

## 1. INTRODUCCION

En Guatemala el cultivo del banano es de importancia económica, se cultiva a escala comercial, ocupando el tercer lugar dentro de los productos de exportación; generando un alto ingreso de divisas al país, además de ser una fuente de empleo en el sector rural.

Dentro de los factores limitantes de la producción, las plantaciones de banano enfrentan el problema de la sigatoka negra, causada por el agente *Mycosphaerella fijiensis* var diformis. Esta enfermedad afecta el follaje demeritando la calidad del fruto para su exportación. Según Stover (23), la sigatoka negra puede ocasionar pérdidas del 50 al 100% de la producción en plantaciones de banano, debido a la velocidad de reproducción del hongo cuando las condiciones atmosféricas le son propicias.

En la actualidad, en la región norte del país se utilizan fungicidas de contacto en la época de verano y sistémicos como los triazoles y las estrobilurinas, en la época de invierno, todos estos productos se aplican sobre el cultivo en sus dosis comerciales para controlar de mejor forma esta enfermedad.

La investigación es de utilidad en el manejo de los programas de control de sigatoka en el cultivo de banano, ya que al establecerse las características del movimiento xilemático y difusión hacia la superficie foliar de cada uno los ingredientes activos azoxistrobina y bitertanol; existe una mejor eficiencia en los productos, por su traslocación en micras y su efecto en la germinación de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis*.

Se evaluaron a intervalos de 3, 6 y 9 días después de aplicados determinando el movimiento xilemático y difusión hacia la superficie foliar en áreas adyacentes no tratadas y su efecto sobre la germinación de ascosporas.

Esta metodología se dividió en fase de campo que comprendió la aplicación de los fungicidas en áreas previamente definidas en la hoja más joven del cultivo del banano, hoja

número 1, a través del método test de una sola hoja (SLT) y la fase de laboratorio que comprendió la descarga de ascosporas sobre el tejido, tanto en el área aplicada como en el área inmediata de aplicación para evaluar el distanciamiento y porcentaje de germinación de ascosporas en áreas adyacentes no tratadas.

Dentro de los resultados más importantes se pueden mencionar, que los productos evaluados sólo pueden traslocarse vía xilema. El tratamiento azoxistrobina a los 3, 6 y 9 días se traslocó y afloró a mayores distanciamientos sobre la hoja. El tratamiento bitertanol se movió de manera similar pero su efecto de traslocación y afloración fue menor con respecto al tratamiento de azoxistrobina.

En cuanto a porcentaje de germinación de esporas el tratamiento de azoxistrobina manifestó el menor porcentaje en los tres intervalos evaluados, comparado con bitertanol el cual se observa un mayor porcentaje de germinación.

Por lo que se concluye que azoxistrobina es la molécula que presentará mayores beneficios para el manejo de esta enfermedad, para la zona bajo estudio.

## 2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El cultivo del banano a nivel mundial es afectado por la enfermedad fungosa denominada sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis*, debido a su virulencia, éste patógeno puede ocasionar daños en el cultivo, lo que se considera un factor limitante para la producción. Stover (23) señala que en Centroamérica la Sigatoka Negra es la mayor amenaza para el cultivo de banano. Su combate significa el 27% de los costos de producción de la fruta. En un programa de control de sigatoka conformado por fungicidas protectantes y fungicidas sistémicos en las fincas bananeras se invierten alrededor de 800 dólares por hectárea al año.

Los fungicidas sistémicos, específicamente los inhibidores de la síntesis del Ergosterol (ISE) y los del grupo de las Estrobilurinas que inhiben la respiración mitocondrial, son utilizados para controlar la enfermedad o para mantenerla a niveles en que el daño no sea económicamente importante.

Se han realizado actualmente estudios sobre el movimiento de los dos ingredientes activos a utilizar en la investigación, (azoxistrobina y bitertanol), los cuales reportan que su movimiento es en dirección al xilema, pero se desconoce la distancia que logran moverse y su difusión hacia la superficie foliar para inhibir la germinación de esporas del hongo en zonas inmediatas al punto de aplicación (áreas adyacentes no tratadas). Lo cual es determinante para controlar la enfermedad, ya que al existir un mayor desplazamiento de los fungicidas se logrará una mayor eficiencia de control sobre la inhibición de ascosporas y posteriores reinfecciones del hongo sobre el tejido tratado, en el cultivo del banano.

### 3. MARCO TEORICO

#### 3.1 Marco Conceptual

##### 3.1.1 Sigatoka negra

El nombre de sigatoka proviene de la estación experimental en Fiji, en donde por primera vez, se observa la mancha foliar causada por *Cercospora musae*, que posee un modo de reproducción vegetativa (asexual) y otro sexual mediante ascosporas y espermagonios. En tal caso se llama *Mycosphaerella musicola*. La forma sexual es bastante común; además, en una misma lesión pueden coexistir en el mismo momento ambas formas, sexual y vegetativa (21).

La aparición de *Mycosphaerella fijiensis* o sigatoka negra, especie muy virulenta cuya fase vegetativa se dispersa con el viento, es una etapa más de la evolución de éste género.

*M. fijiensis*, posee dos tipos de esporulación sexual y asexual. Todos sus peritecios aparecen en grandes cantidades sobre la parte superior e inferior de la mancha foliar. Libera mucho más ascosporas (siete mil por pulgada cuadrada) que *M. musicola* (1500/p cuadrada). Por esta razón *M. fijiensis* posee una actividad patógena muy superior a la *M. musicola*. La velocidad de desarrollo de la enfermedad es más rápida (de allí la necesidad de detectarla lo más temprano posible antes de la etapa de pizca) y su espectro de hospedantes sobre cultivares tanto de banano como de plátano es mayor (21).

##### A. Historia, diseminación e impacto

La sigatoka negra *M. fijiensis* se observó por primera vez en 1969, en Guaruma I (Honduras) (12,23).

Durante 1969 a 1973, el avance de la enfermedad fue lento diseminándose a áreas cercanas por medio del aire (12).

Fuera de las fronteras de Honduras, la enfermedad fue detectada en Belice en 1975, Guatemala en 1977, Chinandega (Nicaragua), Santa Clara y Meseta Central (Costa Rica) en 1979, Sudeste de México, Panamá y Colombia en 1981 y en Martinica en 1982 e Isla de Ometepe (Nicaragua) (12,23).

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

"El impacto económico de la enfermedad no sólo afecta al productor, sino también a la economía del país, que deja de percibir divisas por el decremento del volumen de exportaciones de fruta, y por la fuga de divisas debido a la compra de mayores volúmenes de los agroquímicos necesarios para el control de la enfermedad" (12).

Según Stover (23), la sigatoka negra duplica los costos de control debido a la mayor frecuencia de aplicación. Además indica que cerca del 85% de los costos implica los ingredientes aplicados y el resto en maquinaria de aplicación.

Según Molina, citado por Mancilla (19) menciona que el costo del control químico de la enfermedad en banano para exportar en Centro y Sur América es aproximadamente de 100 millones de dólares anuales.

#### B. *Combate químico de las sigatokas*

Rodríguez (21) indica que el desarrollo histórico del combate químico de la sigatoka sucedió en el siguiente orden:

- a) Era del caldo bordelés 1934 - 1958.
- b) Descubrimiento del aceite mineral 1953.
- c) Era de las emulsiones con fungicidas de contacto: Los fungicidas de contacto no entran en los tejidos de las hojas; el depósito fungicida se distribuye uniformemente en la

superficie de las mismas, mediante las gotitas de aspersión y se mantienen sobre ellas formando una especie de capa protectora, de tal forma que la acción del producto se ejerce fuera del tejido del hospedante, evitando que el hongo penetre.

- d) Emulsiones con fungicidas sistémicos, 1970: El tiabendazol, benomyl; fueron los primeros sistémicos usados en contra de la sigatoka, sin causar fitotoxicidad. Son fungicidas que penetran dentro de las hojas y se traslocan en las mismas o hacia otras partes de la planta. Su acción sobre los hongos es muy específica, limitándose generalmente a la inhibición de la síntesis de alguna sustancia esencial en el metabolismo del patógeno. Por tal razón, estos productos pueden ejercer una marcada influencia en el desarrollo del fenómeno de resistencia del microorganismo a tales fungicidas, si se les utiliza en forma prolongada.
- e) Emulsiones con fungicidas sistémicos y de contacto (cocktail) 1979: La mezcla de diferentes tipos de fungicidas en tanques es una respuesta de los investigadores a la aparición de cepas resistentes. La experiencia en el campo mostró que era necesario espaciar las aplicaciones de cocktail con aspersiones de uno de los productos en forma unitaria.
- f) Resistencia a los fungicidas: En el cultivo del banano de exportación, la aparición de cepas resistentes a fungicidas específicos es un fenómeno nuevo. Por primera vez en 1977 se detectó *M. musicola* resistentes al metiltiofanato en Surinam, y al benomyl en Guadalupe en 1981. *M. fijiensis* también mutó hacia una cepa resistente al benomyl y fue reportada en Honduras, Belice y Guatemala. En estas zonas se trataba 20 a 30 veces por año la misma superficie lo que conducía a vertir cerca de 6 kilogramos de materia activa por año y por hectárea para combatir 20 a 30 generaciones de millones de conidias o de ascosporas.

### *C. Síntomas de la enfermedad*

Estadío 1: Corresponde a una pequeña decoloración de aproximadamente 1 mm de largo, de color blanca o amarilla en la fase inicial y visible únicamente en el envés de la hoja. Para observarla, debe exponerse el envés de la hoja a la luz.

Estadío 2: La decoloración se convierte en una estría de 2 a 3 mm de largo, de color rojizo, pudiendo ser ésta observada tanto en el envés como en el haz de la hoja.

Estadío 3: La estría aumenta sus dimensiones, haciéndose más larga y más ancha. Es a partir de éste estadío que aparecen los conidióforos, los cuales dan lugar a la producción de conidias.

Estadío 4: Este se presenta como una mancha oval, que toma una coloración marrón o café oscuro en el envés y negra en el haz de la hoja.

Estadío 5: Se diferencia por ser una mancha totalmente negra elíptica y rodeada por un halo amarillo cuyo centro empieza a deprimirse.

Estadío 6: Finalmente, si el desarrollo de la enfermedad llega a alcanzar éste estadío, el centro de la mancha se seca y llega a ser blanco grisáceo (20).

(Figura 14 A).

### *D. Desarrollo de la Enfermedad:*

- a) Los conidias y ascosporas germinan sobre la hoja en 2 a 3 horas (17).
- b) El tubo germinativo penetra por el estoma entre 48 a 72 horas.
- c) El daño inicialmente visible por el envés de la hoja ocurre de 10 a 12 días después de la infección.
- d) En este estado la pizca alcanza 1 a 3 mm siendo de color café rojizo.
- e) Las lesiones se van alargando paralelas a la venación y cambian a color café oscuro casi negro.
- f) Luego aparece un borde café claro alrededor de la estría claramente visible a trasluz.

- g) Un buen número de lesiones coalescen.
- h) Finalmente aparece una mancha oscura sin zonas amarillas a su contorno.
- i) Con alto inóculo hay gran cantidad de manchas, gran parte del tejido muere y la hoja muere.
- j) No hay un patrón definido de distribución de lesiones en la hoja debido a la cantidad enorme de conidias y ascosporas.
- k) Con abundante inóculo y tiempo húmedo y caluroso se observan estrías y aún manchas en la segunda hoja de planta sin fruta y desde la primera en plantas con racimo.
- l) Las conidias no requieren de lluvia para ser removidos del estroma. Las lesiones jóvenes ya pueden producirlos en gran cantidad.
- m) La producción de ascosporas es predominante en tiempo de lluvias, pueden sobrevivir 4 semanas a la sombra, producirse en hojas separadas de la planta y sobrevivir en los peritecios por 8 semanas.
- n) Las características que hacen más violenta la "sigatoka negra" pueden resumirse en los siguientes puntos:
  - i. Las estrías aparecen 10 a 12 días más temprano que en sigatoka amarilla o común.
  - ii. El período de transición estría-mancha es de 6 a 7 días más temprano que en sigatoka amarilla o común (12 a 50 días).
  - iii. Hay 5 a 6 veces más capacidad de producción de inóculo por unidad de área foliar que en sigatoka amarilla o común.
  - iv. Hay otros factores favorables como el producirse mayor cantidad de estructuras infecciosas en el envés de la hoja (17).

### E. Clasificación Taxonómica

Según Agrios (1), el patógeno *Mycosphaerella fijiensis* tiene la siguiente clasificación:

Reino	Fungi
Phylum	Ascomycota
Clase	Loculoascomycetes
Orden	Dothideales
Familia	Mycosphaerellaceae
Genero	Mycosphaerella
Especie	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>

### F. Tipo de Reproducción

El ciclo de vida (figura 15 A), posee un ciclo de reproducción asexual, que produce las conidias y el sexual que produce ascosporas. El estado imperfecto o conidial se denomina Cercospora y al estado perfecto *Mycosphaerella*. De acuerdo a lo anterior, el hongo tiene tres cuerpos fructíferos: reproducción asexual: conidióforo-conidias. Reproducción sexual: Espermagonio (masculino) - espermácias. Peritecio (femenino) – ascosporas (12).

#### a) Reproducción Asexual:

El esporodoquio, es la estructura de reproducción asexual del hongo, está formado por la agrupación de conidióforos y emergen a través del estoma de la hoja. Estos producen los filamentos fungosos denominados conidias, cuando existe una película de agua en la hoja o cuando la atmósfera está saturada de vapor de agua, se trasladan en sentido vertical (12).

*b) Reproducción Sexual:*

El peritecio, es el órgano sexual femenino, en forma de pera, de color café oscuro, con paredes gruesas, éste emerge del cuello de la superficie de la hoja. Dentro de él, se encuentran las ascosporas en pequeños sacos. Las ascosporas tienen 2 células y son producidas en cantidades de 150 por peritecio, produciendo una sola cosecha durante el ciclo de vida (12).

El espermagonio, también tiene forma de pera y emerge su cuello de la superficie de la hoja. Dentro de él se producen las espermacias en cantidades considerables, sin color. Cuando las espermacias maduran, son expulsadas del espermagonio y son llevadas por el rocío o las gotas de lluvia a los peritecios. Es necesario que las espermacias sean fertilizadas, para que las ascosporas maduren y sean expulsadas del peritecio. Las espermacias a diferencia de las ascosporas maduras, no causan infección en la hoja (13).

### 3.1.2 Morfología de las Musáceas

En las musáceas, la lámina de la hoja se compone de dos mitades; cada una de ellas en apariencia una prolongación lateral del margen de la vena o nervio central. En el punto en que las dos mitades de la hoja se unen al nervio central, hay dos líneas pálidas, y las bandas pulminares. En su forma general, la lámina de la hoja es de punta roma y cónica, redondeada y hasta auriculada en la base, y la forma basal varía con la edad y con los orígenes botánicos. En grosor, varía considerablemente, alcanzando el máximo espesor cerca del nervio central, en las proximidades de la mitad de su longitud, y su mínimo en los márgenes, especialmente hasta el ápice. Las venas o nervaciones de la lámina son casi paralelas entre sí, extendiéndose en un largo trayecto en forma de S, desde el nervio central hacia el margen. La porción central de la S es virtualmente recta y atraviesa casi toda la mitad de la lámina; a pocos centímetros del margen, las venas o nervaduras se curvan hacia adelante, en dirección del ápice de la hoja,

para unirse en la vena marginal. Se presentan dos ordenes principales de venas, fáciles de distinguir por el hecho de que las principales laterales se encuentran encima de crestas poco pronunciadas y formadas por las plegaduras transversales de la media lámina; las laterales menores se presentan en las superficies planas entre las venas laterales principales. Aparecen intercaladas pequeñas venas ciegas (miden 1 cm de largo) y, uniendo ambos órdenes de laterales, se presentan numerosos haces comisulares pequeños que sirven para el transporte longitudinal además del nervio central. Debe destacarse que las venas laterales de la hoja del banano no se ramifican, y que el mayor número de venas o nervios cerca del margen de la lámina, en comparación con el número menor cerca del nervio central, es consecuencia de la intercalación. Skutch citado por IICA (16) estimó que, en una hoja grande, puede haber hasta 17,000 venas cerca del nervio central, en una mitad de la lámina.

