



## *In vitro* SENSITIVITY OF *Pseudocercospora fijiensis* (MORELET) TO SYSTEMIC FUNGICIDES

## SENSIBILIDAD *in vitro* DE *Pseudocercospora fijiensis* (MORELET) A LOS FUNGICIDAS SISTEMICOS

Alberto M. García-Munguía<sup>1</sup>, Argelia García-Munguía<sup>1</sup>, Marcelo Acosta-Ramos<sup>2</sup>, Otilio García-Munguía<sup>3</sup>, Mario Orozco-Santos<sup>4</sup>, Luis A. Ibarra-Juárez<sup>5</sup> and Carlos A. García-Munguía<sup>6\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), Centro de Ciencias Agropecuarias, Aguascalientes, Aguascalientes, México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, Chapingo, Estado de México, México. <sup>3</sup>UAA, Centro de Ciencias Económico Administrativas, Aguascalientes, Aguascalientes, México. <sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Tecoman, Tecoman, Colima, Mexico. <sup>5</sup>Cátedras CONACyT-Instituto de Ecología, A. C., Red de Estudios Moleculares Avanzados, Ciudad de México, México. <sup>6</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, Departamento de Veterinaria y Zootecnia, Irapuato, Guanajuato, México.

\*Corresponding author (cagamu@hotmail.com)

### RESUMEN

El cultivo del plátano (*Musa* spp.) se ve afectado por diversas enfermedades que disminuyen el rendimiento y calidad. La Sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) es el principal problema fitopatológico en este cultivo, por lo que se estudió la sensibilidad de *P. fijiensis* a cinco fungicidas sistémicos (Tebuconazol, Bitertanol, Pirimetanil, Trifloxistrobin y Tridemorf) en tres Unidades de Producción de Plátano (UPP). Se evaluó la longitud del tubo germinativo, la eficacia y la  $EC_{50}$ . En las UPP 1, 2 y 3 Tebuconazol inhibió el tubo germinativo de *P. fijiensis* con 86 % de eficacia, Bitertanol con 87 % y Pirimetanil con 100 %, Trifloxistrobin con 97 % y Tridemorf con 95 %. Tebuconazol tuvo una  $EC_{50}$  de 0.05694 ppm, Bitertanol de 0.0001 ppm, Trifloxistrobin de 0.00332 ppm, Pirimetanil de 0.15099 ppm y Tridemorf de 0.00166 ppm. Los fungicidas Tebuconazol y Bitertanol obtuvieron el mejor resultado en la UPP 1, Pirimetanil en las UPP 1 y 2, Trifloxistrobin y Tridemorf en la UPP 3, debido a que inhibieron en mayor medida el crecimiento del tubo germinativo de *P. fijiensis*. El fungicida Pirimetanil permitió un crecimiento menor del tubo germinativo de las ascosporas de *P. fijiensis* en las tres UPP, lo que resultó en una eficacia de inhibición del tubo germinativo mayor que los otros fungicidas.

**Palabras clave:** Sigatoka negra, control químico, eficacia, resistencia.

### SUMMARY

Banana (*Musa* spp.) is affected by various diseases that reduce yield and quality. Black Sigatoka (*Pseudocercospora fijiensis*) is the main phytopathological problem in this crop; thus, the sensitivity of *P. fijiensis* to five systemic fungicides (Tebuconazole, Bitertanol, Pyrimethanil, Trifloxystrobin and Tridemorph) was studied in three Banana Production Units (BPU). Germ tube length, efficacy and  $EC_{50}$  were evaluated. In BPU 1, 2 and 3, Tebuconazole inhibited the germ tube of *P. fijiensis* with 86 % efficacy, Bitertanol with 87 %, Pyrimethanil with 100 %, Trifloxystrobin with 97 % and Tridemorph with 95 %. Tebuconazole had an  $EC_{50}$  of 0.05694 ppm, Bitertanol of 0.0001 ppm, Trifloxystrobin of 0.00332 ppm, Pyrimethanil of 0.15099 ppm and Tridemorph of 0.00166 ppm. The fungicides Tebuconazole and Bitertanol had the best results in BPU 1, Pyrimethanil in BPU 1 and 2, Trifloxystrobin and Tridemorph in BPU 3, due to the fact that they inhibited the growth of the germ tube *P. fijiensis* to a greater extent. The fungicide Pyrimethanil allowed lower germ tube growth of *P. fijiensis* ascospores in all three BPUs, resulting in higher

germ tube inhibition efficacy than the other fungicides.

**Index words:** Black Sigatoka, chemical control, efficacy, resistance.

### INTRODUCCIÓN

México es el doceavo productor de plátano (*Musa* spp.) en el mundo, con 2.23 millones de toneladas anuales (CEDRSSA, 2019), pero se ha observado un nulo crecimiento en la producción de este cultivo en la última década. Entre 2013 y 2015 México tuvo entre 72,000 y 75,000 hectáreas de producción de plátano, con una producción anual promedio de 2.2 millones de toneladas (Martínez y Chávez, 2020).

