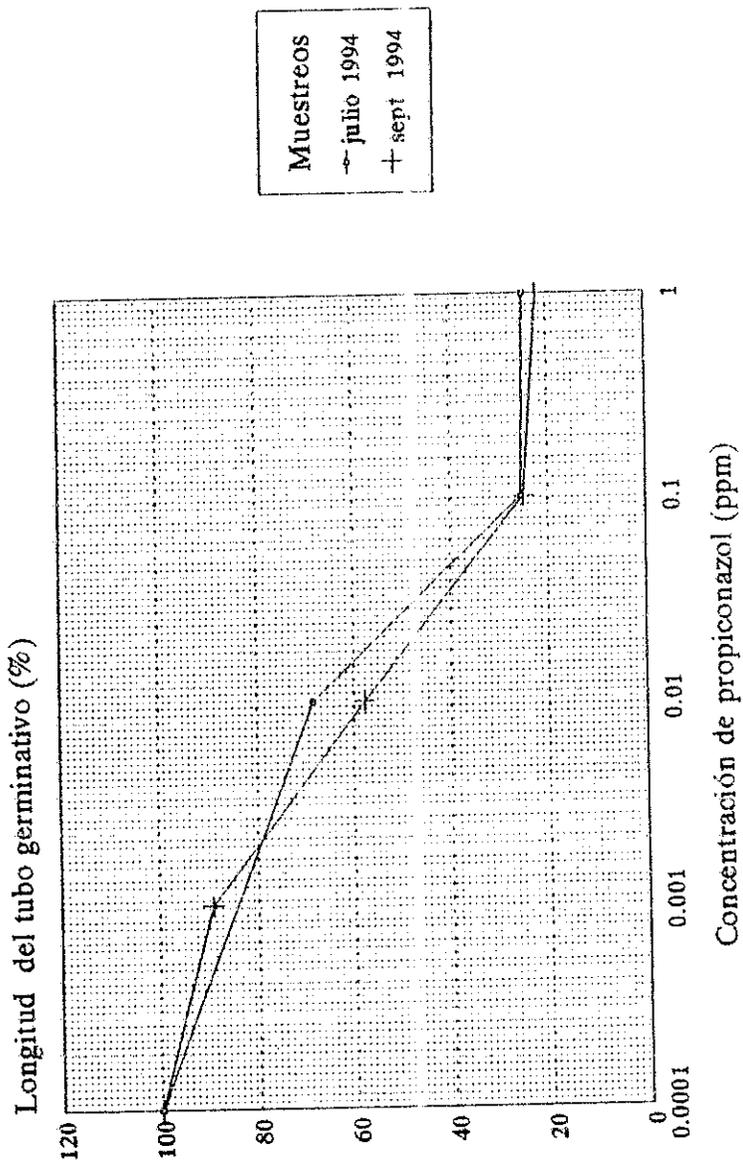


Figura 22A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de M. fijiensis a PPZ en dos épocas de muestreo en el sitio La Ilusión, Nueva Concepción, Escuintla.