Consecuencia de éste sistema vascular es la poca resistencia al desgarramiento transversal de la lámina; cuando esto ocurre, los haces comisurales y algunos tejidos fundamentales se destruyen, pero la conexión vascular entre el nervio central y el margen permanece intacta.

Los estomas se presentan en ambas superficies de la lámina, pero son de tres a cinco veces más numerosos en la superficie del envés que en la superficie del haz. Los estomas varían también de acuerdo con la parte de la hoja en que se encuentran, siendo menos numerosos hacia la base de la lámina que en la parte media ó en el ápice. Se ha demostrado, por otra parte, que el número de estomas varía con la ploidia.

Interiormente, alrededor del 50 por 100 de la lámina está llena de espacios intercelulares aeríferos y divididos como en el pecíolo y la vaina, en cámaras separadas por tabiques delgados. Los haces vasculares se presentan en las paredes de los canales, y cuanto mayor es el haz, más grande es el desarrollo de tejido fibroso asociado al haz. El prosénquima

se presenta encima y debajo de cada haz, estando las hebras superiores suberizadas, y las inferiores lignificadas. El tejido en empalizada forma un estrato continuo con un espesor de tres a cuatro capas de células; por encima de éste tejido se presenta una hipodermis no clorofílica de dos capas y una epidermis (cuya cutícula está más desarrollada que la de la epidermis inferior). Hacia la superficie inferior de la hoja existe algún parénquima asimilador, una hipodermis y una epidermis (16).

### 3.1.3 Fungicidas sistémicos

Estos productos penetran al interior de la hoja y son movidos internamente hacia los bordes y puntas de las hojas. En consecuencia, su acción sobre el hongo la ejercen desde el interior de la hoja, pudiendo curar infecciones ocurridas con varios días de anterioridad a la aplicación. Todo lo anterior significa una efectividad y un periodo de protección mayor al obtenido con los fungicidas protectantes, lo cual posibilita que puede alargarse el intervalo entre aplicaciones y que, de esta manera, se reduzca el mínimo de las mismas y se abaraten los costos de control de la sigatoka negra. Dentro de éste grupo se incluyen los Benzimidazoles, Triazoles y Estrobilurinas (19).

Según Rivera citado por Mancilla (19), el uso de éstos productos tiene que ser mucho más cuidadoso que el de los protectantes dado que por su modo bioquímico de acción el hongo puede desarrollar resistencia a los mismos.

#### A. Azoxistrobina

##### a) *Orígenes de azoxistrobina*

La estructura química de azoxistrobina se basa en fungicidas naturalmente producidos llamados estrobilurinas. Las estrobilurinas son producidas por varias especies de hongos que pudren la madera, incluyendo *Strobilurus tenacellus* y *Qudemansiella mucida*. La habilidad

de estos hongos para producir estos productos anti-fungosos los ayuda a competir con otros hongos por nutrientes en su hábitat ecológico (25).

Azoxistrobina es un derivado de ácido  $\beta$ -metoxiacrílico, uno de los primeros fungicidas en ser desarrollados de la química de las estrobilurinas. Se espera que una cantidad de nuevos fungicidas puedan ser introducidos de esta área de esta química. De hecho, para 1994, 18 compañías habían publicado un total de más de 190 aplicaciones de patentes.

Los orígenes de azoxistrobina pueden remontarse desde 1981, cuando el primero de los productos naturales, incluyendo oudemansin A y estrobilurin A fueron probados por ZENECA para control de hongos fitopatógenos. Los niveles en el control de la enfermedad inspiraron un programa de síntesis químico para diseñar análogos con una actividad fungicida mejorada y optimizar las propiedades físicas, tales como alta fotoestabilidad y baja volatilidad (25).

De este programa de investigación vino el descubrimiento de azoxistrobina a finales de 1988, fue seleccionada de más de 1.400 compuestos sintetizados por Zeneca (25).

**CUADRO 1:** Propiedades físicas y químicas de la azoxistrobina.

CAS Registro No.	131860-33-8
Formula Molecular	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>
Peso Molecular	403.4
Estado Físico	Polvo blanco sólido
Punto de fusión	116°C
Presión de Vapor	1.1 X 10 <sup>-13</sup> kPa @ 25°C
Solubilidad (agua)	6.0 mg/l
Log P <sub>ow</sub>	2.5 @ 20°C
Fotólisis	DAT <sub>50</sub> 12-17 días
Hidrólisis (acuosa)	Estable @ pH 5,7,9 @ 25 °C
Hidrólisis (acuosa)	Estable @ pH 5,7 @ 50 °C
Hidrólisis (acuosa)	DT <sub>50</sub> 12 días @ pH 9 @ 50 °C
Constante de la Ley de Henry	7.3 X 10 <sup>-14</sup> atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Adsorción Suelo K <sub>d</sub>	2-36
Movilidad (Clasificación McCall)	Baja – Mediana
Media vida en el campo	1 – 4 semanas

Fuente: ZENECAGROCHEMICALS. 1996. Azoxystrobin (25).

### *b) Modo de Acción Fungicida*

Azoxistrobina posee un modo de acción bioquímico novedoso, que es el mismo que poseen las estrobilurinas naturalmente producidas, inhibiendo la respiración mitocondrial en hongos. Esto es logrado por la prevención de la transferencia de electrones entre citocromo b y citocromo c1 en la ruta bioquímica de la respiración mitocondrial. Las mitocondrias son cuerpos microscópicos encontrados afuera del núcleo de la célula de los hongos. Ellos son importantes para la sobrevivencia del hongo porque producen energía (ATP) para la célula a través de la respiración. Sin ATP, las células fungosas no pueden sobrevivir (25).

Hay muchos otros fungicidas que inhiben la respiración mitocondrial. Sin embargo, ninguno de ellos enlaza en el mismo lugar específico en citocromo b como azoxistrobina. Así, la resistencia cruzada a los fungicidas existentes no se espera que ocurra. Los resultados de los ensayos demuestran que azoxistrobina controla las especies de patógenos fungosos con sensibilidad reducida a otros fungicidas tales como los inhibidores de esterol, fenilamidas, dicarboximidias y benzimidazoles. Así, azoxistrobina ofrece a los agricultores un fungicida de modo de acción único, para rotar dentro de los programas de manejo de resistencia (25).

### *c) Captación y Movimiento*

Azoxistrobina demuestra una captación excelente y propiedades de redistribución dentro de ambos monocotiledóneos y dicotiledóneos. La absorción foliar y redistribución sistémica han sido cuantificados en un amplio rango de cultivos comerciales bajo ambas condiciones controladas y de campo. Las conclusiones generales de azoxistrobina son:

- i. La absorción en las hojas es un proceso continuo pero seguro que ocurre a lo largo del tiempo. Típicamente, menos del 10% del ingrediente activo aplicado se mueve dentro de la hoja dentro de las primeras 24 horas después de la aplicación.

Después de siete días, aproximadamente el 35% del ingrediente activo aplicado se ha movido dentro de la hoja. La ventaja de la absorción lenta es que esto asegura que el fungicida permanezca lo suficiente en la superficie de la hoja para proteger la planta de la infección fungosa inicial a través de la inhibición de la germinación de la espora (25).

ii. Azoxistrobina se difunde a través de la hoja para alcanzar el tejido vascular y es transportada acropetalmente (se mueve hacia los lados o hacia arriba) dentro de la hoja. Esto resulta en una distribución uniforme de las moléculas del fungicida desde el punto de penetración, dando una excelente protección en toda la hoja.

Experimentos en invernadero han demostrado que azoxistrobina controla *Puccinia recondita* la roya café en trigo, vía movimiento acropétalo. Control de la enfermedad en el ápice de la hoja fue logrado dentro de las 24 horas después de la aplicación en una zona de la base de la hoja. Además, el control de la enfermedad se mantuvo en la zona de aplicación. Sin embargo, la azoxistrobina no se acumula en la punta de las hojas o márgenes, reduciendo así el riesgo de daño al cultivo (25).

iii. Las propiedades sistémicas y de difusión de la azoxistrobina también facilitan el movimiento translaminar (movimiento del haz hacia el envés) de la hoja. Por ejemplo, el excelente control en *Hemilea vastatrix* la roya del café fue demostrado cuando se aplicó azoxistrobina en el haz de las hojas tres días después de la inoculación en el envés de la hoja. Esto significa que azoxistrobina protege ambas superficies de la hoja aunque sólo una haya sido tratada (25).

iv. Azoxistrobina muestra sistemicidad a través del xilema en hojas emergentes no presentes a la hora del tratamiento. Altos niveles de actividad sistémica también han sido vistos como resultado de la absorción a través de la raíz en un rango de cultivos (25).

d) *Propiedades Biológicas*

i. Espectro biológico

Azoxistrobina tiene una alta actividad fungicida inherente y un amplio espectro contra especies fungosas de las cuatro principales clases de hongos fitopatógenos (25).

Comparados con las principales clases de fungicidas sistémicos, azoxistrobina tiene un nivel alto de actividad asociado con el espectro más amplio. Su efectividad a dosis bajas es rara entre los fungicidas que son activos contra un amplio espectro de enfermedades (25).

**CUADRO 2:** Espectro de azoxistrobina comparado con las principales clases de fungicidas

Clase Fungosa	CLASES DE FUNGICIDAS				
	Azoxistrobina	Inhibidores de Esterol	Fenilamidas	Dicarboximidas	Benzimidazoles
Oomicetos	Si	No	Si	No	No
Ascomicetos	Si	Si	No	Si	Si
Deuteromicetos	Si	Si	No	Si	Si
Basidiomicetos	Si	Si	No	Si	Si

Fuente: ZENECA AGROCHEMICALS. 1996. Azoxystrobin (25).

e) *Actividad Preventiva*

Azoxistrobina es un inhibidor potente de la germinación de las esporas y también muy efectivo contra los estados tempranos del desarrollo fungoso. Estas propiedades permiten que azoxistrobina proporcione una protección excelente contra la invasión de patógenos fungosos. Por ejemplo, uredosporas de roya café del trigo *Puccinia recondita* en plantas tratadas con azoxistrobina desarrollan anormalmente tubos germinativos pequeños que les falta el apresorio (estructura de penetración de los hongos en las hojas). Para que azoxistrobina sea efectiva como un compuesto preventivo, es esencial una cobertura adecuada del cultivo. Volúmenes apropiados de agua y presiones para asperjar, son necesarias para asegurar una cobertura adecuada (25).

f) *Actividad Curativa y Erradicante*

Azoxistrobina también es activa contra etapas de post-germinación del ciclo de vida fungoso en un amplio rango de patógenos. Por ejemplo, cuando es aplicado a semillas del trigo 7 días después de la inoculación con roya café, azoxistrobina causó colapso micelial dentro de 24 horas (25).

g) *Actividad Antiesporulante*

Azoxistrobina también provee acción antiesporulante contra un amplio enfermedades; por ejemplo, mildiu vellosa de la uva *Plasmopara viticola*, roya café del trigo *Puccinia recondita* y roña de manzana *Venturia inaequalis* (25).

h) *Rendimiento y Calidad*

El control de un amplio espectro de enfermedades foliares con azoxistrobina resulta en una notable mejoría en la retención de área foliar sana y verde de la hoja, hasta tarde en la época de muchos cultivos. Esto da un beneficio de rendimiento sobresaliente como resultado de una mayor fotosíntesis. Pruebas de incremento de peso y calidad de molino de pequeños granos y aumentos en ambos, rendimiento y calidad en cultivos de fruta, nuez y hortalizas, han sido logradas con azoxistrobina (25).

Un aumento significativo en rendimiento y beneficios de calidad en comparación con los fungicidas usados actualmente han sido observados en arroz, trigo, maníes, cucurbitáceas y tomates (25).

i) *Clasificación de Azoxistrobina*

Azoxistrobina tiene un número de características significantes que se encuentran en ambos grupos de fungicidas, los preventivos y curativos (25).

Azoxistrobina basa su estructura química de fungicidas naturalmente encontrados en varias especies de hongos incluyendo *Oudemansiella mucida* y *Strobilorus tenacellus* (25).

## B. Bitertanol

### a) Datos Físicoquímicos y de formulación

**CUADRO 3:** Datos Físicoquímicos y de formulación de bitertanol

Nombre común	Bitertanol
Denominación química	Beta -(1,1 -bifenil)-4 -iloxi) -alfa- (1,1 -dimetiletil) -1H-1,2,4 -triazol- 1 -etanol.
Aspecto	Cristales incoloros
Punto de fusión	De 136.7 a 145.2°C
Solubilidad en agua	De 1.6 a 2.9 ppm a 20°C
Presión de vapor	De $2.2 \times 10^{-12}$ a $2.5 \times 10^{-11}$ h Pa
Densidad (sustancia técnica)	1.19 a 20°C
Coefficiente de partición octanol/agua	Log Pow de 4.1 a 4.4 a 20°C
Tipo de formulación	EC/CE: Concentrado emulsionable DC: Concentrado dispersable
Contenido	300 gr/l (30% p/v)
Aspecto	Líquido claro amarillento
Miscibilidad en tanque	Miscible con insecticidas, fungicidas, fertilizantes foliares y aceite mineral en mezclas de 2 ó 3 componentes.
Fitocompatibilidad	Con buena tolerancia en el cultivo, aplicable en todas las variedades comerciales de banano y plátano.
Solvente	Pertenece al grupo de las Lactamas, totalmente miscible con agua

FUENTE: BAYER. 1996. Datos físicoquímicos y espectro biológico (4).

### b) Clasificación de bitertanol

Bitertanol se clasifica dentro del grupo de los triazoles, pertenecientes a los inhibidores de la síntesis de esteroides (25).

#### i. Modo de acción: Inhibidores de la síntesis del esteroide

Las membranas celulares de los hongos contienen fosfolípidos como componentes estructurales principales (8).

Para la estabilización de la fluidez de las membranas se necesitan y se producen esteroides adicionales. La síntesis del esteroide parte del Lanosterol y conduce a través de varias desmetilaciones (en el C4 y en el C14) Y desplazamientos de doble ligadura al esteroide funcional final, el cual es, en la mayoría de los hongos, el Ergosterol (Figura 16 A) (8).

Una inhibición de la síntesis del esterol conduce a un considerable trastorno de las múltiples funciones de la membrana y, como consecuencia, a la paralización total del crecimiento ulterior del micelio (8).

La síntesis del esterol, por lo tanto, ofrece un "blanco" altamente interesante para sustancias fungicidas. Mientras tanto, existe ya un gran número de diferentes inhibidores de la síntesis del esterol, conocidos abreviadamente como SBI, tanto en el área farmacéutica como en la fitosanitaria (8).

Bitertanol y tebuconazole son representantes de la más significativa subclase de los SBI: Los fungicidas triazólicos. Estos inhiben muy específicamente la desmetilación en el C14 y se conocen por ello en forma abreviada como DMI o inhibidores de la desmetilación. La Demetilasa es un Citocromo P-450 - Monooxigenasa, con Hem - como cofactor. Las enzimas-Citocromo P-450 transmiten un oxígeno ligado a un Hem-hierro a los más diversos sustratos (8).

La desmetilación en el C14 del Metilendihidrolanosterol ocurre en varios pasos: El primero es la oxidación del grupo C14 a alcohol. Los fungicidas triazólicos bloquean esa oxidación y se ligan en el centro activo de la Demetilasa en lugar de los sustratos naturales [mientras el resto triazólico entra en el intercambio de Hem-hierro (Figura 17 A) (8).

Como consecuencia de ello, se interrumpe completamente la síntesis del ergosterol en el micelio del hongo y se produce una fuerte acumulación de C14 -metilesteroles como Eburicol y Obtusifoliol, los cuales se incorporan en las membranas en lugar del Ergosterol, perturbando con ello sus funciones (Figura 18 A) (8).