El cultivo del plátano es afectado por diversas enfermedades que disminuyen su rendimiento y calidad. La Sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) es el principal problema fitopatológico de este cultivo en regiones de América Latina y el Caribe, así como en África y Asia; de hecho, es considerado el patógeno más devastador del cultivo a nivel mundial (Manzo-Sánchez *et al.*, 2019). En México, el ataque de *P. fijiensis* ha causado más del 50 % de pérdidas en la cosecha, lo que ha conducido a la modificación en el manejo de las plantaciones y los programas de aplicación de fungicidas (Alakonya *et al.*, 2018; Escobar-Tovar *et al.*, 2015; Marín y Romero, 1996).

El hongo *P. fijiensis* ha desarrollado resistencia a productos químicos como el Benzimidazol, Triazol y Estrobilurinas, lo que ha reducido su efectividad en campo y limitado su uso (Martínez y Guzmán 2010), de tal forma que el control de *P. fijiensis* se basa en el manejo integrado del cultivo, el cual considera mejorar el drenaje del suelo, reducir la densidad de siembra a 2000 plantas por hectárea, mantener un balance nutricional para inducir

resistencia fisiológica, control de malezas, eliminación de tejido enfermo que actúa como fuente de inóculo y control químico (Kablan *et al.*, 2012; Marín *et al.*, 2003; Orozco *et al.*, 2008).

La disminución del área foliar del cultivo de plátano causada por *P. fijiensis* reduce la fotosíntesis, lo que al final causa un menor llenado del fruto, menor peso del racimo y longitud de los dedos (Hidalgo *et al.*, 2006; Marín *et al.*, 2003; Rodríguez-Gaviria y Cayón, 2008); además, provoca la maduración prematura de los frutos, ya sea en el campo (frutos cremosos) o durante el transporte a los mercados de destino, lo que representa uno de los principales riesgos en cultivos comerciales (Marín *et al.*, 2003; Meredith, 1970; Stover, 1972; 1980); ésto obliga a los productores a realizar aplicaciones recurrentes de productos químicos para el control de la enfermedad.

El uso constante de fungicidas de la familia de los Triazoles y Morfolinas en México desde la década de los 90s y la forma en que éstos actúan en el control del hongo *P. fijiensis* hacen creer que se ha generado pérdida de sensibilidad a estos fungicidas, y en consecuencia, al aplicar nuevos grupos químicos (Anilino pirimidina y Estrobilurinas) se puede desarrollar una resistencia cruzada o pueden ser útiles para reducir la pérdida de sensibilidad (Martínez-Bolaños *et al.*, 2012). Orozco-Santos *et al.* (2013) concluyeron que existen graves problemas de resistencia cruzada entre fungicidas del mismo grupo químico, como es el caso de los Benzimidazoles (ej. Benomilo, Carbendazim y Metiltiofanato), Triazoles y Estrobilurinas (inhibidores de Qo). El objetivo de esta investigación fue determinar la resistencia *in vitro* del hongo *P. fijiensis* a Triazoles y Morfolinas, así como su sensibilidad a los fungicidas Anilino pirimidina y Estrobilurinas, además de identificar los productos antifúngicos con mayor eficacia en el control de *P. fijiensis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Este estudio de tipo descriptivo-transversal fue realizado en el Estado de Colima, México, donde se seleccionaron

Unidades de Producción de Plátano (UPP) de acuerdo con el método no probabilístico "por conveniencia" (Trusfield, 2018). Se seleccionaron tres unidades de producción de plátano clon Enano Gigante (Musa AAA, Subgrupo Cavendish), sobre las cuales se aplican frecuentemente fungicidas sistémicos para el control de *P. fijiensis*. Se realizó una pre selección de 25 plantas por UPP, próximas a florecer a través de una estimación visual del área foliar enferma, considerando los seis grados de infección que incluye la escala de Stover (1972), modificada por Gauhl (1989) (Cuadro 1).

El programa de aplicación de fungicidas se basó en bitácoras que indican las aplicaciones de control químico (ingrediente activo, dosis y frecuencia) realizadas en cada una de las UPP seleccionadas. Durante el ciclo de enero de 2006 a febrero de 2007, se aplicaron cuatro fungicidas (Mancozeb, Tebuconazol, Bitertanol y Pirimetanil) en cada una de las UPP; se observó variación en las dosis, número y periodo de aplicaciones por año (Cuadro 2).