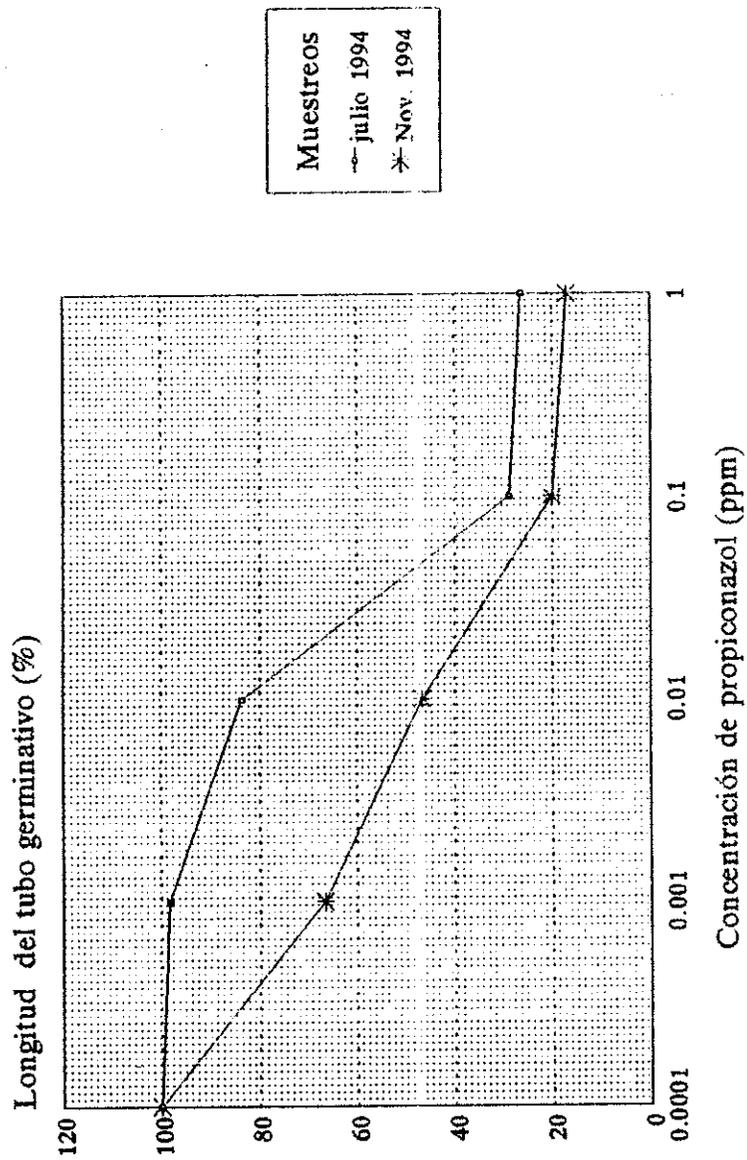


Figura 23A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de M. fijiensis a PPZ en dos épocas de muestreo en el sitio Ticanlú 1, El Semillero, Escuintla.