### c) *Miscibilidad*

Bitertanol se comporta de manera uniforme con diversos tipos de agua y a diferentes niveles de pH. Sin embargo, es mejor utilizar aguas neutras y moderadamente duras. En caso

de que las aguas tengan pH de 8 a 9, se aconseja el uso de ácido fosfórico 85% en solución, en proporción 0.025%, a fin de lograr un pH de entre 6.5 y 7 (6).

*d) Resistencia al lavado por lluvias*

Por sus características de rápida penetración al tejido vegetal, bitertanol es poco influenciado por las lluvias. Experimentos realizados muestran que en 1 a 2 horas el activo ha sido casi totalmente incorporado al tejido vegetal. La lipofilia de bitertanol es comparativamente mejor que la de otros triazoles y por ello penetra más rápido y mejor la capa cerosa y la cutícula de las hojas del bananero, donde permanece ejerciendo su acción fungicida (6).

*e) Espectro biológico*

Bitertanol es un eficaz compuesto fungicida, de amplio espectro de acción. Este ingrediente activo penetra en el tejido de la planta y despliega un efecto de profundidad. Debido a las características de alta lipofilia, intrínsecas de su material activo. Se mueve (trasloca) muy poco dentro del tejido vegetal por medio de la corriente de savia de la planta. Esa propiedad le permite permanecer directamente en el sitio inicial de ataque: La cutícula y la capa cerosa de la hoja. Además de desarrollar una excelente actividad protectora, tiene efectos curativos y erradicantes (4).

Bitertanol se utiliza fundamentalmente para controlar la sarna (roña, moteado) y las enfermedades causadas por la *Monilinia* en frutas de pepita y de hueso así como para el control de enfermedades que causan manchas y lesiones foliares en cacahuates y bananos (4).

Bitertanol proporciona también un buen control de otras afecciones como royas, *Dídymella*, *Cercospora* y oídios en hortalizas, tomates, pepinos y plantas ornamentales (4).

En términos generales, las formulaciones (EC, SC, WP) son muy bien toleradas por las plantas cultivadas y son muy estables bajo condiciones de buen almacenaje. La

formulación EC en particular, ofrece un buen cuidado fitosanitario a los cultivos de cacahuates, bananos, hortalizas, frutas de hueso y plantas ornamentales. La WP y SC se usan en frutas de pepita (4).

## 3.2 Marco Referencial

### 3.2.1 Localización Geográfica

La investigación se realizó en el área experimental de la finca Villa Fénix, localizada en el Caserío Cucharas; en el Km. 257 sobre la carretera Interoceánica CA-9.

Las coordenadas geográficas del sitio experimental son las siguientes:

Latitud Norte	15°32'35"
Longitud Oeste	88°43'45" (15).

### 3.2.2 Parámetros Climáticos

El área experimental se encuentra a una altitud de 60 msnm (15).

El clima es cálido húmedo sin estación fría bien definida, vegetación natural característica selva; la precipitación media anual es alrededor de 1736 mm (14).

La presión atmosférica promedio es de 757.6 mm, la velocidad de los vientos promedio es de 23.8 Km./hr. La temperatura promedio anual es de 31 grados centígrados y una humedad relativa promedio de 80% (18).

Según Holdridge (14), el área experimental pertenece a la zona de vida de bosque muy húmedo subtropical cálido.

### 3.2.3 Parámetros Edáficos

De acuerdo al mapa de reconocimiento de suelos de Simmons (22), estos suelos pertenecen a la serie Champoná, que se caracterizan por ser suelos muy profundos, bien drenados, desarrollados sobre un material sedimentario antiguo en un clima húmedo y cálido. Ocupan un relieve de ondulado a escarpado a elevaciones bajas en el litoral del caribe. Geográficamente están asociados con los suelos Chacalté y Chacón, siendo los Chacalté

suelos delgados desarrollados sobre caliza. Los Chacón se asemejan a los Champona en algunos aspectos; se distinguen por el hecho de que los Champona se encuentran a elevaciones un poco más altas, ocupan relieves más inclinados y se han desarrollado sobre sedimentos consolidados como lo son el esquisto arcilloso y la arenisca. Están densamente forestados con una vegetación compuesta especialmente de especies deciduas y de palmas.

A. Perfil del suelo: Champona franco limoso

- a) El suelo superficial, a una profundidad alrededor de 10 centímetros, es franco limoso, friable, café.

La estructura es granular y la reacción es de mediana a ligeramente ácida, pH alrededor de 6.

- b) El suelo adyacente a la superficie, a una profundidad alrededor de 20 centímetros es franco limoso,

friable, de color café grisáceo claro. La estructura es cúbica poco desarrollada. La reacción es de fuerte a medianamente ácida, pH alrededor de 5.5.

- c) El subsuelo, a una profundidad de 50 ó 75 centímetros, es arcilla, de café rojiza a rojo cafésácea, que es quebradiza cuando está seca pero plástica cuando está húmeda. La estructura cúbica está bien desarrollada. La reacción es de extremada a muy fuertemente ácida, pH alrededor de 4.5.

- d) El subsuelo más profundo o substrato, a profundidades que pueden llegar a 4 metros, es arcilla moteada reticularmente de rojo, rojo cafésácea y gris claro. Este material es quebradizo bajo una escala amplia en las condiciones de humedad, pero se suelta cuando se pone en agua. La estructura es cúbica bien desarrollada. La reacción es de extremada a muy fuertemente ácida, pH alrededor de 4.5.

## B. Topografía y Geología

Ocupan relieves de ondulados a escarpados en lo que parecen ser terrazas marinas completamente seccionadas. La inclinación promedio es del 15%, pero las pendientes con el 50% de inclinación son comunes. La elevación varía del nivel del mar a unos 150 metros sobre el mismo.

## C. Localización y Extensión

Se encuentran en el departamento de Izabal, en el este de Guatemala. Son comunes en la vecindad de Puerto Barrios y se extienden a lo largo de la orilla norte del Valle del Motagua hasta pasado Bananera. Comprenden 22,630 hectáreas, o 0.208 por ciento del área de la república en la clasificación de reconocimiento de suelos.

## **4. ANTECEDENTES DE INVESTIGACION**

### **4.1 Estudios realizados por BAYER, S.A.**

4.1.1 Sistemicidad en función de la lipofilia. Se describe la distribución de bitertanol y tebuconazole en la hoja de banano, se embebieron discos filtrantes de los activos previamente radiomarcados y se colocaron por el envés en la vena central. La distribución de las sustancias activas se hizo visible mediante la toma de autorradiografías. Los resultados indicaron que ambos fungicidas fueron transportados en forma acropétala, por la corriente de agua en el xilema (11).

4.1.2 Absorción del ingrediente activo y estabilidad al lavado por lluvia. La investigación se realizó en invernaderos, con plantas de banano de aproximadamente tres meses de edad, los productos utilizados fueron bitertanol y tebuconazole radiomarcados. Los productos se mezclaron con agua y aceite, como es usual en la práctica, y se depositaron como pequeñas

gotitas con una micropipeta en el haz y en el envés de las hojas. Se utilizaron 3 diferentes dosis de aceite; 3, 5 y 8 l/ha. Después de 24 horas se determinó la distribución del activo sobre la hoja. Los resultados aparecen en los cuadros 4 y 5 (3).

**CUADRO 4:** Absorción del I.A. y estabilidad al lavado por lluvia de bitertanol

DOSIS	HAZ		ENVES	
	ABS. I.A. (%)	LAVADO * LLUVIA (%)	ABS. I.A. (%)	LAVADO * LLUVIA (%)
3L	56	18	66	18
5L	49	27	58	32
8L	45	30	45	30

FUENTE: BAYER. 1996. (3) Absorción del ingrediente activo y estabilidad al lavado por lluvia

**CUADRO 5:** Absorción del I.A. y estabilidad al lavado por lluvia de tebuconazole

DOSIS	HAZ		ENVES	
	ABS. I.A. (%)	LAVADO * LLUVIA (%)	ABS. I.A. (%)	LAVADO * LLUVIA (%)
3L	27	59	58	34
5L	52	38	73	17
8L	34	49	62	26

FUENTE: BAYER. 1996. (3) Absorción del ingrediente activo y estabilidad al lavado por lluvia

4.1.3 Distribución del ingrediente activo bitertanol y tebuconazole, por dispersión con la película de aceite. La dosis utilizada de aceite fueron 5 l/ha, ésta práctica se realizó en el haz y envés de la hoja. Se determinó que tanto se distribuyen bitertanol y tebuconazole por medio de la dispersión del aceite sobre la hoja. Para ello se calcularon por separado las cantidades de materia activa en cada gota de caldo de aspersion aplicada tópicamente sobre la superficie de aplicación (0.39 cm cuadrados) y en el tejido circundante (cerca de 18 cm cuadrados); independientemente de la distribución "vertical" de los activos. Los resultados obtenidos en bitertanol demostraron que el 80% se distribuye en el haz de la hoja de banano, y un 40 % en

el envés. En tebuconazole el 96% del ingrediente activo se distribuye en el haz de la hoja y un 66% lo hace en el envés de la hoja (7).

4.1.4 Macroautorradiografías. El estudio hace una referencia gráfica de los datos analíticos obtenidos en el comportamiento sistémico de bitertanol y tebuconazole sobre y dentro de la hoja de banano. Para ello se aplicaron con una micropipeta los activos radiomarcados, en forma de mezcla agua-aceite como es común en la práctica (5 l de aceite/ha) tanto en el haz como en el envés de la hoja. Por hoja de aproximadamente 30 cm de largo, se aplicaron de 50 a 60 gotitas con un volumen promedio de casi 0.15 microlitros distribuidos uniformemente sobre la superficie completa. Ello representa la cantidad de caldo de aspersión que recibe cada hoja de las plantas de banano bajo condiciones de campo después de una aplicación aérea. Los resultados reflejaron que después de siete días de aplicado había un mínimo cambio en la distribución del activo. La traslocación muy baja hacia el borde de la hoja, sin embargo hubo una distribución muy baja con la película de aceite. Bitertanol aplicado en el envés de la hoja se logró una distribución más uniforme (10).

## **4.2 Estudios realizados por ZENECA**

4.2.1 ZENECA AGRICOLA ha realizado pruebas de azoxistrobina (Bankit 25 SC), las cuales se han conducido desde 1993 contra Sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* en México, América Central y Ecuador, y desde 1996 en Colombia y Venezuela. Los resultados obtenidos muestran una segura eficacia, bajo el rango completo de las condiciones climáticas y la presión de enfermedad.

A. Guatemala 1995, azoxistrobina mantuvo la severidad de la enfermedad a niveles ligeramente más bajos que fungicidas estándares a tasas comerciales y a intervalos de aplicación. Azoxistrobina tuvo un similar control a 100 gria/ha a un intervalo de 14 días comparado con 150 gria/ha, a intervalos de 16 días.

B. Costa Rica 1995, azoxistrobina a intervalos de aplicación de 14 a 16 días con una dosis de 100 gria/ha o a intervalos de 18 días con 150 gria/ha fue igual o ligeramente superior a fungicidas estándares a intervalos de 10 y 12 días respectivamente. Las aplicaciones fueron hechas por pulverizaciones basadas en emulsión.

C. Honduras 1995, un bloque de 3 aplicaciones aéreas sucesivas de azoxistrobina dieron un control para Sigatoka negra similar al de un programa comercial (propiconazole, propiconazole + tridemorph, bitertanol, mancozeb y Anvil, éste último fue aplicado con la técnica de invertol) el cual recibió arriba de 4 aplicaciones en el mismo periodo, azoxistrobina fue igual de efectivo a 100 y 150 gria/ha.

D. Ecuador 1996, en una prueba durante la estación lluviosa, un bloque de 3 aplicaciones de azoxistrobina a 100 gria/ha mantuvo un alto nivel de control de la enfermedad más que propiconazole estándar. En una prueba que se hizo después, a finales de la época seca, 2 aplicaciones de azoxistrobina con intervalos de tres semanas fueron efectivos en la reducción de la incidencia de la enfermedad, a un nivel bajo antes del principio del período lluvioso. En ambas pruebas azoxistrobina fue aplicado en aceite a 13.2 l/ha y con AL-100 como emulsificante. Los fungicidas estándares (propiconazole 100 gria/ha y tridemorph 450 gria/ha) fueron aplicados en aceite a un volumen igual.

E. México 1996, aplicaciones aéreas en Chiapas demostraron la versatilidad de azoxistrobina. En una prueba, azoxistrobina aplicado convencionalmente a ambos lados y en emulsión invertida, la técnica de invertol usada por Zeneca dio un excelente control a la enfermedad, equivalente o superior al de un programa comercial de aplicaciones alternativas, el cual también dio un excelente control de la enfermedad. Azoxistrobina fue aplicado en 5 tiempos consecutivos a un intervalo de 14 días. En el programa comercial se realizaron 7 aplicaciones en la siguiente secuencia: Anvil, tridemorph, mancozeb; Anvil, tridemorph, mancozeb, Anvil; (Anvil se aplicó con la técnica de invertol).

F. Otra prueba realizada en México 1996, En programas basados sobre fungicidas protectantes la acción "Kick Back" de fungicidas sistémicos tales como azoxistrobina y Anvil dieron una mayor seguridad sobre condiciones adversas en la época lluviosa. En una prueba de aplicación aérea, cada dos ciclos de azoxistrobina y Anvil en un programa de aplicaciones de mancozeb (total de 12 aplicaciones) previno el control de la apuesta enfermedad más que un programa de 14 aplicaciones sucesivas de clorotalonil. El programa Zeneca detuvo o redujo la producción de conidias y ascosporas.

G. Otra prueba realizada en México 1997, se evaluó el efecto erradicante de azoxistrobina a 100 g/ha, fue aplicado a hojas infectadas con lesiones de estría 3 y estría 4. En los siguientes 17 a 21 días la severa enfermedad se desarrolló en las partes cubiertas y no aplicadas de ambos lados de la hoja, llegando a alcanzar la necrosis (estría de grado 6). En las hojas tratadas con azoxistrobina se detuvo el desarrollo de la estría 3 y estría 4, las lesiones no progresaron. Esto demostró el potente efecto erradicante de azoxistrobina.

H. Aislamientos de *Mycosphaerella fijiensis* fueron tomados de plantaciones comerciales en Guatemala y Belice donde benomyl y triazoles fueron reportados a dar un pobre control de la enfermedad. Estos fueron comparados con dos aislamientos de plantas de

banano no comerciales en Guatemala las cuales nunca han tenido aplicaciones con fungicidas. Los aislamientos de Belice fueron altamente resistentes a benomyl y demostraron una alta sensibilidad reducida a propiconazole. Los aislamientos de una plantación comercial en Guatemala mostraron niveles intermedios de resistencia. Azoxistrobina fue igual de efectiva contra todos, los cuatro aislamientos; mostrando la ausencia de cruces de resistencia.

I. Inhibición de la germinación de ascosporas y la elongación del tubo germinativo, la reducción en

la longitud del tubo germinativo está demostrada a concentraciones de azoxistrobina de 0.001 a 0.01 ppm. A concentraciones de azoxistrobina de 0.1 - 1.0 ppm el crecimiento del tubo germinativo y el % de germinación de esporas están ampliamente reducidas.

J. Distribución y movimiento de azoxistrobina. Imágenes de fósforo de una hoja joven de banano en la que se muestra la progresiva distribución de C<sub>14</sub> marcada con tiempo de azoxistrobina (1 3 y 8 días después de la aplicación) y un movimiento subsecuente de la punta de aplicación. El movimiento es lento y seguro, manteniendo protección en el área tratada. A diferencia de otros fungicidas sistémicos, la azoxistrobina no es acumulada en la punta o márgenes de la hoja. Manteniendo un control uniforme de la enfermedad a través de la hoja, sin riesgo de fitotoxicidad en los bordes de la hoja (26).

## 5. OBJETIVOS

5.1 Determinar el efecto protectante de la azoxistrobina y el bitertanol a través de su traslocación vía xilema, y posterior difusión hacia la superficie foliar para inhibir la germinación de esporas en *Mycosphaerella fijiensis* en áreas adyacentes no tratadas; en tres diferentes períodos (3, 6 y 9 días) después de su aplicación.