### Toma de muestras

Se realizaron dos muestreos en los meses de febrero y marzo de 2007. Una vez realizada la pre evaluación, se procedió a seleccionar cinco hojas por planta muestreada con mayor grado de infección (Figura 1). En el primer muestreo las ascosporas se descargaron en todas las concentraciones evaluadas, mientras que en el segundo muestreo sólo se descargaron en las concentraciones donde no hubo descarga en la primera evaluación. Para el muestreo se buscó tejido necrosado [estadio 6, estadio de tinción grado 3, según la escala de Fouré (1985)], que tuviera buena calidad y cantidad de pseudotecios maduros; la necrosis se muestra de color grisáceo y con muchas manchas negras que corresponden a pseudotecios. Una vez localizada la necrosis y reconocida la calidad del inóculo, se cortaron trozos de tejido y se preservaron de acuerdo con lo descrito por Arias (2000); posteriormente, y de acuerdo con la metodología de French y Hebert (1982), las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Fitopatología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Tecomán, Colima, México. Es importante destacar que la recolección

**Cuadro 1. Unidades de Producción Agrícola objeto de estudio en Tecomán, Colima, México.**

Unidad de Producción de Plátano (UPP)	Nombre	Coordenadas geográficas
UPP 1	Terranova	18° 46' 25.1" N, 103° 44' 53.2" W
UPP 2	El Martirio	18° 51' 51.2" N, 103° 47' 41.7" W
UPP 3	El Sacrificio	19° 11' 57.6" N, 104° 34' 52.0" W

**Cuadro 2. Aplicaciones de fungicidas en campo evaluados en tres UPP localizadas en Tecomán, Colima, México. Periodo enero 2006-febrero 2007.**

Fungicida	Aplicaciones		Periodo* (d)		Aplicaciones		Periodo (d)	
	UPP 1		UPP 2		UPP 3			
Mancozeb	21	10-15	15	5-15	15	5-15		
Tebuconazol	5	10-15	7	5-15	7	5-15		
Bitertanol	2	10-15	9	5-15	9	5-15		
Pirimetanil	5	10-15	5	5-15	5	5-15		

\*Periodo entre aplicaciones expresado en días (d).



**Figura 1. Selección de hojas con mayor grado de infección de *P. fijiensis*.**

de las muestras se realizó en días secos (sin lluvia) para evitar que el hongo esporulara y liberara ascosporas durante su transporte (Arias, 2000).

#### Preparación del agar

Una vez ingresadas las muestras al Laboratorio se procedió a la preparación del agar; para ello, se mezclaron 100 mL de agua destilada con 2 g de agar dextrosa sabouraud; a continuación, se añadieron los preparados de cada ingrediente activo (Cuadro 3), se mezclaron y se vertieron en estado líquido a las placas de Petri. La cantidad de agar a preparar se calculó con base en 100 mL de ocho placas de Petri (Dupont, 2000). Las concentraciones evaluadas se prepararon según indicaciones de Arias (2000) y el siguiente procedimiento: se prepararon diferentes soluciones primarias para cada fungicida, con base en 100 mL de agua, se marcaron los fungicidas, los principios activos, el grupo químico, la solución primaria preparada, las soluciones personalizadas, así como la

cantidad de solución madre de cada fungicida a diluir en agua para tomar un volumen final de la mezcla de 100 mL y alcanzar los medios deseables, cantidad de producto fungicida (solución primaria) que se requiere para preparar cada una de las concentraciones; posteriormente, para el cálculo de las anteriores se siguió el razonamiento previo, extrayendo 10 mL de la concentración primaria y diluyendo en 100 mL de agua destilada y bajar la concentración 10 veces (Cuadro 3).

#### Incubación y descarga de ascosporas

Una vez en el laboratorio, el tejido infectado se dejó al aire libre a temperatura ambiente ( $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ) durante 24 h (Dupont, 2000); después, se incubó durante 48 h a temperatura ambiente ( $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ) en bolsas de plástico con toallas de papel húmedas. Las bolsas se llenaron de aire para formar un globo con las muestras en su interior. El objetivo de la incubación fue que los pseudotecios maduraran (Dupont, 2000). Después de la incubación las muestras se extrajeron

**Cuadro 3. Preparación de soluciones madre para la evaluación fungicida *in vitro* de la sensibilidad de *P. fijiensis*.**

Nombre comercial	Ingrediente activo	Grupo químico	Solución primaria 1000 ppm	Concentración (ppm)	Suspensión primaria	Agua: agar (mL)
Folicur 250	Tebuconazol	Triazole	0.4 mL	0	0 mL = 0 µm	100
				0.03	0.003 mL = 3 µm	99.997
				0.01	0.001 mL = 1 µm	99.999
				0.1	0.01 mL = 10 µm	99.99
				1.0	0.1 mL = 100 µm	99.9
				3.0	0.3 mL = 300 µm	99.7
Baycor 300	Bitertanol	Triazole	0.3 mL	0	0 mL = 0 µm	100
				0.03	0.003 mL = 3 µm	99.997
				0.01	0.001 mL = 1 µm	99.999
				0.1	0.01 mL = 10 µm	99.99
				1.0	0.1 mL = 100 µm	99.9
				3.0	0.3 mL = 300 µm	99.7
Siganax 60 SC	Pirimetanol	Anilinopirimidinas	0.166 mL	0	0 mL = 0 µm	100
				1	0.1 mL = 100 µm	99.9
				3	0.3 mL = 300 µm	99.7
				10	1 mL = 1000 µm	99
				30	3 mL = 3000 µm	97
				100	10 mL = 10000 µm	90
Tega 250 SC	Trifloxistrobin	Strobilurin	0.2 mL	0	0 mL = 0 µm	100
				0.1	0.01 mL = 10 µm	99.99
				3.0	0.3 mL = 300 µm	99.7
				10	1 mL = 1000 µm	99
Calixin	Tridemorf	Morpholine	0.0116 mL	0	0 mL = 0 µm	100
				0.1	0.01 mL = 10 µm	99.99
				0.3	0.03 mL = 30 µm	99.97
				1.0	0.1 mL = 100 µm	99.9
				10	1 mL = 1000 µm	99