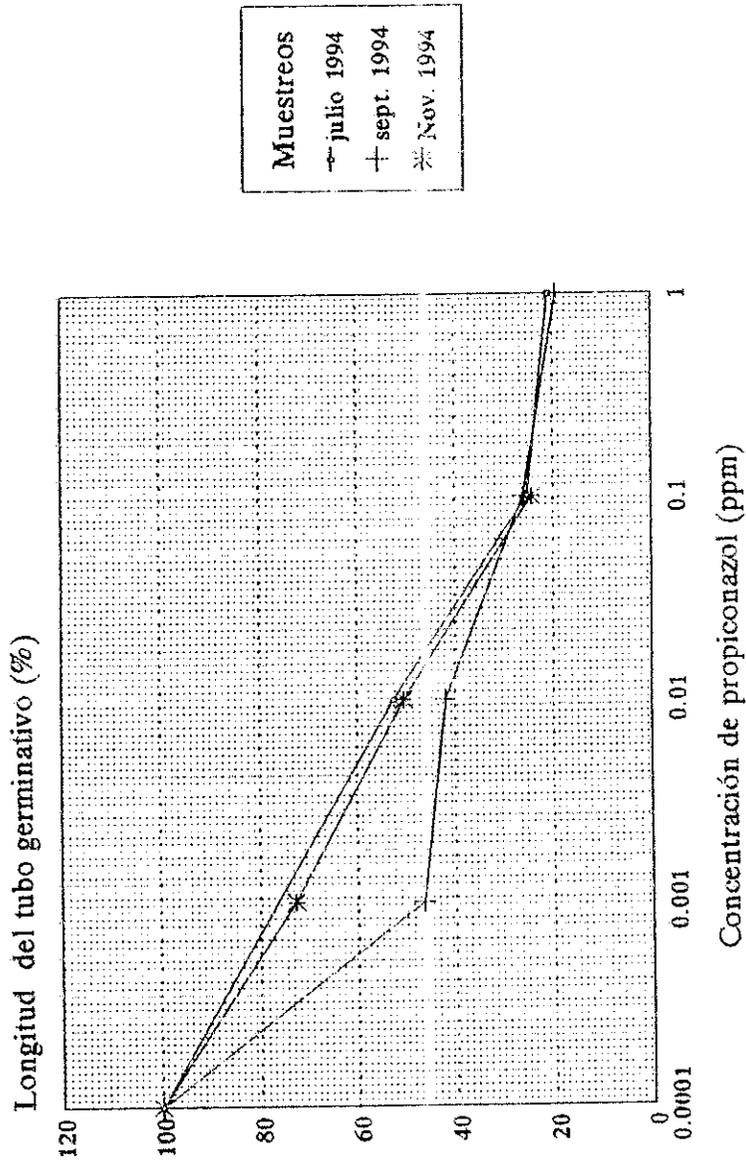


Figura 24A. Porcentaje de longitud relativo de ascosporas de M. fijiensis a PPZ en tres épocas de muestreo en el sitio Ticanlu 3, El Semillero, Tiquisate.

Cuadro 13. Valores de longitud y porcentaje de reducción de tubos germinativos de ascosporas de *M. Fijiensis* a propiconazol en los sitios de muestreo del departamento de Escuintla en las tres épocas.

Puente Palo Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	
	0	265.43	0	186.78	0	287.84
0.0001	253.89	4.34	147.37	21.01	247.2	13.93
0.001	250	5.81	147.16	21.21	232.42	19.25
0.01	110.07	58.5	105.26	43.64	128.62	44.89
0.1	69.31	73.8	47.51	74.56	80.85	71.91
1	65.81	75.2	43.91	76.49	66.77	76.80
San Angel Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	
0	270.69	0	311.8	0	271.24	0
0.0001	SD	SD	267.11	14.33	244.86	12.93
0.001	257.89	4.72	244.54	21.57	SD	SD
0.01	189.91	29.8	167.75	46.19	123.18	56.20
0.1	52.22	80.7	52.55	83.14	61.54	78.11
1	62.3	76.9	44.26	85.80	46.85	83.34
Chemita Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	
0	261.13	0	276.18	0	272.41	0
0.0001	221.6	15.13	SD	SD	SD	SD
0.001	224.52	14.02	183.14	33.68	180.81	33.62
0.01	86.99	66.68	171.97	37.73	123.93	54.50
0.1	68.06	73.93	48.83	82.31	55.28	79.70
1	58.82	77.47	46.12	83.29	52.08	80.87
Poza Verde Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)		Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	
0	236.6	0	272.39	0	255.82	0
0.0001	207.92	12.12	263.11	3.4	196.11	23.33
0.001	206.46	12.73	149.44	45.13	201.98	21.39
0.01	144.58	38.89	144.8	46.84	159.6	37.61
0.1	58.67	75.2	64.26	76.41	64.6	74.74
1	55.47	76.55	65.26	76.04	46.51	81.81

Continuación Cuadro 13.

Sn. Francisco Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)	0	221.02	0	266.89	0	248.81	0
		0.0001	189.72	14.16	228.91	14.23	185.5	25.44
		0.001	SD	SD	204.35	23.43	189.92	23.66
		0.01	96.824	56.19	169.54	36.47	147.82	40.59
La Ilusión Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)	0.1	SD	SD	56.83	78.70	75.56	69.22
		1	44.55	79.842	48.98	81.64	68.40	72.50
		0	230.99	0	226.84	0	SD	SD
		0.0001	188.26	18.5	SD	SD	SD	SD
Ticanlu 1 Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)	0.001	SD	SD	202.06	10.92	SD	SD
		0.01	157.83	31.67	130.97	42.26	SD	SD
		0.1	58.96	74.47	56.83	74.94	SD	SD
		1	57.51	75.10	50.33	77.80	SD	SD
Ticanlu 3 Conc. ppm	Muestreo 1 Longitud & Reducción (micras)	0	172.11	0	SD	SD	323.75	0
		0.0001	SD	SD	SD	SD	250.72	22.55
		0.001	169.11	1.73	SD	SD	215.42	33.45
		0.01	143.85	16.41	SD	SD	151.23	53.29
Ticanlu 3 Conc. ppm	Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)	0.1	49.795	71.06	SD	SD	65.68	79.71
		1	45.573	73.51	SD	SD	55.48	82.86
		0	247.59	0	SD	SD	273.22	0
		0.0001	215.56	12.93	SD	SD	179.76	34.20
Ticanlu 3 Conc. ppm	Muestreo 2 Longitud & Reducción (micras)	0.001	SD	SD	SD	SD	198.42	27.37
		0.01	130.24	47.389	SD	SD	137.97	49.50
		0.1	62.899	74.59	SD	SD	66.84	75.53
		1	51.979	79.00	SD	SD	SD	SD
Ticanlu 3 Conc. ppm	Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	0	247.59	0	SD	SD	273.22	0
		0.0001	215.56	12.93	SD	SD	179.76	34.20
		0.001	SD	SD	SD	SD	198.42	27.37
		0.01	130.24	47.389	SD	SD	137.97	49.50
Ticanlu 3 Conc. ppm	Muestreo 3 Longitud & Reducción (micras)	0.1	62.899	74.59	SD	SD	66.84	75.53
		1	51.979	79.00	SD	SD	SD	SD