5.2 Determinar si los ingredientes activos, afloran a la superficie de la hoja y si la concentración es suficiente para inhibir la germinación de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis* en áreas adyacentes no tratadas.

5.3 Determinar a que distancia del punto de aplicación se inhibe la germinación de ascosporas de *Mycosphaerella fijiensis* en los tratamientos de azoxistrobina y bitertanol en dirección al movimiento xilemático.

5.4 Determinar la eficiencia de los productos por medio del porcentaje de germinación de esporas en áreas adyacentes no tratadas, en dirección al movimiento xilemático.

## **6. HIPOTESIS**

6.1 La azoxistrobina posee un efecto protectante, el cual aflora por difusión a la superficie foliar, inhibiendo la germinación de esporas en áreas adyacentes no tratadas; localizadas en dirección al movimiento xilemático desde el punto de aplicación, logrando desplazarse a mayores distancias en comparación del tratamiento bitertanol.

## 7. METODOLOGIA

### 7.1 Descripción del Experimento

La aplicación se realizó utilizando la metodología del test de una sola hoja (SLT). Para esto se utilizó un aspersor especial (Spray Gun Cat AUF - 1) y una torre diseñada para microtest (Single Leaf settling Spray Tower) calibrada para simular con alta precisión las aplicaciones aéreas de tipo comercial. Se utilizó este método con el objetivo de evitar el escurrimiento de los productos, ya que es una técnica localizada para un área específica en la superficie de la hoja.

En la figura 1 se presenta el material y equipo utilizado en la realización del experimento.

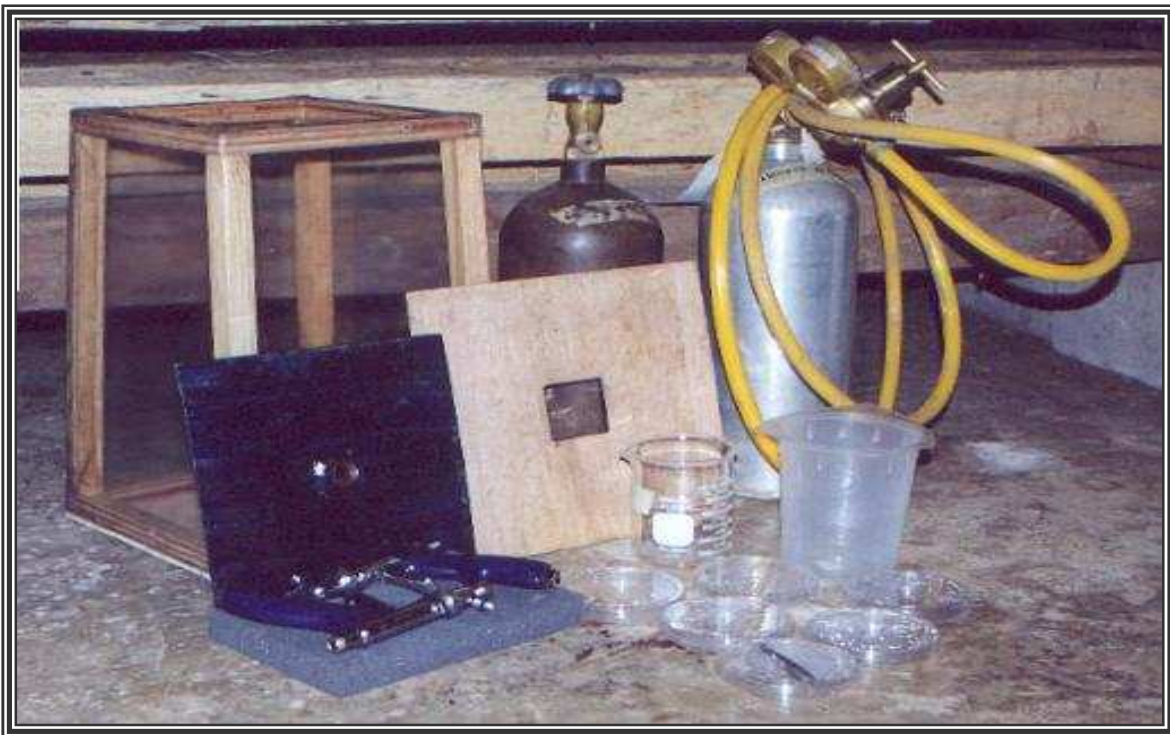


Fig 1. Equipo y materiales, utilizados en la aplicación por el Single Leaf Test. 7/1/2000

En la investigación se evaluó la distancia a la que se mueven y afloran a la superficie no tratada los productos azoxistrobina y bitertanol a partir del punto de aplicación, y el porcentaje de esporas germinadas en el distanciamiento de traslocación de los productos.

Las evaluaciones se realizaron a nivel de laboratorio a los 3, 6 y 9 días después de la aplicación (días a la germinación); evaluándose este movimiento en función de la inhibición de la germinación de esporas de *Mycosphaerella fijiensis* en áreas adyacentes no tratadas.

## **7.2 Fase de Campo**

### **7.2.1 Plantación**

La plantación se estableció el 22 de julio de 1999, con 300 plantas obtenidas de vivero. Estas plantas se desarrollaron a partir de cormos de la variedad Williams. El transplante se realizó a los tres meses de edad.

Las plantas se colocaron a un distanciamiento de 2 metros entre surco y 1.5 metros entre planta, sembradas bajo el sistema de tresbolillo.

Las plantas se fertilizaron al momento de la siembra con 4 onz de sulfato de potasio, al mes se aplicaron 4 onz de urea y a cada 4 meses se aplicaron 4 onz de sulfato de potasio. Las plantas que se tomaron en cuenta, fueron los hijos de la plantas madres.

### **7.2.2 Selección de plantas para el experimento**

A. Para la realización del experimento se seleccionaron 27 plantas con las siguientes características:

- a) 1.5 mts de altura
- b) 9 meses de edad (aproximadamente)
- c) Hoja 1 rango (1.0 –1.5)

En la figura 2 se muestra el rango de edad de las hojas de banano.

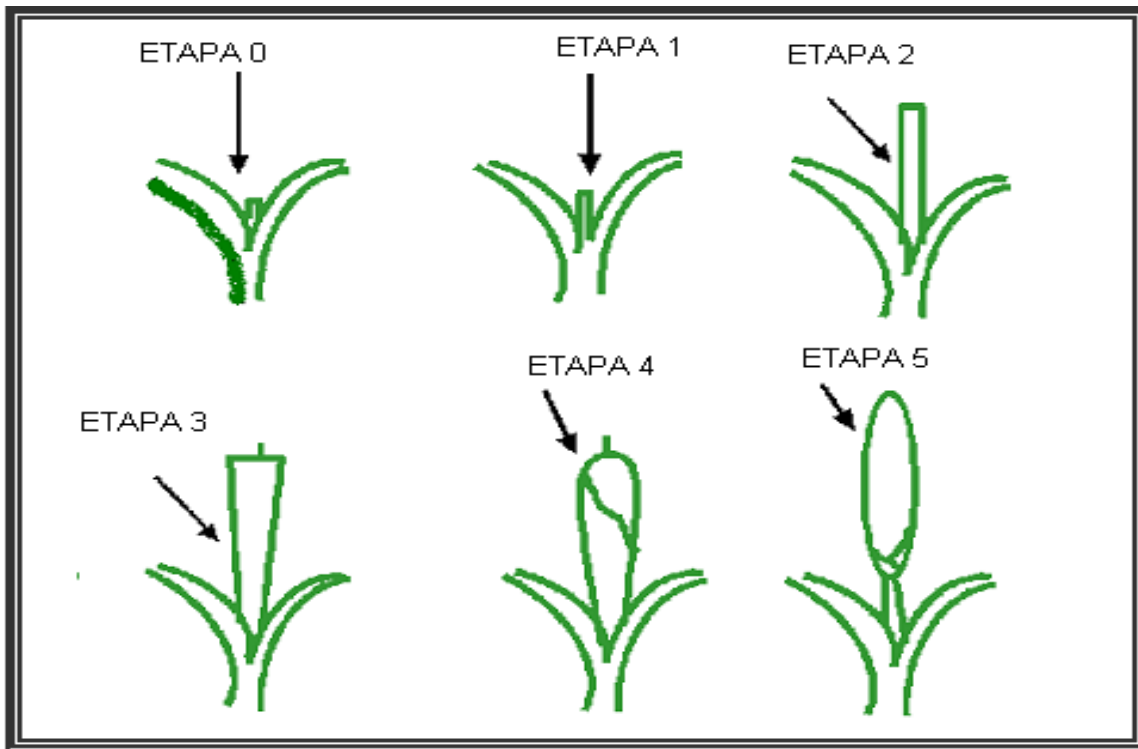


Fig 2. Etapas de desarrollo de la hoja de banano para la selección de hojas 1, donde el rango se encuentre dentro de (1.0 –1.5).

### 7.2.3 Aplicación

Los productos evaluados fueron azoxistrobina (Bankit 25 SC), y bitertanol (Baycor 30 EC), en el cuadro 4 se muestra la dosis y los adherentes utilizados en la mezcla de la aplicación. Estos productos se aplicaron en la hoja 1 de cada planta, (hoja más joven recién emergida).

Previamente se marcó un área de 25 cm<sup>2</sup> (5 cm x 5 cm) en el centro de la parte izquierda de la hoja, colocando luego alrededor del cuadro una barrera de cinta adhesiva para evitar el escurrimiento del producto; a las 2 horas después de la aplicación se retiró el cinta adhesiva de la hoja.

En la figura 3 se presenta el área de marcado de (25 cm<sup>2</sup>) y la ubicación en la hoja de banano.



Fig 3. Marcado del área correspondiente a 5 cm x 5 cm, en el centro de la parte izquierda de la hoja del banano finca Villa Fénix, Morales Izabal, 9/1/2000.

A. El equipo necesario en la aplicación fue el siguiente:

- a) Una torre que posee un área basal interna de 441 cm<sup>2</sup> (21 cm x 21 cm), y una altura de 40 cms.
- b) Un tanque de CO<sub>2</sub> para realizar aplicaciones a presión constante. Sobre el cual se instaló una manguera conectada al mecanismo de aplicación, simulando deposición aérea.

- c) Un aplicador de precisión (manual Spray Gun Cat AUF - 1) con un reservorio para el producto. En la figura 4 se muestra la forma de aplicación por medio del (SLT).



Fig 4. Método de aplicación (Single Leaf Test) para la evaluación de fungicidas sistémicos, finca Villa Fénix, Morales Izabal, 10/1/2000

En la parte externa de la torre se le colocó un plástico y solamente se dejó expuesta el área aplicar en la hoja 1, la cual se determinó de un tamaño de  $25 \text{ cm}^2$  (5 cm x 5 cm).

En el momento de la aplicación se colocó la hoja 1 en una posición horizontal, para esto se utilizó una tabla de madera, con el objetivo de evitar el escurrimiento del producto; posteriormente se colocó la torre en el centro de la parte izquierda de la hoja y se procedió a aplicar el producto con el aspersor especial AUF-1 (Figura 4). Para el caso del testigo se utilizó el mismo procedimiento, con la diferencia que solo se aplicó agua. Las dosis utilizadas fueron las comerciales, y los componentes de la emulsión aplicados se indican en el siguiente cuadro.

**CUADRO 6:** Dosis de aplicaciones comerciales de fungicidas, aceite agrícola y emulsificantes para la preparación de la mezcla de los tratamientos.

<b>AZOXISTROBINA (Bankit 25 SC)</b>		<b>BITERTANOL (Baycor 30 EC)</b>	
1. Dosis	0.4 l/ha	1. Dosis	0.5 l/ha
2. Aceite	5.0 l/ha	2. Aceite	5.0 l/ha
3. Emulsificante NP7	1.5% del aceite	3. Emulsificante NP7	1.5% del Aceite
4. Vol. final de Mezcla	50 l/ha	4. Vol. final de Mezcla	50 l/ha

El área interna basal de la torre era de 441 cm<sup>2</sup> (21cm x 21cm). Según calibraciones aéreas en una aplicación se gastan 50 l/ha de mezcla, entonces la dosis del área de la torre en mezcla es de 0.22 ml. Aplicándose en la totalidad del área, (base interna de la torre). No se calculó la mezcla para el área de los 25 cm<sup>2</sup> a aplicar, debido a que era muy pequeña y se tendría un margen de error muy grande. Por esa razón en la parte externa de la torre se colocó un plástico sobre una tabla de madera la cual dejó expuesto solamente el cuadro central de 25 cm<sup>2</sup>.

#### 7.2.4 Recolección de muestras:

A los 3, 6 y 9 días se colectaron porciones de tejido foliar de 25 cm<sup>2</sup> alrededor del área aplicada para evaluar los diferentes lados del tejido del área de aplicación, lado arriba hacia el ápice, lado abajo hacia la base, lado izquierdo hacia el borde (xilema) y lado derecho hacia la vena central (floema); luego se trasladaron en cámara húmeda hacia el laboratorio. Los puntos recolectados se muestran en las figuras 5 y 6.

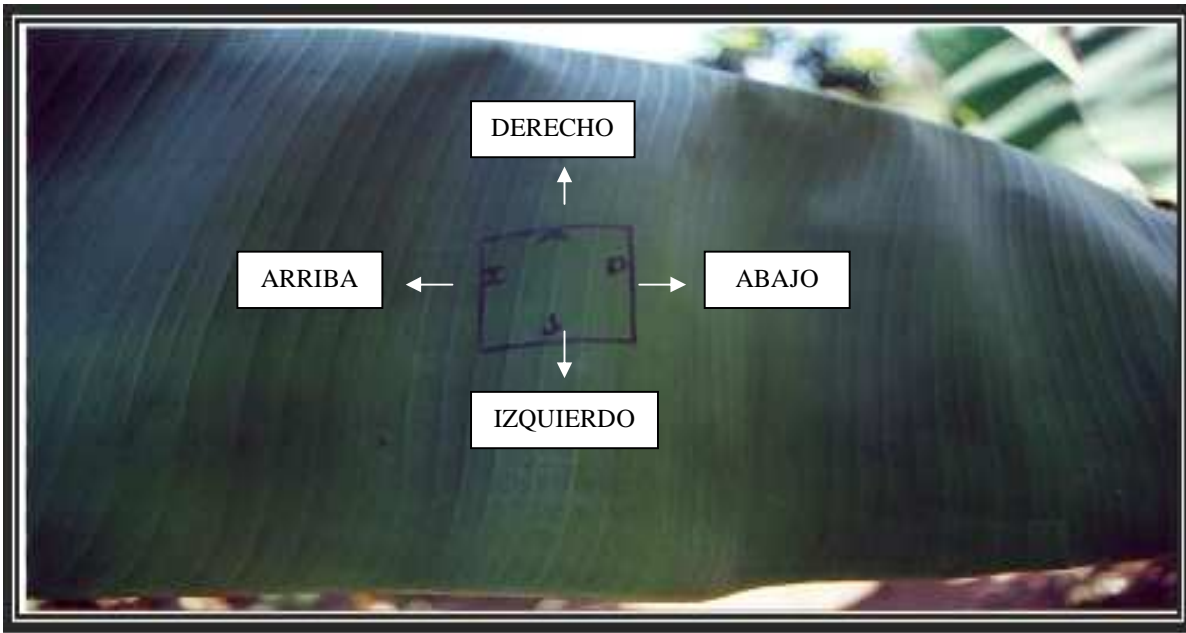


Fig 5. Delimitación de áreas adyacentes para lectura de traslocación y germinación en los tratamientos, finca Villa Fénix, Morales Izabal, 10/1/2000.



Fig 6. Corte de tejido vegetal (áreas adyacentes no tratadas), para su colocación en cajas Petri, finca Villa Fénix, Morales Izabal, 27/1/2000.

### 7.3 Fase de laboratorio

#### 7.3.1 Arreglo de muestras

Las muestras del tejido foliar, se colocaron en cajas de petri, con agar agua al 2%. En la figura 7 se muestra la colocación del tejido de la hoja de banano en agar.