de las bolsas de plástico y se etiquetaron, se seleccionaron las mejores muestras de inóculo y se cortaron en trozos de 2 cm<sup>2</sup>. De este proceso de selección depende el éxito de este seguimiento (Dupont, 2000). Posteriormente, se engraparon de cuatro a cinco trozos de hojas en papel bond de 9 cm<sup>2</sup>; estos trozos fueron etiquetados con la ubicación, nombre del producto, concentración a la que fueron expuestos y la fecha; a continuación, los trozos de papel se sumergieron con los trozos de hoja en agua

corriente durante 10 min para hidratar los pseudotecios, luego se retiraron y se colocaron en una toalla de papel para eliminar el exceso de agua (Arias, 2000); transcurrido este tiempo, se colocó cada papel bond con las muestras engrapadas en las cajas Petri, para que descargaran sobre el agar 2 % y la concentración correspondiente de cada producto; después, se dejó que las hojas descargaran las ascosporas durante 1 h en seguida, se voltearon las cajas Petri y se marcaron las zonas donde se encontraban los

trozos de hojas engrapadas con síntomas y se retiró el papel con las muestras. Más adelante se colocaron en una incubadora a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  y se mantuvieron ahí durante 48 h, para finalmente medir el tubo germinal de las ascosporas en un microscopio. Después de 48 h, las cajas Petri se colocaron en un refrigerador a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  para evitar que los tubos germinativos de las ascosporas siguieran creciendo mientras se medía la longitud de mismos (Dupont, 2000).

### Variables evaluadas

Se evaluó la longitud del tubo germinal de las ascosporas de *P. fijiensis*, así como la eficacia y la concentración específica para determinar la concentración media efectiva al 50 % ( $EC_{50}$ ) de cada fungicida. Se utilizó un microscopio digital (Marca Olympus®, Olympus Scientific Solutions, Waltham, Massachusetts, EUA) con campos ópticos de 10 y 40X, equipado con cámara fotográfica, mediante la cual se digitalizaron las imágenes y se almacenaron en un equipo de cómputo y a través del programa Motic Images se midieron de 100 a 150 plantas germinativas. Esa variable se expresó en  $\mu\text{m}$ . La eficacia biológica de los fungicidas se calculó mediante la fórmula de Abbott (1925), utilizando la longitud del tubo germinativo de los tratamientos y del testigo, que es  $ET = [(ST-st) / st] \times 100$ , donde ET es la eficacia del tratamiento, ST el porcentaje de severidad en el testigo y st el porcentaje de gravedad en cada tratamiento. La  $EC_{50}$  se determinó mediante el programa DL-Probit (Castillo, 2007), que se basa en una regresión lineal. En este programa se insertaron los promedios de la longitud del tubo germinal en cada concentración, así como la del testigo y las dosis de cada fungicida de cada finca evaluada que presenta la  $EC_{50}$ .

### Diseño experimental y análisis de datos

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, donde se alojaron cinco fungicidas (Tebuconazol, Bitertanol, Pirimetanil, Trifloxistrobin y Tridemorf) con cuatro a seis concentraciones (dependiendo del tipo de fungicida) con 100 repeticiones (dos placas Petri). En las cajas Petri se contaron 100 ascosporas, con

excepción del grupo químico de Estrobilurinas, donde se evaluaron 150 ascosporas (Arias, 2000; FRAC, 2006). Con las medidas de longitud del tubo germinal se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) usando el paquete de análisis estadístico SAS versión 9.1; además, se calculó la eficacia de los tratamientos con la prueba de eficacia de Abbott (1925) y la  $EC_{50}$  (Castillo, 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Eficacia de los fungicidas

En el caso del ingrediente activo Tebuconazol, la mayor eficacia (86.9 %) se obtuvo con la dosis de 3 ppm en la UPP 1 (Cuadro 4). El hecho de que el Tebuconazol diera como resultado una eficacia adecuada en la inhibición del tubo germinal de las ascosporas de *P. fijiensis* en las UPP 1 y 3 (Figura 2), se atribuye a que los fungicidas inhibidores de la desmetilación (DMIs) actúan sobre el carbono 14 o 24-metileno-dihidroesterol, un precursor de la biosíntesis de esteroides del hongo, resultando en la inhibición del tubo germinal, lo que coincide con Koller (1992) y Kuck *et al.* (1995), quienes mencionaron que la reducción de los niveles de ergosterol en la estructura del hongo provoca que no se puedan formar las membranas fúngicas y se detiene el crecimiento. La sensibilidad de *P. fijiensis* al Tebuconazol ( $EC_{50}$ ) fue menor a 0.1 ppm. De acuerdo con Calle *et al.* (2004, Com. Pers.)<sup>1</sup>, la pérdida de sensibilidad de un fungicida triazol se manifiesta al observar un aumento significativo de las  $EC_{50}$ .