Cuadro 14. Valores de F calculada provenientes del Análisis de Varianza y su respectiva significancia para cada sitio de muestreo y para las tres épocas.

No.	Nombre Sitio	Localidad	1er Muestreo		2do Muestreo		3er Muestreo	
			F cal	Signif	F calc	Signif	F calc	Signif
1.	Puente Palo (B)	Escuintla	16.13	0.027	28.88	0.012	52.87	0.005
1.	Puente Palo (P)	Escuintla	SD	SD	18.52	0.018	SD	SD
2.	San Angel (B)	Masagua	13.49	0.066	50.60	0.005	19.50	0.021
3.	Chemita (P)	Cuyuta	14.45	0.0319	11.56	0.070	20.31	0.045
4.	El Placer (B)	Nva. Concep.	SD	SD	137.59	0.0013	SD	SD
5.	Poza Verde (P)	Nva. Concep.	28.28	0.013	20.21	0.018	27.77	0.017
6.	Sn. Francisco (P)	Nva. Concep.	35.48	0.105	65.83	0.004	24.29	0.018
7.	La Ilusión (P)	Nva. Concep.	20.62	0.045	21.855	0.042	SD	SD
8.	Ticanlú 1 (P)	El Semillero	15.77	0.057	SD	SD	69.51	0.003
9.	Ticanlú 3 (P)	El Semillero	57.02	0.017	SD	SD	7.08	0.117



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

Ref. Sem.075-95

LA TESIS TITULADA: "DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD DE POBLACIONES NATURALES DE Mycosphaerella fijiensis A PROPICONAZOL EN PLANTACIONES DE Musa sp. DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: ESDRAS JACOBO MENDOZA LACAYO

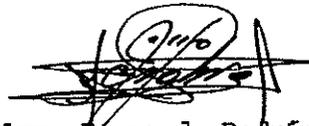
CARNET No: 9014360

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Gustavo Alvarez
 Ing. Agr. Miguel Angel Morales
 Ing. Agr. Víctor Alvarez Cajas

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas universitarias y reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

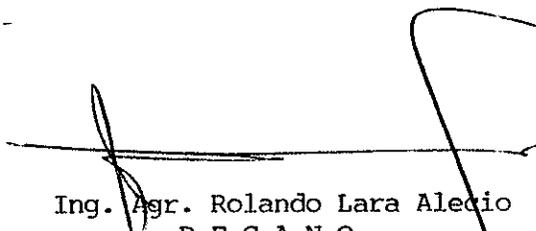

 Ing. Agr. MSc. Amílcar Gutiérrez
 ASESOR


 Ing. Agr. MSc. Edil Rodríguez
 ASESOR


 Ing. Agr. Fernando Rodríguez E.
 DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E


 Ing. Agr. Rolando Lara Alecio
 DECANO



:Control Académico
 Archivo
 FR/prr.

APARTADO POSTAL 1545 • 01091 GUATEMALA, C. A.

TELEFONO: 769794 • FAX: (5022) 769770