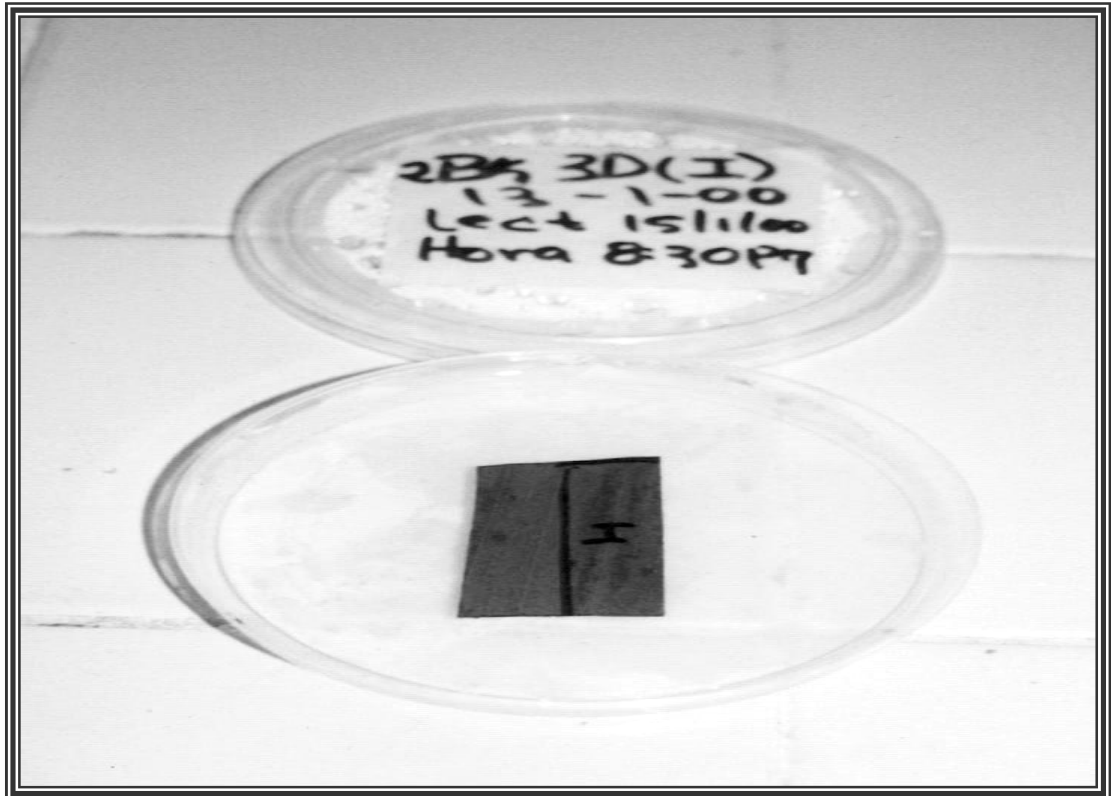


Fig 7. Colocación de muestras de tejido vegetal en sustrato de Agar al 2%, Morales, Izabal, 15/1/2000.

#### 7.3.2 Descarga de ascosporas

En un recipiente con agua, por un tiempo de 5 minutos, se depositaron secciones de hojas afectadas por *M. fijiensis*; procedentes de áreas enfermas, para la estimulación de la descarga de ascosporas de los peritecios. En la figura 8 se observa el proceso para inoculación de ascosporas y en la figura 9 se muestra la descarga de las mismas.



Fig 8. Muestras de hojas afectadas por sigatoka para la inoculación de ascosporas, previas a inmersión por 5 minutos en agua, fase de laboratorio, Morales, Izabal, 27/1/2000.

Estas secciones de hojas se colocaron posteriormente dentro de las cajas petri, sobre la muestra del tejido foliar, por 30 minutos promoviendo la descarga de ascosporas sobre el haz.



Fig 9. Descarga de esporas por 30 minutos, para la estimulación de peritecios en el haz del tejido foliar, en fase de laboratorio, Morales, Izabal, 27/1/2000.

Las muestras se incubaron por un período de 48 horas en condiciones ambientales. Después de las 48 horas las cajas petri se colocaron en un refrigerador a 7°C, para ser utilizadas paulatinamente en el momento de la lectura, y así evitar un desarrollo acelerado.

En la figura 10 se presenta el proceso de incubación en condiciones ambientales, de las muestras de tejido vegetal para proceder a las respectivas lecturas de las variables de distanciamiento y germinación de ascosporas.



Fig 10. Incubación de muestras por 48 horas, en condiciones ambientales controladas, fase de laboratorio, Morales, Izabal, 27/1/2000.

### 7.3.3 Toma de datos:

Para la evaluación de la variable distanciamiento de germinación se midió a través del objetivo 10X, del microscopio, el que contaba con un micrómetro, para determinar la distancia a la que se traslocó y afloró el producto inhibiendo la germinación de esporas, en áreas adyacentes no tratadas inmediatas al punto de aplicación, mediante la cuantificación de esporas germinadas y no germinadas.

Para la evaluación del porcentaje de germinación de esporas, dentro del área de medición se visualizó un campo óptico de distribución de esporas en el cual se tomó una muestra de veinte esporas, a las cuales se les efectuó un conteo, clasificándolas en germinadas y no germinadas, estos resultados fueron expresados en porcentaje.

En la figura 11 se muestra el microscopio utilizado en las lecturas, para poder determinar las variables de respuesta.

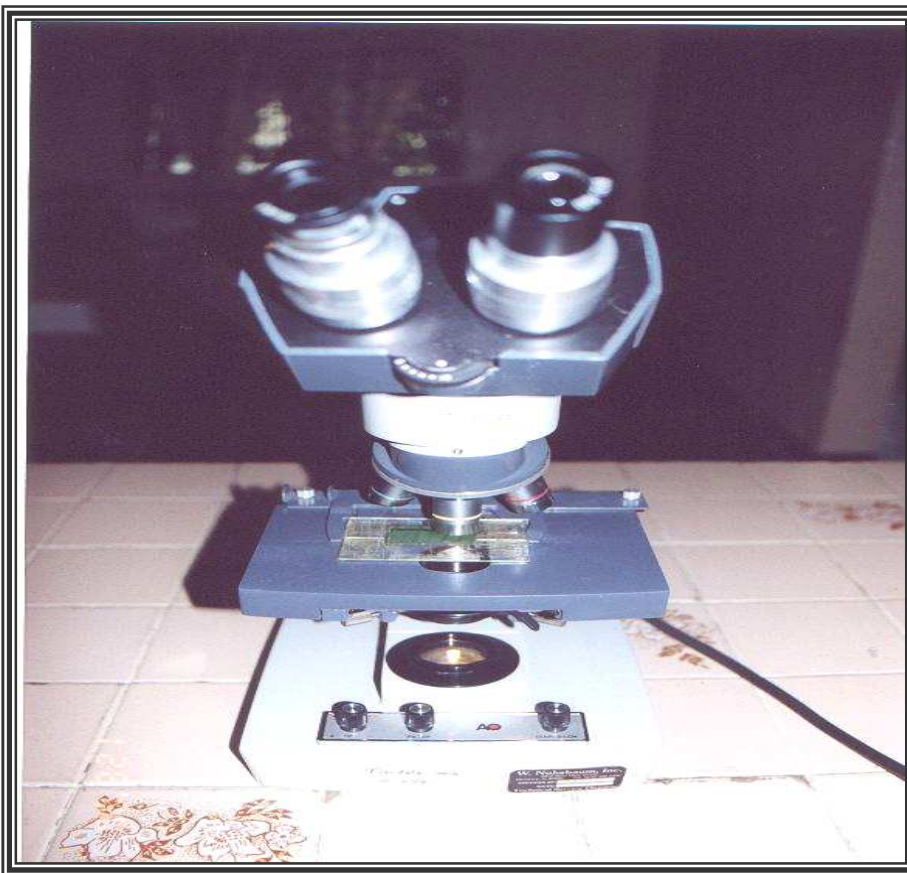


Fig 11. Toma de lecturas del distanciamiento y germinación de esporas, fase de laboratorio, Morales, Izabal, 30/1/2000.

## **7.4 Diseño Experimental**

### **7.4.1 Modalidad del estudio**

En el experimento se evaluaron los tratamientos azoxistrobina y bitertanol, combinados en diferentes intervalos de días a la germinación, los mismos se situaron en un diseño de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas, con cuatro repeticiones, donde el gradiente a bloquear fue el día de aplicación; situando en la parcela grande los días a la germinación (3, 6 y 9) y en la parcela pequeña los productos a evaluar (azoxistobina, bitertanol y testigo).

### **7.4.2 Factores a evaluar**

#### **A. Parcelas de los días a la germinación (Parcelas Grandes)**

- a) 3 días a la germinación
- b) 6 días a la germinación
- c) 9 días a la germinación

#### **B. Parcelas de los productos fungicidas (Parcelas Pequeñas)**

- a) Aplicación de azoxistrobina (BK)
- b) Aplicación de bitertanol (BY)
- c) Aplicación de agua (TE)

### 7.4.3 Tratamientos:

El cuadro 7 presenta los diferentes factores y sus modalidades a evaluar en la investigación.

**CUADRO 7.** Factores y niveles del diseño experimental

<b>DAG (Días a la germinación)</b>									
<b>3 DIAS</b>			<b>6 DIAS</b>			<b>9 DIAS</b>			
AZ	BY	TE	AZ	BY	TE	AZ	BY	TE	Bloque (Rep I)
TE	AZ	BY	TE	AZ	BY	TE	AZ	BY	Bloque (Rep II)
BY	TE	AZ	BY	TE	AZ	BY	TE	AZ	Bloque (Rep III)
TE	BY	AZ	TE	BY	AZ	TE	BY	AZ	Bloque (Rep IV)

Esto es, las parcelas grandes estuvieron designadas por los días a la germinación y las parcelas pequeñas correspondieron a los productos aplicados. Para la designación de las parcelas pequeñas, se aleatorizó dentro de las parcelas grandes.

### 7.4.4 Unidad experimental

La unidad experimental fué la hoja número 1 de cada planta comprendida entre el rango de 1.0 - 1.5 (figura 2).

En total se utilizaron 36 unidades experimentales, 12 para la parcela de 3 días a la germinación, 12 para la parcela de 6 días a la germinación y 12 para la parcela de 9 días a la germinación.

#### 7.4.5 Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_j + \alpha_i + \epsilon_{ij} + \rho_k + \alpha\rho_{ik} + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Distanciamiento al que se inhibe la germinación de ascosporas en áreas adyacentes no tratadas. Y el % de germinación de ascosporas.

$\mu$  = Efecto de la media general

$\beta_j$  = Efecto del j-ésimo bloque

$\alpha_i$  = Efecto del producto aplicado (azoxistrobina y bitertanol)

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental asociado a la parcela de días después de la aplicación 3, 6 y 9 días (Parcela grande).

$\rho_k$  = Efecto de los productos aplicación (3, 6 y 9 días)

$\alpha\rho_{ik}$  = Efecto debido a la interacción del producto aplicado y los días después de la aplicación.

$E_{ijk}$  = Error experimental asociado a la parcela de producto aplicado (parcela pequeña).

#### 7.4.6 Variables de Respuesta

- A. Distanciamiento en micras al que se inhibe la germinación de esporas de *M. fijiensis*.
- B. Porcentaje de germinación de esporas.

#### 7.4.7 Análisis de varianza

Hipótesis

Ho: Producto = 0 contra,

Ha: No todos los productos = 0

Ho: Días de la germinación = 0 contra,

Ha: No todos los días de germinación = 0

**CUADRO 8:** Tabla de datos. Factores y Cofactores

Parcela grande	Parcela Pequeña	Bloques			Y .jk
		I	II	III	
3 DAG	Azoxistrobina	Y111	Y121	Y131	Y .11
	Bitertanol	Y112	Y122	Y132	Y .12
	Testigo	Y 113	Y 123	Y 133	Y .13
Total parcela grande		Y 11.	Y 12.	Y 13.	Y 1..
6 DAG	Azoxistrobina	Y 211	Y 221	Y 231	Y .21
	Bitertanol	Y 212	Y 222	Y 232	Y .22
	Testigo	Y 213	Y 223	Y 233	Y .23
Total parcela grande		Y 21.	Y 22.	Y 23.	Y2..
9 DAG	Azoxistrobina	Y 311	Y 321	Y 331	Y .31
	Bitertanol	Y 312	Y 322	Y 332	Y .32
	Testigo	Y 313	Y 323	Y 333	Y .33
Total parcela grande		Y 31.	Y 32.	Y 33.	Y3..
Total Bloques		Y .1.	Y .2.	Y .3.	Y...

## **8. RESULTADOS Y DISCUSION**

La investigación se realizó durante enero del año 2000, se trabajó con plantas de banano originadas de vivero variedad Williams. Se evaluaron dos variables de respuesta, distanciamiento y porcentaje de germinación de esporas, en dos fungicidas sistémicos (azoxistrobina y bitertanol). De la evaluación se obtuvo que la mejor respuesta para la variable distanciamiento fue azoxistrobina, seguidamente bitertanol y por último el testigo. Para la variable porcentaje de germinación, azoxistrobina presentó el menor porcentaje, seguido por bitertanol y el testigo que fue el del mayor porcentaje de germinación.

### **8.1 ANALISIS DISTANCIAMIENTO DE GERMINACION DE ESPORAS**

#### **8.1.1 Distanciamiento a los 3 días (Vía xilema)**

Azoxistrobina a los 3 días se traslocó a una distancia de 11,218.75 micras, bitertanol a 6,262.50 micras, y testigo a 475 micras; siendo el mejor tratamiento azoxistrobina que por su capacidad de traslocación supera en 4,956.25 micras a bitertanol y en 10,743.75 al testigo. Lo que representa un 44% más de traslocación respecto a bitertanol y un 96% respecto al testigo.

#### **8.1.2 Distanciamiento a los 6 días (Vía xilema)**

Azoxistrobina a los 6 días se traslocó a una distancia de 12,750.00 micras, bitertanol a 9,781.25 micras, y testigo a 318.75 micras; siendo el mejor tratamiento azoxistrobina en 2,968.75 micras más que bitertanol y en 12,431.25 más que el testigo. Lo que representa un 23% más de traslocación respecto a bitertanol y un 97% respecto al testigo.

### 8.1.3 Distanciamiento a los 9 días (Vía xilema)

Azoxistrobina a los 9 días se traslocó a una distancia de 14,518.75 micras, bitertanol a 12,000.00 micras, y testigo a 662.50 micras; siendo el mejor tratamiento azoxistrobina en 2,518.75 micras más que bitertanol y en 13,856.25 más que el testigo. Lo que representa un 17% más de traslocación respecto a bitertanol y un 95% respecto al testigo.

En los resultados presentados en el cuadro 9 y en la grafica 12, el tratamiento que se traslocó a distanciamientos más largos fue azoxistrobina, seguido por bitertanol. Azoxistrobina a los 3 días se trasloca un 44% más que bitertanol, pero disminuye su porcentaje de traslocación conforme a los días, a los 6 días se trasloca en un 23% y a los 9 días en un 17 %. Esto se explica en base a las propiedades sistémicas de cada fungicida, azoxistrobina desde el momento de aplicación el ingrediente activo penetra en el interior de la hoja, menos de un 10% se mueve en las primeras 24 horas, y después de siete días aproximadamente el 35%(25), la absorción es lenta pero diferente a la de bitertanol, que por ser un inhibidor de la síntesis del ergosterol no actúa de inmediato y posee un mecanismo más lento. Esto es debido a que las conidias del hongo tienen una reserva de ergosterol y hasta que es liberada empieza el fungicida a moverse. A los 3 días es mínimo lo que se ha traslocado, pero aumenta significativamente a los 6 y 9 días.