El Bitertanol mostró su máxima eficacia de 87 % con la dosis de 3 ppm, con mayor sensibilidad al producto en las UPP 1 y 2 (Cuadro 4). El crecimiento del tubo germinativo de las ascosporas de *P. fijiensis* se redujo paulatinamente (Figura 3), lo que se atribuye a que este fungicida es

<sup>1</sup>Calle H., J. Washington y J. Vergara (2004) Monitoreo de sensibilidad de fungicidas a *Mycosphaerella fijiensis* en Ecuador. In: Memorias XVI Reunión Internacional. ACORBAT. 26 de Septiembre - 1 de Octubre, 2004. M. Orozco-Santos, J. Orozco-Romero, M. Robles-González, J. Velázquez-Monreal, V. Medina-Urrutia y J. A. Hernández B. (eds.). Asociación para la Cooperación en Investigaciones del Banano en el Caribe y América Tropical. Oaxaca, México. p:282.

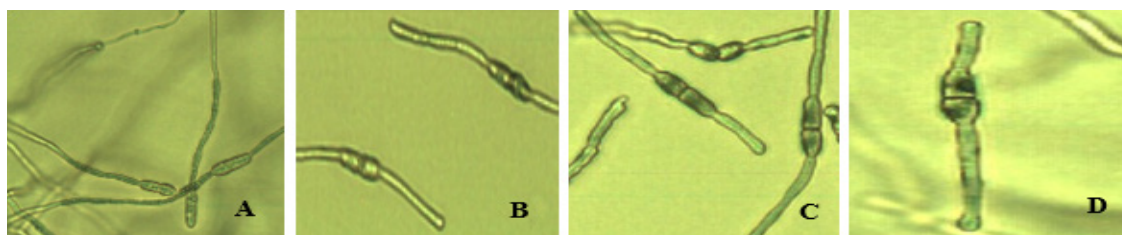


Figura 2. A) germinación de ascosporas en el testigo absoluto, B) en el fungicida Tebuconazol 0.1 ppm, C) 1.0 ppm y D) 3.0 ppm.

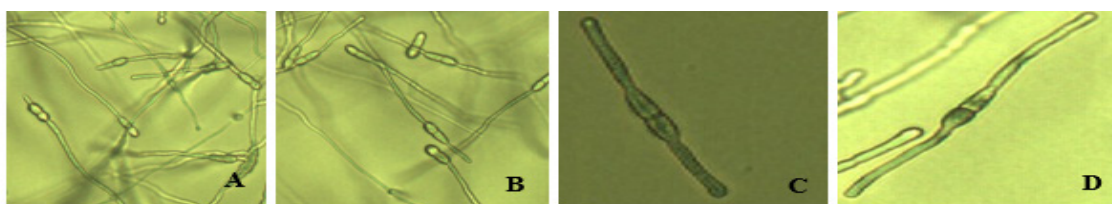
**Cuadro 4. Resultados de la eficacia fungicida *in vitro* contra *P. fijiensis*.**

Fungicidas	UPP 1		UPP 2		UPP 3	
	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)
Tebuconazol	214.2 A	---	203.3 A	---	221.9 A	---
1 (0.01 ppm)	183.2 B	14.48	140.7 B	31.03	158.7 B	28.50
2 (0.03 ppm)	170.6 C	20.56	136.7 B	33.00	131.0 C	40.72
3 (0.1 ppm)	39.7 D	81.75	97.4 C	52.21	0	0
4 (1 ppm)	35.3 DE	83.64	50.8 D	74.87	30.9 D	86.42
5 (3 ppm)	28.4 E	86.91	37.9 E	81.28	33.6 D	85.06
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.08024	---	0.09412	---	0.0569	---
R <sup>2</sup>	0.95	---	0.86	---	0.89	---
CV (%)	15.86	---	22.06	---	25.50	---
DSH	7.18	---	9.92	---	11.39	---
Bitertanol	214.2 A	---	203.3 A	---	221.9 A	---
1 (0.01 ppm)	43.7 B	79.90	46.4 B	77.33	0	0
2 (0.03 ppm)	41.5 B	80.84	0	0	0	0
3 (0.1 ppm)	35.5 C	83.64	42.3 BC	79.31	0	0
4 (1 ppm)	35.3 C	83.70	36.1 CD	82.26	42.8 B	80.99
5 (3 ppm)	28.8 D	86.70	30.9 D	84.72	32.0 C	85.52
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.0001	---	0.0002	---	0.0185	---
R <sup>2</sup>	0.97	---	0.94	---	0.95	---
CV (%)	18.65	---	24.56	---	23.53	---
DSH	5.02	---	6.38	---	7.77	---
Pirimetanil	214.2 A	---	203.3 A	---	221.9 A	---
1 (1 ppm)	122.2 B	42.99	75.1 B	63.05	132.0 B	40.27
2 (3 ppm)	40.0 C	81.30	20.5 C	90.14	3.0 D	98.64
3 (10 ppm)	0.0 D	100	0.00 D	100	13.5 C	94.11
4 (30 ppm)	0.0 D	100	0.00 D	100	0	0
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.64470	---	0.15099	---	1.0205	---
R <sup>2</sup>	0.96	---	0.95	---	0.94	---
CV (%)	21.82	---	29.96	---	28.56	---
DSH	6.36	---	6.94	---	9.67	---
Trifloxistrobin	213.0 A	---	202.6 A	---	221.9 A	---
1 (0.1 ppm)	89.8 B	58.21	39.0 B	80.69	0	
2 (3 ppm)	28.0 C	86.85	3.5 C	98.51	33.3 B	85.06
3 (10 ppm)	0	0	6.4 C	97.02	4.9 C	97.73
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.18230	---	0.00332	---	0.8137	---
R <sup>2</sup>	0.96	---	0.94	---	0.95	---