**CUADRO 9:** Distanciamientos de germinación en micras vía xilema a los 3, 6 y 9 días, en azoxistrobina, bitertanol y testigo. Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

Tratamiento	DAG	REPETICIONES				Distancia ( $\mu$ )
	(Días a germinación)	I	II	III	IV	X
Azoxistrobina	Tres	10750	11425	11200	11500	<b>11218.75</b>
(Bankit 25 SC)	Seis	12500	12750	13125	12625	<b>12750.00</b>
	Nueve	15125	15000	14575	13375	<b>14518.75</b>
Bitertanol	Tres	6250	6425	5875	6500	<b>6262.50</b>
(Baycor 30 EC)	Seis	10125	10000	10000	9000	<b>9781.25</b>
	Nueve	12750	11000	12250	12000	<b>12000.00</b>
Testigo	Tres	275	525	725	375	<b>475.00</b>
(Agua)	Seis	50	375	50	800	<b>318.75</b>
	Nueve	525	875	875	375	<b>662.50</b>

El análisis de varianza (cuadro 10), para el distanciamiento de germinación de esporas, muestra significancia al 0.05% tanto para la parcela de días a germinación como para la parcela de productos fungicidas y no así para la interacción de ambas. Con ello se procedió a realizar la prueba de medias Tukey (cuadro 11). Los resultados se presentan en orden de mayor a menor distanciamiento.

**CUADRO 10:** Análisis de varianza para distanciamiento de Germinación de esporas en micras Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft</b>
Bloques	3	313402.8			
A	2	56804062.5	28402031.25	122.07	5.14*
Error (a)	6	1396076.4	232679.4		
<b>SUBTOTAL</b>	<b>11</b>	<b>58513541.7</b>			
B	2	972124687.5	486062343.8	158.35	3.55*
AB	4	32215000.0	8053750.0	2.62	2.93 ns
Error (b)	18	55249895.8	3069438.65		
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>1118103125</b>			

(a) = significativo al 5% ns = no significativo

(b) = significativo al 10% FC = 2.29

Según la prueba de medias Tukey (cuadro 11), los resultados para la parcela grande (días a la germinación), es mayor a los 9 días que a los 6 días y que a los 3 días; para la parcela pequeña (productos fungicidas), el producto que se traslocó a mayores distancias fue azoxistrobina, seguido por bitertanol. Para la interacción de ambas (días a la germinación x productos fungicidas), azoxistrobina a los 3, 6 y 9 días se trasloca a mayores distancias que bitertanol a los 3, 6 y 9 días.

**CUADRO 11: Prueba Tukey al 5% para el distanciamiento de germinación de esporas. Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.**

Parcela de Días a germinación		Distancia de germinación ( $\mu$ )	Grupo Tukey 5%
9		9060.4	A
6		7616.7	B
3		5985.4	C
Parcela de productos			
BK		12829.2	A
BY		9347.9	B
TE		485.4	C
Parcela Interacción Días Germ * Productos			
9D	BK	14518.7500	A
6D	BK	12750.0000	B
9D	BY	12000.0000	B C
3D	BK	11218.7500	C
6D	BY	9781.2500	D
3D	BY	6262.5000	E
9D	TE	662.5000	F
3D	TE	475.0000	F
6D	TE	318.7500	F

NOTA: Tratamientos con igual letra son estadísticamente iguales

Parcela A (Días a germinación)

A los 9 días el distanciamiento al que se desplazan los productos fungicidas para aflorar a la superficie de la hoja e inhibir la germinación de esporas es a 9060.4 micras, mayor que a los 6 días, siendo éste en 7616.7 micras y a los 3 días, en 5985.4 micras. Estadísticamente los distanciamientos a los que se mueven los productos vía xilema son diferentes a los 3, 6 y 9 días para inhibir la germinación de esporas de *M. fijiensis*. Esto comprueba que los fungicidas sistémicos su acción sobre el hongo la ejercen desde el interior de la hoja, pudiendo curar infecciones ocurridas con varios días de anterioridad a la aplicación. Todo lo anterior significa una efectividad y un período de protección mayor al obtenido con los fungicidas protectantes, lo cual posibilita que puede alargarse el intervalo entre

aplicaciones y que, de esta manera, se reduzca el mínimo de las mismas y se abaraten los costos de control de la sigatoka negra. (19)

#### Parcela B (Productos Fungicidas)

El fungicida que alcanzó una mayor traslocación vía xilema fue azoxistrobina, se movió 12,829 micras hasta los 9 días, seguidamente bitertanol con 9,347.9 micras y por último el testigo con 485.4 micras. Estadísticamente los tres tratamientos son diferentes.

El testigo que su aplicación fue agua, puede moverse dentro del tejido de la hoja pero no tiene efecto sobre la inhibición de esporas; por ésta razón las esporas germinadas aparecieron a distanciamientos más cortos al punto de aplicación. Sin embargo es una distancia en micras ligeramente alta para el testigo, esto surge debido a la forma de inoculación que se hace sobre el tejido vegetal, en el cual las esporas caen al azar, entonces la primera espora cayó a esa distancia y germinó, por lo que no habían esporas a distancias más cortas.

#### Interacción de A\*B (Días a germinación \* productos fungicidas)

Estadísticamente no existe al 5% una diferencia significativa para la interacción, pero si existe al 10% (cuadro 10), razón por la que se consideró realizar la prueba de medias para separar el distanciamiento por producto y en orden de mayor a menor; los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 11.

Estadísticamente el producto que tiene una mejor traslocación a los 3, 6 y 9 días fue azoxistrobina, a distanciamientos de 11,218.75, 12,750.00 y 14,518.75 micras. El segundo mejor tratamiento en traslocación fue bitertanol, a distanciamientos de 6,262.5, 9,781.25 y 12,000 micras. Por ultimo el testigo, que a los 3 días las esporas empiezan a germinar a distanciamientos de 475micras, a los 6 días a 318.75 y a los 9 días a 662.5.

No hay diferencias significativas entre azoxistrobina a los 3 y 6 días respecto a bitertanol a los 9 días, es decir el distanciamiento en el que se inhibe la germinación de esporas a los 3 y 6 días en azoxistrobina, ocurre hasta los 9 días en bitertanol. Alcanzando un mayor movimiento y difusión a través de la hoja en el tejido vascular (25). Bitertanol por ser un fungicida sistémico traslaminar no puede moverse a distancias largas su redistribución sistémica por medio de la corriente de savia dentro de la hoja es muy escasa (9).

En el cultivo de banano con 10 micras que se mueva más un producto y aflore a la superficie foliar, es significativo en el control de sigatoka; se protege a la planta de las nuevas infecciones y curar las ocurridas con anterioridad. De ésta forma los intervalos de aplicación pueden alargarse.

En la figura 12 se observa el comportamiento del distanciamiento de esporas a los 3, 6 y 9 días en los dos fungicidas y el testigo.

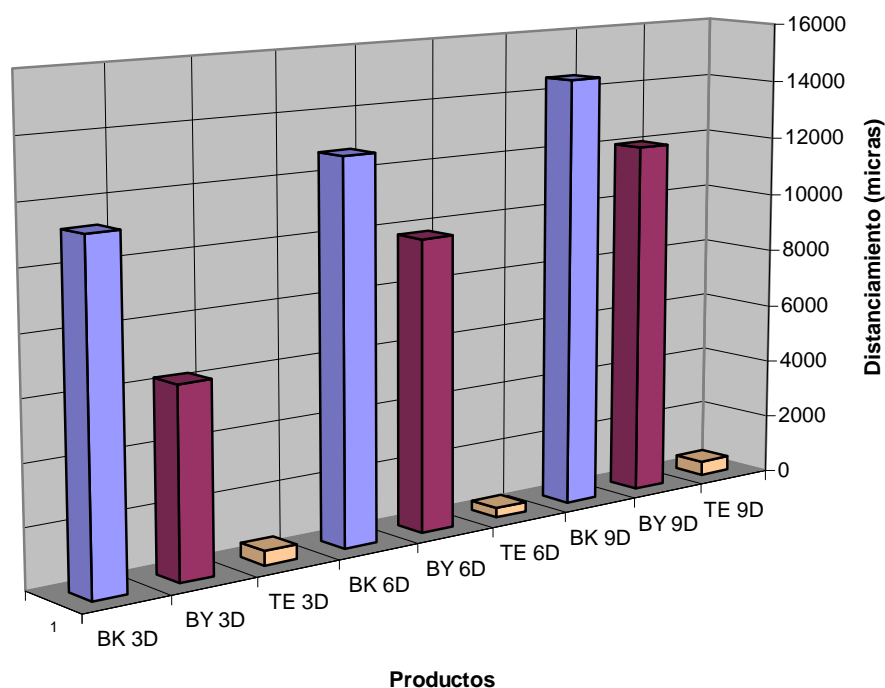


Fig 12. Distanciamiento de traslocación a los 3, 6 y 9 días. Morales, Izabal, 2000.

#### 8.1.4 Distanciamientos adyacentes a los 3, 6 y 9 días

Como un anexo a la investigación se evaluaron los distanciamientos adyacentes del tejido de la hoja de banano (figura 5) para comprobar si los productos fungicidas se movían únicamente a través del tejido vascular (vía xilema), la literatura lo describe como acropetalamente (25), y no vía floema, por un efecto de escurrimiento de los mismos (figura 19 A).

Como se puede observar en los resultados (cuadro12) los distanciamientos respecto a áreas adyacentes después del punto de aplicación. En el lado arriba respecto al ápice, las distancias de germinación son iguales a los 3, 6 y 9 días para azoxistrobina y bitertanol siendo en 325 micras, y 500 micras el testigo. En el lado abajo respecto a la base en azoxistrobina 400 micras, bitertanol 300 micras y testigo 450 micras. En el lado derecho respecto a la vena central en azoxistrobina 425 micras, bitertanol 350 micras y testigo 400 micras.

No existe una diferencia de traslocación entre los productos y el testigo en los tres períodos evaluados. Esto refleja que los productos fungicidas solo se traslocan vía xilema (cuadro 9). Y no por el floema.

**CUADRO 12:** Distanciamientos promedios adyacentes en micras a los 3, 6 y 9 días en azoxistrobina, bitertanol y testigo. Finca Villa Fénix, Morales Izabal 2000.

Tratam.	3 DIAS			6 DIAS			9 DIAS		
	AR (ápice)	AB (base)	D (V.Cen)	AR (ápice)	AB (base)	D (V.Cen)	AR (ápice)	AB (base)	D (V.Cen)
AZ	325	400	425	325	400	425	325	400	425
BT	325	300	350	325	300	350	325	300	350
TE	500	450	400	500	450	400	500	450	400

## 8.2 ANALISIS DEL PORCENTAJE DE GERMINACION DE ESPORAS

### 8.2.1 Porcentaje de germinación a los 3, 6 y 9 días (vía xilema)

El fungicida azoxistrobina presentó el menor porcentaje de germinación de esporas a los 3, 6 y 9 días, siendo estos en un 72.50%, 76.25% y 78.75%. El segundo tratamiento fue bitertanol, siendo éstos en un 75%, 86.25% y 88.75%. El tercer tratamiento fue el testigo que presentó un porcentaje mayor en cuanto a esporas germinadas. Siendo éstos en un 98.75%, 98.75% y 98.75%. Los resultados para la variable germinación se presentan en el cuadro 13.

**CUADRO 13:** Porcentaje de germinación de esporas a los 3, 6 y 9 días Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

Tratamiento	DAG	REPETICIONES				% Germ.
		I	II	III	IV	
azoxistrobina (Bankit 25 SC)	Tres días	70	70	75	75	<b>72.50</b>
	Seis días	75	75	80	75	<b>76.25</b>
	Nueve días	75	80	85	75	<b>78.75</b>
bitertanol (Baycor 30 EC)	Tres días	80	70	75	75	<b>75.00</b>
	Seis días	85	85	90	85	<b>86.25</b>
	Nueve días	85	90	95	85	<b>88.75</b>
Testigo (Agua)	Tres días	100	95	100	100	<b>98.75</b>
	Seis días	100	100	100	95	<b>98.75</b>
	Nueve días	100	95	100	100	<b>98.75</b>

El análisis de varianza (cuadro 14), para el porcentaje de germinación de esporas, muestra significancia al 0.05% tanto para la parcela de días a germinación como para la parcela de productos fungicidas y para la interacción de ambas. Con ello se procedió a realizar la prueba de medias Tukey (cuadro 15). Los resultados se presentan en orden de menor a mayor porcentaje de germinación de esporas.

**CUADRO 14:** Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de esporas Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft</b>
Bloques	3	107.64	35.88		
A	2	288.89	144.44	11.14	5.14*
Error (a)	6	77.78	12.96		
<b>SUBTOTAL</b>	<b>11</b>	<b>474.31</b>			
B	2	3276.39	1638.19	244.03	3.55*
AB	4	219.44	54.86	8.17	2.93*
Error (b)	18	120.83	6.71		
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>4090.97</b>			

\* = significativo al 5%

Según la prueba de medias Tukey (cuadro 15), para la variable germinación; en la parcela grande (días a la germinación), está determinado por un menor porcentaje de germinación a los 3 días, posteriormente mayor a los 6 días y respectivamente a los 9 días. Estadísticamente solo existe una diferencia significativa en el porcentaje de germinación a los 3 días pero no así para 6 y 9 días, ya que estadísticamente son iguales.

Para la parcela pequeña (productos fungicidas), el producto que presentó un menor porcentaje de germinación fue el fungicida azoxistrobina, posteriormente bitertanol que presentó un porcentaje de germinación mayor que el primero y respectivamente el testigo el cual su porcentaje de germinación fue el mayor. Estadísticamente los tres tratamientos son diferentes.

Para la interacción de ambas (días a la germinación x productos fungicidas), a los 3, 6 y 9 días azoxistrobina presenta el menor porcentaje de germinación, posteriormente bitertanol y por ultimo el testigo. Estadísticamente los tres tratamientos son diferentes.

**CUADRO 15:** Prueba Tukey al 5% para el porcentaje de germinación de esporas. Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

Parcela de Días a germinación		Promedio de porcentaje de germinación	Grupo Tukey 5%
3		82.083	A
6		87.083	B
9		88.750	B
Parcela de Productos			
BK		75.033	A
BY		83.333	B
TE		98.750	C
Parcela Interacción Días Germ * Productos			
3D	BK	72.50	A
3D	BY	75.00	A B
6D	BK	76.25	A B
9D	BK	78.75	B
6D	BY	86.25	C
9D	BY	88.75	C
3D	TE	98.75	D
6D	TE	98.75	D
9D	TE	98.75	D

NOTA: Tratamientos con igual letra son estadísticamente iguales

Parcela A (Días a germinación);

A los 3 días el porcentaje de germinación es significativamente diferente, éste representa un 82.083%. No así para los 6 días y para los 9 días, donde son estadísticamente iguales siendo en un 87.083%, y en un 88.75%.

Parcela B (Productos Fungicidas);

El fungicida azoxistrobina fue el mejor tratamiento, éste presentó un menor porcentaje de germinación de esporas, siendo un 75 %, el segundo tratamiento fue el fungicida bitertanol, el cual presentó un porcentaje mayor que azoxistrobina; siendo un 83%. El testigo, no puede inhibir la germinación de esporas debido a que la solución es agua, presentó el mayor

porcentaje en germinación; siendo éste un 99%. Estadísticamente azoxistrobina es diferente a bitertanol y a testigo.

Interacción de A\*B (Días a germinación \* productos fungicidas);

Estadísticamente existe una diferencia significativa para la interacción. El mejor producto para éste caso es el que presenta un menor porcentaje de germinación de esporas, por eso los resultados obtenidos en la prueba de medias Tukey se presentan de menor a mayor germinación.

El producto que presentó un menor porcentaje de germinación a los 3, 6 y 9 días fue azoxistrobina, siendo en 72.50%, 76.25% y 78.75%. Seguidamente se encuentra bitertanol con 75.00%, 86.25% y 88.75%. y por ultimo el testigo que fue el tratamiento que presentó el mayor porcentaje de germinación, siendo en un 98.75%; para los 3, 6 y 9 días. Estadísticamente el mejor tratamiento es el fungicida azoxistrobina seguidamente el fungicida bitertanol y por ultimo el testigo.

En la interacción se observa que no hay diferencias significativas, entre los tratamientos azoxistrobina 3 y 6 días respecto a bitertanol 3 días, estadísticamente son iguales. Bitertanol 9 días es igual que azoxistrobina 6 días, esto significa que hay menor porcentaje de germinación comparado con el fungicida bitertanol, azoxistrobina en 6 días inhibe lo que bitertanol inhibe en 9 días. La acción del activo de bitertanol es escaso desde los 6 días hasta los 9 días después de aplicado el producto, lo cual representa un menor efecto sobre la inhibición en la germinación de esporas de *Mycosphaerella fijiensis*, por poseer un mecanismo de acción más lento y diferente a azoxistrobina.

El porcentaje de germinación fue tomado a partir del distanciamiento donde empezaban a germinar las ascosporas, por eso los porcentajes son altos. El ingrediente activo de los productos ya no estaba en su eficiencia del 100%; pero sí tenía movilidad lentamente

vía xilema para inhibir germinación de ascosporas, ya que el porcentaje estaba entre los rangos de 72.50 a 88.75%. De lo contrario se hubiera manifestado en un 100%.

En la figura 13 se observa el comportamiento del porcentaje de germinación de esporas a los 3, 6 y 9 días en los dos fungicidas y el testigo.

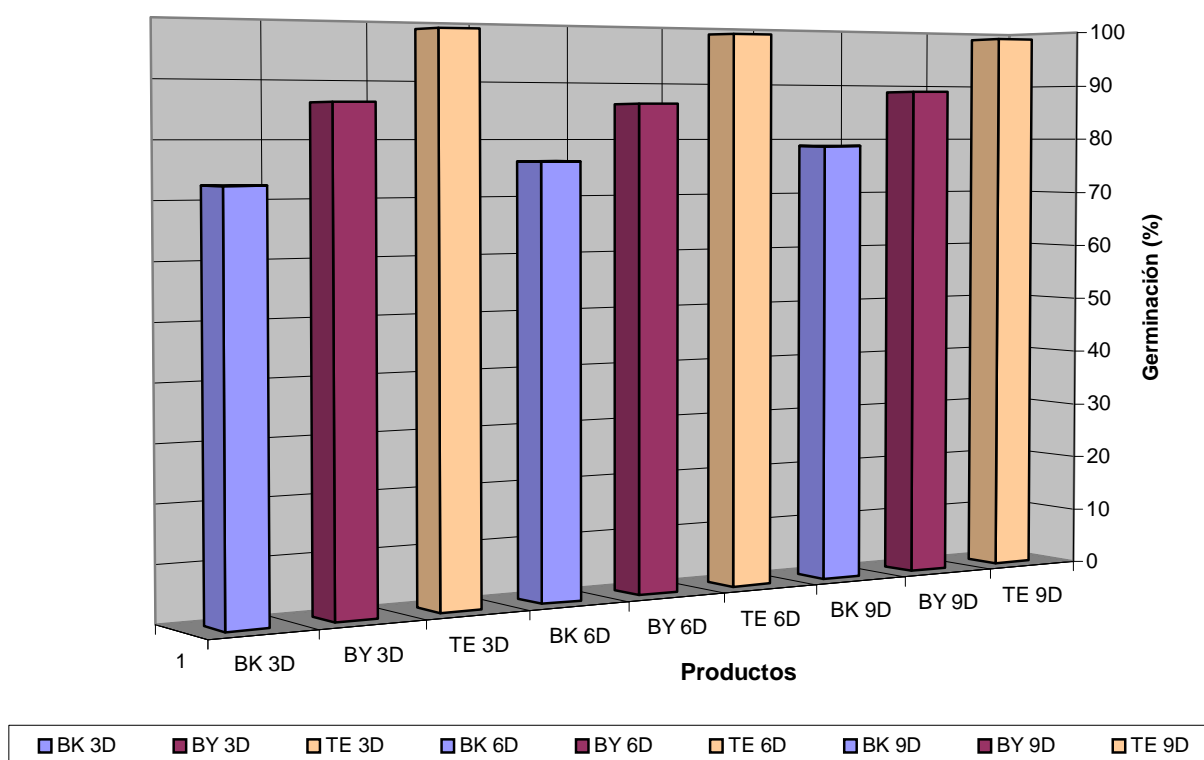


Fig 13. Porcentaje de germinación a los 3, 6 y 9 días. Morales, Izabal, 2000.

### 8.3 Longitud de tubos germinativos

Se tomaron lecturas de 9 muestras de tejido vegetal para medir la longitud promedio de los tubos germinativos de las esporas germinadas a los 3, 6 y 9 días después de la aplicación (cuadro 16). Se observó que las menores longitudes estaban en azoxistrobina, seguidamente en bitertanol y las mayores se encontraron en el testigo. La longitud de los tubos germinativos a los 3 días en azoxistrobina era de 6.29 micras, en bitertanol 25.19 micras y en el testigo se encontraban en ambos lados de la espora, con longitudes de 91.33 x 56.69 micras respectivamente. La longitud de los tubos a los 6 días en azoxistrobina era de 18.90 micras, en bitertanol 75.58 micras y testigo con 107 micras x 63 micras. A los 9 días en azoxistrobina (figura 20 A) era de 63 micras, en bitertanol (figura 21 A) 157 micras y testigo (figura 22 A) con 218 micras x 80 micras.

El fungicida azoxistrobina posee un mejor efecto protectante, su capacidad de movilidad a mayores distancias hace que actúe antes sobre la germinación y elongación de tubos comparado con el fungicida bitertanol. A mayor desplazamiento de un producto mejor control en la inhibición de esporas de *Mycosphaerella fijiensis*.

**CUADRO 16:** Promedio de Longitud de tubos germinativos. Finca Villa Fénix, Morales Izabal, 2000.

LONGITUD DE TUBOS GERMINATIVOS (MICRAS)			
Producto	3 días	6 días	9 días
Azoxistrobina	6.29	18.90	63.00
Bitertanol	25.19	75.58	157.00
Testigo	91.33 x 56.69	107 x 63.00	218 x 80.00

## 9. CONCLUSIONES

1. Azoxistrobina posee un mayor efecto protectante que bitertanol, su traslocación es vía xilema a distancias más largas del punto de aplicación en los tres intervalos de tiempo. Su efecto en la germinación de esporas de *M. fijiensis* es mejor que bitertanol.
2. Los ingredientes activos azoxistrobina y bitertanol, afloran por difusión a la superficie de la hoja en dirección al movimiento xilemático inhibiendo la germinación de ascosporas hasta los 9 días después de aplicados. Pero no hay efecto sobre la inhibición de esporas para áreas adyacentes en dirección al floema.
3. La distancia a la que se inhibe la germinación a los 3, 6 y 9 días es mayor en azoxistrobina. Siendo en 11,218.75, 12,750 y 14,518.75 micras, comparado con bitertanol que lo hace a menores distancias, siendo en 6,262.50, 9,781.25 y 12,000 micras. Representado en porcentaje sería un 44% más de traslocación a los 3 días, 23% a los 6 días y 17% a los 9 días para azoxistrobina.
4. El porcentaje de germinación de ascosporas es menor para azoxistrobina a los 3, 6 y 9 días después de su aplicación siendo éstos en un 72.50%, 76.25% y 78.75%; y mayor para bitertanol en un 75.00%, 86.25% y 88.75% respectivamente.

## 10. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la traslocación de los productos en un período más largo de tiempo, después de los 9 días de aplicados; para observar si el ingrediente activo sigue moviéndose vía xilema y pueda tener un efecto sobre la inhibición de la germinación de esporas de *M. fijiensis*.
2. Como una metodología adicional, se sugiere evaluar la variable de longitud de tubos germinativos de las esporas germinadas para tener datos más consistentes del efecto de los productos después de aplicados.

## 11. BIBLIOGRAFIA

1. Agrios, GN. 1996. Fitopatología. 2 ed. México, Limusa. 838 p.
2. Alvarez Cajas, VM. 1998. Análisis de experimentos con el sistema SAS. *In* Foro de Estadística (2., 1998, Guatemala); Congreso Nacional de Estadística (1998, Guatemala); Meeting of the International Biometric Society Guatemala Group (1., 1998, Guatemala). Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 48 p.
3. BAYER, GT. 1996. Absorción del ingrediente activo y estabilidad al lavado por lluvia; absorción y traslocación. p. 6b-1 - 6b-7.
4. ----- . 1996. Baycor; datos fisicoquímicos y espectro biológico. Guatemala. p. 3a-1, 3b-1.
5. ----- . 1996. Baycor; efecto sobre *Mycosphaerella fijiensis*. Guatemala. p. 5b-1 - 5b-2.
6. ----- . 1996. Baycor; una nueva alternativa contra la sigatoka negra. Guatemala. 5 p.
7. ----- . 1996. Distribución del ingrediente activo por dispersión con la película de aceite; absorción y traslocación. p. 6c-1 - 6c-3.
8. ----- . 1996. Inhibidores de la síntesis del esterol; modo de acción. Guatemala. p. 5a-1 - 5a-2.
9. ----- . 1996. La pareja ideal de fungicidas para una óptima protección del banano. Correo Fitosanitario. 16-19.
10. ----- . 1996. Macroautorradiografías; absorción y traslocación. Guatemala. p. 6e-1 - 6e-2.
11. ----- . 1996. Sistemicidad en función de la lipofilia; absorción y traslocación. p. 6a-1 - 6a-2.
12. Bustamante, M. 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, Dirección General de Sanidad Vegetal, Consejería Agrícola de México en Centroamérica. 52 p.

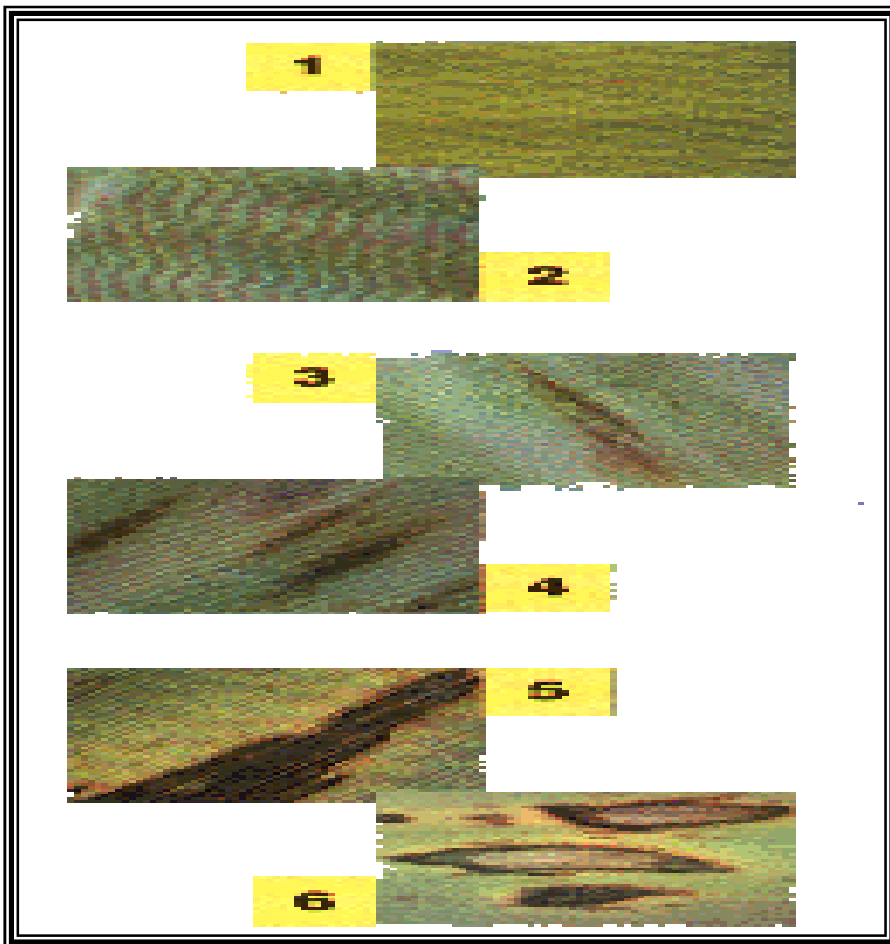
13. Fajardo Marroquín, LA. 1998. Evaluación de tres dosis de Clorotalonil y Mancozeb más Nufilm 17 en el control de la sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* Var. *difformis* M. en banano durante la época seca en Morales, Izabal, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 40 p.
  
14. Holdridge, L. 1978. Ecología basada en zonas de vida. Trad. por Humberto Jiménez. San José, CR, IICA. 216 p.
15. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT). 1975. Diccionario geográfico de Guatemala. 2 ed. Guatemala. tomo 1, 833 p.
  
16. IICA, CR. 1983. El plátano. Managua, Nicaragua, IICA. 37 p. (Publicación Miscelánea no. 434).
  
17. INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, CR). 1983. Compendio del seminario sobre sigatoka negra. Boletín Divulgativo INIAP no. 11:1-5.
  
18. INSIVUMEH (Instituto de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, GT). Tarjetas de control de estaciones meteorológicas de Guatemala, 1999. Sin publicar.
  
19. Mancilla Ruano, RE. 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. Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 68 p.
  
20. Marroquín Pazos, FR. 1993. Concentraciones de Propiconazol sobre el crecimiento de hifas en esporas de *Mycosphaerella fijiensis*, *in vitro*, en el cultivo del banano. Investigación Inferencial EPSA. Guatemala, USAC. 48 p.
  
21. Rodríguez Quezada, ER. 1998. Los hongos fitopatógenos. Guatemala, USAC. 58 p.
  
22. Simmons, C; Tarano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Salsona. Guatemala., José de Pineda Ibarra. 1000 p.
  
23. Stover, RH. 1972. Banana plantain and abaca diseases. England, Commonwealth Mycological, Institute Kew, Surrey. 316 p.

24. UPEB (Unión de Países Exportadores de Banano, PA). 1978. La amenaza de la sigatoka negra, Panamá. Informe Mensual UPEB 30 p.
25. ZENECA AGROCHEMICALS, GT. 1996. Azoxystrobin. 29 p.
26. -----, 1997. Bankit. Using nature's ideas. 28 p.