**Cuadro 4. Continuación.**

Fungicidas	UPP 1		UPP 2		UPP 3	
	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)	LongTG ( $\mu\text{m}$ )	Efectividad (%)
CV (%)	15.50	---	37.32	---	28.38	---
DSH	4.95	---	6.99	---	6.69	---
Tridemorf	214.2 A	---	203.3 A	---	221.9 A	---
1 (0.1 ppm)	127.8 B	40.65	131.8 B	35.46	81.7 B	63.34
2 (0.3 ppm)	44.2 C	79.43	114.6 C	43.84	32.8 C	85.52
3 (1.0 ppm)	0	0	103.9 D	49.26	33.2 C	85.06
4 (10 ppm)	43.2 C	79.90	38.5 E	81.28	11.8 D	95.02
EC <sub>50</sub> (ppm)	0.06208	---	0.56004	---	0.0017	---
R <sup>2</sup>	0.96	---	0.83	---	0.90	---
CV (%)	15.33	---	22.93	---	37.07	---
DSH	6.01	---	10.52	---	10.96	---

Medias con la misma letra en las columnas dentro de cada fungicida son estadísticamente iguales (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). LongTG: longitud de tubo germinativo, R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación, CV: coeficiente de variación, DSH: diferencia significativa honesta.



**Figura 3. A) germinación de ascosporas en el fungicida Bitertanol 0.03 ppm, B) 0.1 ppm, C) 1.0 ppm y D) 3.0 ppm**

sistémico, posee una translocación translaminar e inhibe la biosíntesis del ergosterol. Marín y Romero (1996) explicaron que el Bitertanol es un fungicida que actúa inhibiendo el proceso de metilación; sin embargo, autores como Pérez *et al.* (2006) aseguran la ocurrencia de pérdida de sensibilidad de *P. fijiensis* a los fungicidas tipo triazoles.

Los tratamientos a 10 y 30 ppm del ingrediente activo Pirimetanil demostraron una eficacia del 100 % (Cuadro 4; Figura 4); ésto se debió a que las concentraciones que se utilizaron fueron altas, pues en el transcurso de la investigación el uso de Pirimetanil en la zona de estudio era reciente, además de ser un fungicida localmente sistémico con acción translaminar, lo que hace que el riesgo de resistencia sea medio (Orozco-Santos *et al.*, 2013). Este ingrediente activo bloquea la capacidad del hongo para degradar y digerir los tejidos de la planta, deteniendo de esta manera la penetración del tubo germinativo y el desarrollo de la enfermedad (Fritz *et al.*, 1997; Leroux, 2007). La sensibilidad del hongo *P. fijiensis* a las anilino pirimidinas (Pirimetanil) es alta en las áreas productoras de bananos en el continente americano (FRAC, 2012). Los valores de

la CE<sub>50</sub> mostraron un alto nivel de sensibilidad del hongo al ingrediente activo Pirimetanil ya que según el FRAC (2006) las dosis a 10 y 30 ppm son muy bajas.

El Trifloxystrobin en una dosis de 10 ppm dio como resultado que en las UPP 2 y 3 se obtuvieron eficacias del 97 y 98 %, respectivamente (Figura 5; Cuadro 4). Según Washington *et al.* (1998), este compuesto actúa en la producción de energía, por lo que inhibe las primeras etapas de crecimiento del tubo germinativo de *P. fijiensis* e impide su penetración en la hoja, por lo que existe una alta sensibilidad de dicho hongo al fungicida; sin embargo, presenta un alto riesgo de generar poblaciones del hongo resistentes con resistencia cruzada positiva entre moléculas de este grupo (FRAC, 2013). Se ha reportado pérdida de sensibilidad a estrobilurinas en Costa Rica, Panamá, Guatemala, Colombia, Ecuador, Honduras y Belice (FRAC, 2012).

La dosis de 10 ppm del ingrediente activo Tridemorf mostró una eficacia de 95% en la UPP3, así como una mayor sensibilidad al producto (Cuadro 4; Figura 6). A medida



Figura 4. A) germinación de ascosporas en el fungicida Pirimetanil 3 ppm, B) 10 ppm y C) 30 ppm.