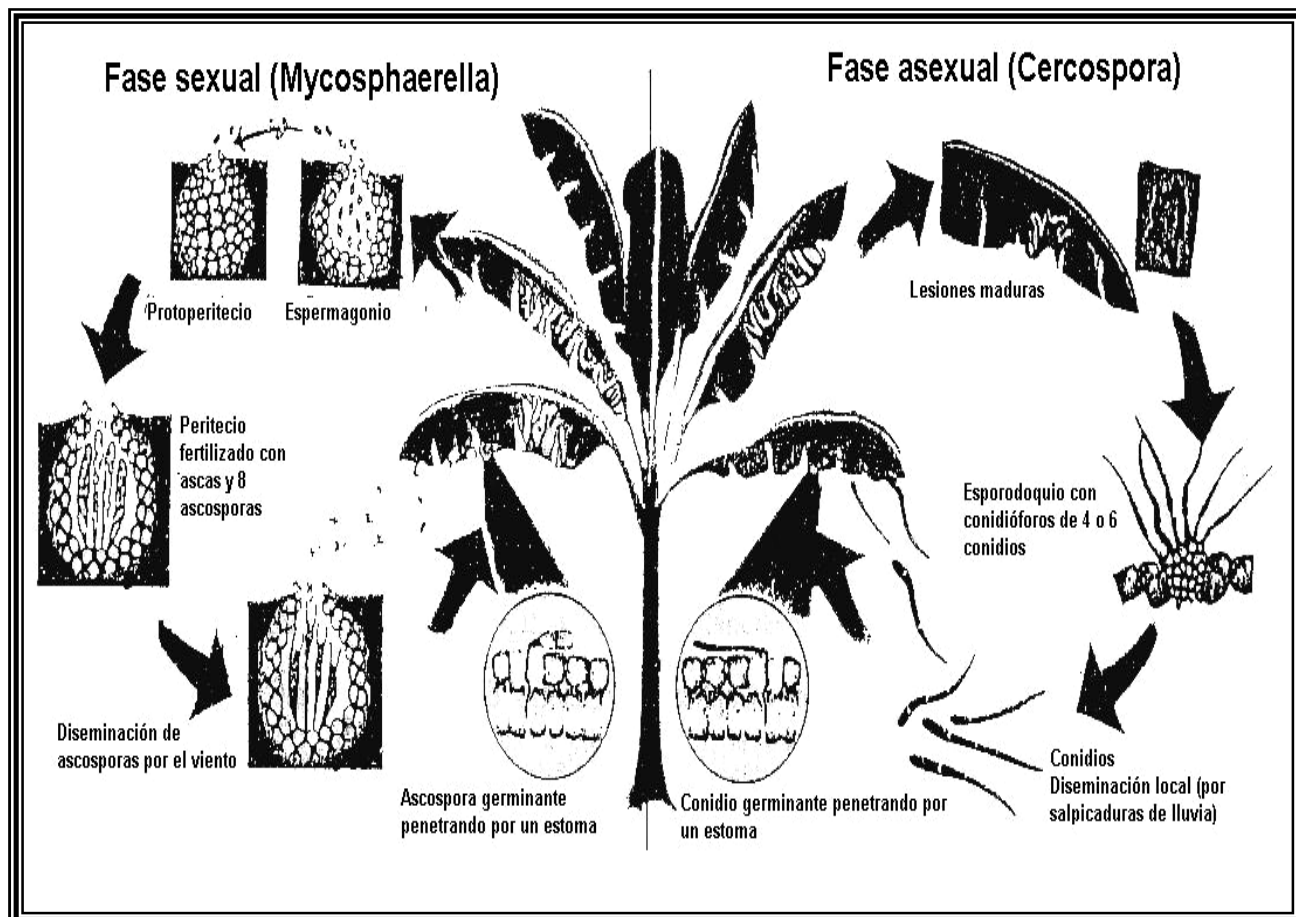
## 12. APENDICES

**Cuadro 17 A:** Datos de precipitación pluvial del mes de enero del 2000. (Estación Villa Fénix, Morales, Izabal).

MES	ENERO												TOTAL	PROM
AÑO	2000												(pp)	(mm)
DIA	4	5	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
PP (mm)	3	5	1	5	9	10	31	42	17	35	11	5	<b>174</b>	<b>14.5</b>



**FIGURA 14 A:** Estadíos de la sigatoka negra . ZENECA AGROCHEMICALS. 1996. Azoxystrobin (25).



**FIGURA 15 A.** Ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis*. Agrios, GN. 1996.

Fitopatología. 2 ed. México, Editorial Limusa 838 p.

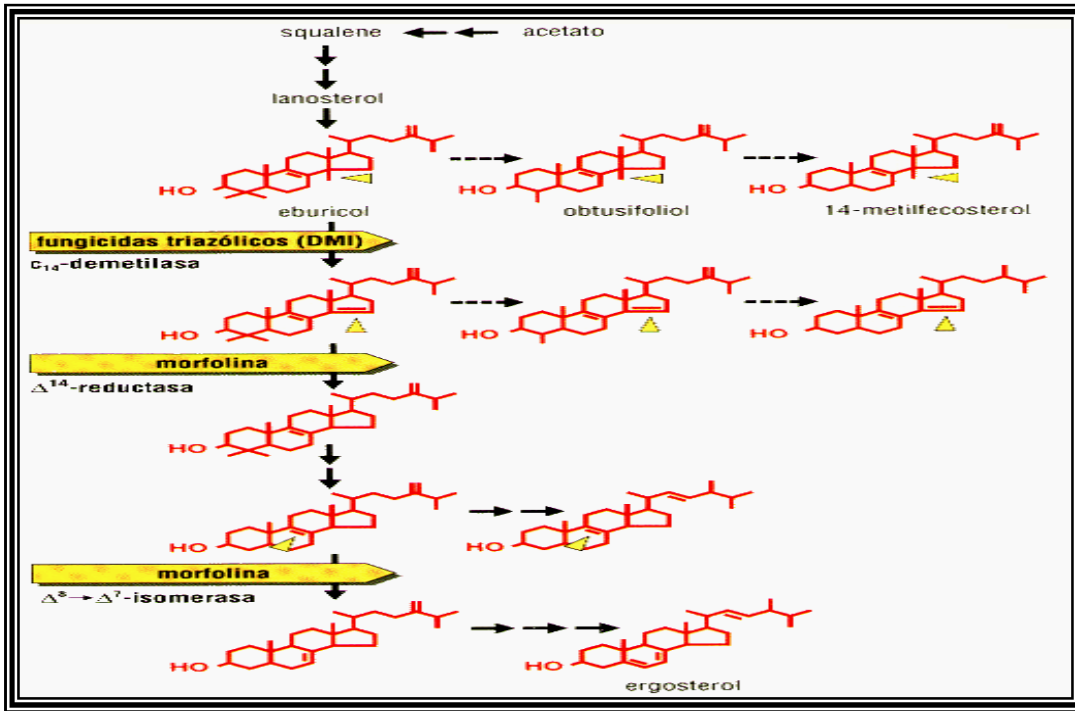


FIGURA 16 A: Modo de acción de los inhibidores de la síntesis de los esteroides. BAYER, 1996. Inhibidores de la Síntesis del Esterol. Modo de acción (8).

### Modelo molecular de la acción DMI

Diagram showing the active site of C<sub>14</sub>-demethylase. The iron atom (Fe) is coordinated by four nitrogen atoms (N) and a sulfur atom (S) from a cysteine residue (SH). The substrate is a sterol molecule with a double bond at C-14 (DH).

Diagram showing the active site of C<sub>14</sub>-demethylase. The iron atom (Fe) is coordinated by four nitrogen atoms (N) and a sulfur atom (S) from a cysteine residue (SH). The substrate is a sterol molecule with a double bond at C-14 (DH).

---

### Modo de acción de Bitertanol

**Inhibición de la biosíntesis del esterol en *Xanthoria mangelwae*.**

scatolina

7.14 bitertanol

scatolina

punto de partida

0    0.001    0.01    0.1    1

Bitertanol (μg/ml)

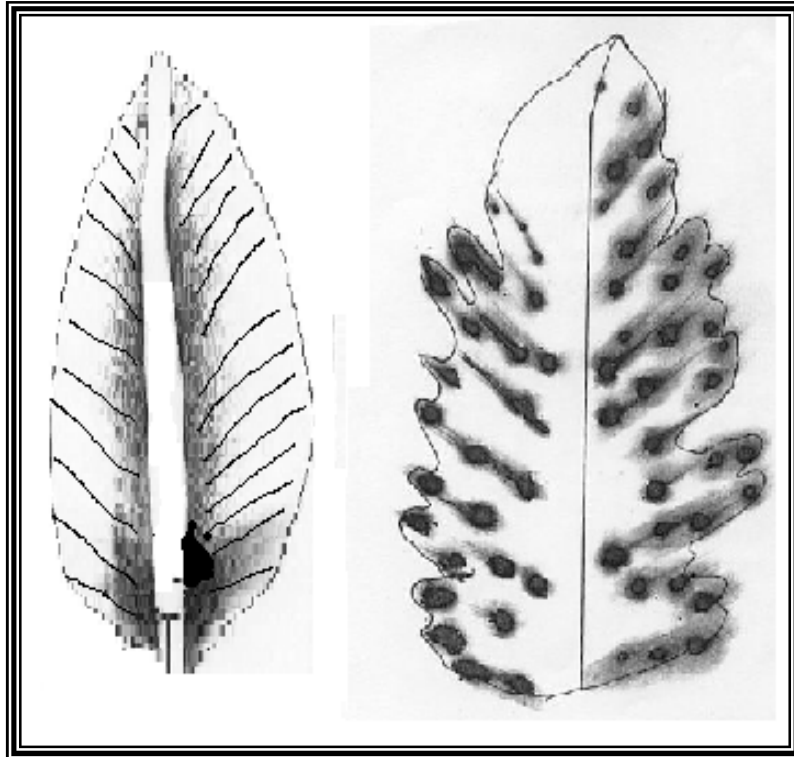
**Método:**

— Cultivos de algas en medio mínimo (scatolina) y bitertanol con diferentes concentraciones (0, 0.001, 0.01, 0.1, 1 μg/ml) durante 48 h. Se extrae el extracto y se analiza por cromatografía de capa fina.

— Para la identificación de los productos se utiliza el método de comparación con estándares de referencia.

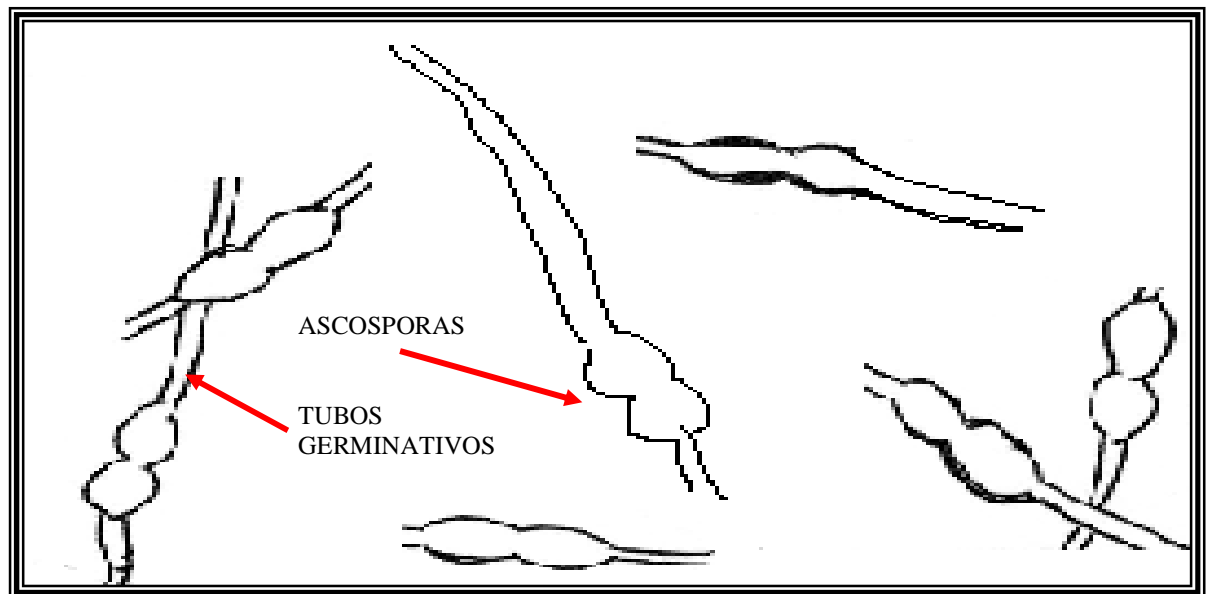
FIGURAS 17 y 18 A: Modelo molecular de la acción DMI y Modo de Acción de bitertanol.

BAYER, 1996. Inhibidores de la Síntesis del Esterol. Modo de acción. (8)

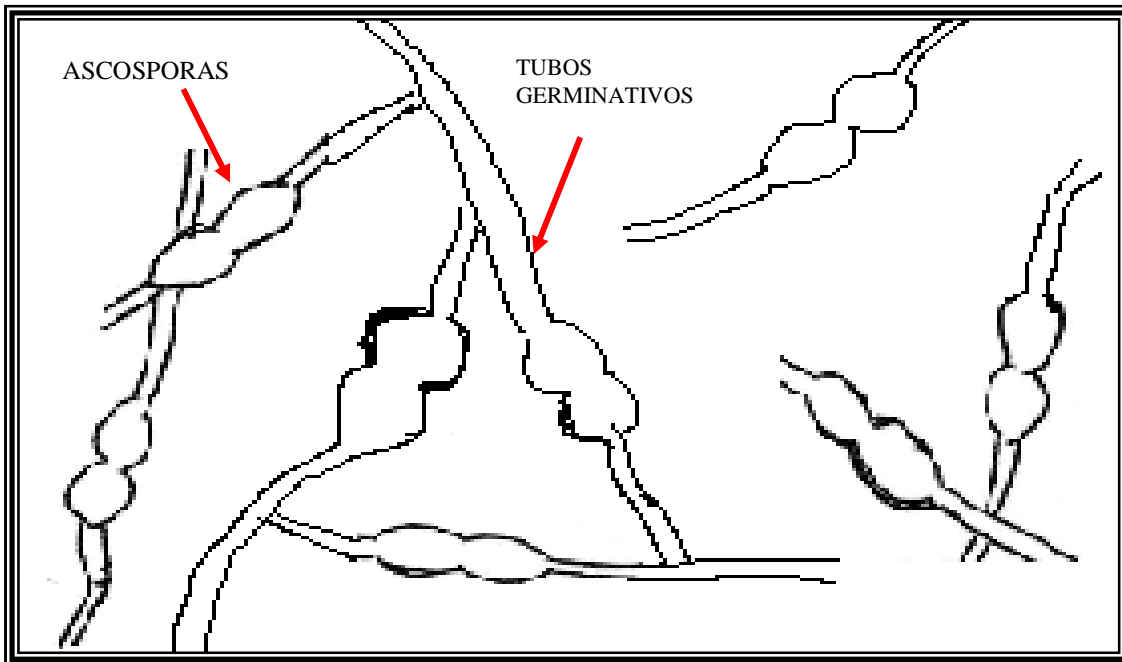


**FIGURA 19 A :** Distribución y movilidad de fungicidas sistémicos en la hoja de banano.

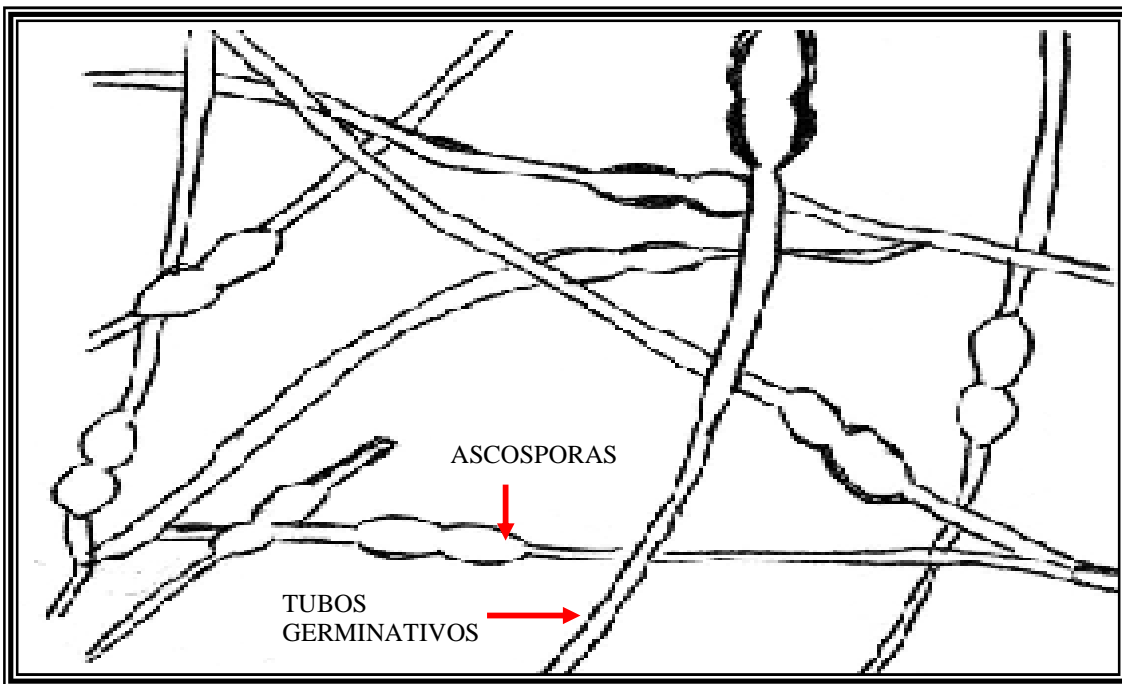
Fuente: BAYER, 1996. Macroautorradiografías. Absorción y Traslocación (10).



**FIGURA 20 A:** Dispersión de esporas en azoxistrobina. Ed. Ericka García. Guatemala, 2000.



**FIGURA 21 A:** Dispersión de esporas en bitertanol. Ed. Ericka García. Guatemala, 2000



**FIGURA 22 A:** Dispersión de esporas en testigo. Ed. Ericka García. Guatemala, 2000.