Figura 5. A) germinación de ascosporas en el fungicida Trifloxistrobin 3 ppm, B) 10 ppm.

que aumentó la concentración de fungicida, la longitud del tubo germinal disminuyó gradualmente, debido a que las ascosporas no lograron formar una pared celular que asegurara la supervivencia de cada célula que formaba el tubo germinativo, lo que inhibió su desarrollo. Calle *et al.* (2004) explicaron que las aminas actúan en la inhibición de dos etapas diferentes en la biosíntesis del ergosterol, por lo que la generación de cepas resistentes a este grupo es menos probable; además, es importante mencionar que en el año 2013 el ingrediente activo Tridemorf era el único fungicida utilizado en el cultivo del plátano para el control de *P. fijiensis* en México (Orozco-Santos *et al.*, 2013).

### CONCLUSIONES

Los fungicidas Tebuconazol y Bitertanol fueron mejores en la UPP 1, Pirimetanil lo fue en las UPP 1 y 2, Trifloxistrobin en la UPP 3 y Tridemorf en la UPP 3, debido a que inhibieron

en mayor grado el crecimiento del tubo germinativo de *P. fijiensis*, por lo que mostraron las mayores eficiencias de inhibición. El fungicida Pirimetanil permitió el menor crecimiento del tubo germinativo de las ascosporas de *P. fijiensis* en las tres UPP, lo que resultó en una eficacia de inhibición del tubo germinativo mayor que los otros fungicidas.

### BIBLIOGRAFÍA

- Abbot W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267, <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Alakonya A. E., J. Kimunye, G. Mahuku, D. Amah, B. Uwimana, A. Brown and R. Swennen (2018) Progress in understanding *Pseudocercospora* banana pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. *Plant Pathology* 67:757-770, <https://doi.org/10.1111/ppa.12824>
- Arias O. (2000) Monitoreo de resistencia de sigatoka negra. Bayer. San José, Costa Rica. 32 p.
- Castillo L. E. (2007) Introducción al SAS para Windows. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56 p.

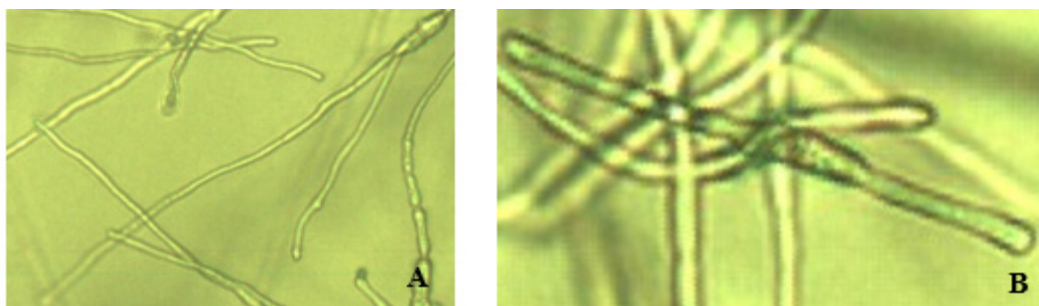


Figura 6. A) germinación de ascosporas en el fungicida Tridemorf 0.3 ppm y B) 10 ppm.



- CEDRSSA, Centro de Estudios para el Desarrollo Sustentable y la Soberanía Alimentaria (2019) La Producción y el Comercio de Plátano. Centro de Estudios para el Desarrollo Sustentable y la Soberanía Alimentaria. H. Congreso de la Unión. Ciudad de México. 12 p.
- Dupont (2000) Black and yellow sigatoka. Improved identification and management techniques. Dupont. Germany. 17 p.
- Escobar-Tovar L., D. Magaña Ortiz, F. Fernández, M. Guzmán-Quesada, J. A. Sandoval-Fernández, E. Ortiz-Vázquez, ... and M. A. Gómez-Lim (2015) Efficient transformation of *Mycosphaerella fijiensis* by underwater shock waves. *Journal of Microbiological Methods* 119:98-105, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.10.006>
- Fouré E. (1985) Black leaf streak disease of bananas and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. Institut de Recherche France-Asie. Paris, France. 23 p.
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee (2006) FRAC Recommendations for bananas. Banana Working Group. Miami, Florida, USA. 10 p.
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee (2012) Summary of FRAC Guidelines for Banana in 2012. Banana Working Group. Fungicide Resistance Action Committee. Brussels, Belgium. <https://www.frac.info/knowledge-database/downloads> (May, 2021).
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee (2013) FRAC Code List ©2012: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Fungicide Resistance Action Committee. <http://www.phi-base.org/images/fracCodeList.pdf> (May 2021).
- French E. R and T. T. Hebert (1982) Métodos de Investigación Fitopatológica. IICA/CATIE. San José, Costa Rica. 290 p.
- Fritz R., C. Lanen, V. Colas and P. Leroux (1997) Inhibition of methionine biosynthesis in *Botrytis cinerea* by the anilinopyrimidine fungicide pyrimethanil. *Pesticide Science* 49:40-46, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199701\)49:1<40::AID-PS470>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199701)49:1<40::AID-PS470>3.0.CO;2-Y)
- Gauhl F. (1989) Epidemiología y Ecología de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en Plátano (*Musa sp.*) en Costa Rica. Unión de Países Exportadores de Banano. Panamá, Panamá. 114 p.
- Hidalgo M., A. Tapia, W. Rodríguez y E. Serrano (2006) Efecto de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (*Musa sp.* AAA, cv. Valery). *Agronomía Costarricense* 30:35-41.
- Kablan L., A. Lagauche, B. Delvaux and A. Legrève (2012) Silicon reduces black Sigatoka development in banana. *Plant Disease* 96:273-278, <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-11-0274>
- Koller W. D. (1992) Target research in the discovery and development of antifungal inhibitors. In: Target Sites of Fungicide Action. W. D. Koller (ed.). CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. pp: 225-310.
- Kuck K. H., H. Scheinplugg and R. Pontzen (1995) DMI fungicides. In: Modern Selective Fungicides - Properties, Applications, Mechanisms of Action. H. Lyr (ed). Verlag. Jena, Germany. pp:205-258.
- Leroux P. (2007) Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: *Botrytis*: Pathology and Control. Y. Elad, B. Williamson, B. Tudzynski and N. Delen (eds.). Springer. Dordrecht. Netherlands. pp:195-222, [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3_12)
- Manzo-Sánchez G., M. Orozco-Santos, I. Islas-Flores, L. Martínez-Bolaños, S. Guzmán-González, C. L. Leopardi-Verde and B. Canto-Canché (2019) Genetic variability of *Pseudocercospora fijiensis*, the black Sigatoka pathogen of banana (*Musa spp.*) in Mexico. *Plant Pathology* 68:513-522, <https://doi.org/10.1111/ppa.12965>
- Marín D. H. y R. A. Romero (1996) El combate de la sigatoka negra. Boletín No. 4. CORBANA. San José, Costa Rica. 21 p.
- Marín D. H., R. A. Romero, M. Guzmán and T. B. Sutton (2003) Black Sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. *Plant Disease* 87:208-222, <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.208>
- Martínez I. y M. Guzmán (2010) Efecto de la fertilización foliar con tres fuentes de silicio sobre la severidad de la Sigatoka negra, el crecimiento y la producción del banano (*Musa* AAA, cv. Grande Naine). CORBANA. San José, Costa Rica. 175 p.
- Martínez P. G. y S. Chávez N. (2020) Beneficios contables y fiscales de los contribuyentes de negocios plataneros en México. *Revista Perspectiva Empresarial* 7:61-71, <https://doi.org/10.16967/23898186.628>
- Martínez-Bolaños L., D. Téliz-Ortiz, J. C. Rodríguez-Maciél, J. A. Mora-Aguilera, D. Nieto-Angel, J. I. Cortés-Flores, ... and G. Silva-Aguayo (2012) Resistencia a fungicidas en poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* del sureste mexicano. *Agrociencia* 46:707-717.
- Meredith D. S. (1970) Banana Leaf Spot Disease (Sigatoka) Caused by *Mycosphaerella musicola* Leach. Commonwealth Mycological Institute. Wallingford, UK. 147 p.
- Orozco-Santos M., J. Orozco-Romero, Z. O. Pérez-Zamora, G. Manzo-Sánchez, J. Farías-Larios y W. S. Moraes (2008) Prácticas culturales para el manejo de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. *Tropical Plant Pathology* 33:186-196, <https://doi.org/10.1590/S1982-56762008000300003>
- Orozco-Santos M., K. García-Mariscal, G. Manzo-Sánchez, S. Guzmán-González, L. Martínez-Bolaños, M. Beltrán-García, ... y C. B. Canto (2013) La Sigatoka Negra y su Manejo Integrado en Banano. Campo Experimental Tecomán, INIFAP. Tecomán, Colima, México. 147 p.
- Pérez L., A. Batlle, A. Hernández, M. Pérez, R. Trujillo, C. Álvarez y A. Méndez (2003) Evolución de la sensibilidad a fungicidas de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en banano en Cuba. *Fitosanidad* 7:49-54.
- Rodríguez-Gaviria A. y G. Cayón (2008) Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano. *Agronomía Colombiana* 26:256-265.
- Stover R. H. (1972) Banana, Plantain and Abaca Diseases. Commonwealth Mycological Institute. Kew, UK. 316 p.
- Stover R. H. (1980) Sigatoka leaf spot of banana and plantains. *Plant Disease* 64:750-756.
- Trusfield M. (2018) Veterinary Epidemiology. Wiley Blackwell Publishing. Oxford, UK. 888 p.
- Washington J. R., J. Cruz, F. Lopez and M. Fajardo (1998) Infection studies of *Mycosphaerella fijiensis* on banana and the control of black Sigatoka with chlorothalonil. *Plant Disease* 82:1185-1190, <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.11.1185>

