UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TRABAJO DE TITULACIÓN

"CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Mycosphaerella* spp., DEL CULTIVO DE BANANO EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

AUTOR:
JIMMY ANTONIO ESPINOSA SUÁREZ

DIRECTOR:
ING. AGR. EDWIN JARAMILLO AGUILAR MG. SC

2015

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TRABAJO DE TITULACIÓN SOMETIDA A CONSIDERACION DEL H. CONSEJO DIRECTIVO DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

"CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Mycosphaerella* spp., DEL CULTIVO DE BANANO EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

AUTOR:

JIMMY ANTONIO ESPINOSA SUÁREZ

DIRECTOR:

ING. AGR. EDWIN JARAMILLO AGUILAR MG. SC

2015

CERTIFICACIÓN

Este trabajo de titulación ha sido aprobado en forma presente por el tribunal de grado nominado por el Honorable Consejo Directivo de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, como requisito parcial para optar al Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Ing. Agr. Edwin Jaramillo Aguilar., Mg. Sc.
DIRECTOR

Ing. Arg. Abrahán Cervantes Álava., Mg. Sc.
MIEMBRO TRIBUNAL

Ing. Agr. Sara Castillo Herrera., Mg. Sc.
MIEMBRO TRIBUNAL

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se lo dedico a la autora de todos mis días mi señora madre Sra. Ing. Martha Suárez Villota que me ha dado ejemplo de esfuerzo y superación, mujer que a pesar de todas las vicisitudes que la vida le puso en su camino supo salir adelante, dándonos ejemplo haciéndose profesional con sus propios medios, diciéndonos con esto que nunca es tarde para empezar y que todo lo que se quiere se puede, a ti que confiaste en mí persona y me has dado un apoyo incondicional en toda mi vida, a mi hijo José para darle el ejemplo que mi madre me dio y empiece a demostrar que si puede superarse.

A todas las personas que supieron en su momento tener una frase de aliento para continuar mis estudios para alcanzar una de las más importantes metas de mi vida.

Jimmy Antonio Espinosa Suárez

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios por darme la vida y salud, a mi querida Facultad que me formo como profesional dándome una oportunidad para enfrentar un mundo adverso, a mis profesores que sin egoísmo impartieron sus conocimientos cada día en las aulas.

Son muchas personas a las que le debo agradecer la culminación de mi carrera sin embargo tengo que destacar a la Ing. Agr. Sara Castillo Herrera que es una persona que siempre tuvo un buen consejo y ayuda para mi tesis.

Agradezco a mi amigo y director de tesis Ing. Agr. Edison Jaramillo Aguilar que me guio en cada momento y proceso de este proyecto de investigación, siempre estaré agradecido también de tener la suerte de haber tenido la asistencia técnica de un científico como el Dr. Manabu Kusonoki PhD., brindándome sus conocimientos en cuanto a las técnicas y métodos para llevar a cabo este ensayo, agradecer al Ing. Abrahán Cervantes Álava miembro de mi tribunal por sus correcciones y asesoría profesional en mi trabajo de tesis.

A mi compañero y amigo Ing. Agr. Daniel Gómez Zambrano por su ayuda desinteresada en mi proyecto mil gracias, al destino por haber tenido la oportunidad de compartir las aulas con grandes compañeros, grandes amigos y seguro ya buenos profesionales.

Jimmy Antonio Espinosa Suárez

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS DE GRADO Y TRABAJOS DE TITULACIÓN

Consigno con el presente escrito la cesión de los Derechos de Tesis de grado/ Trabajo de Titulación, de conformidad con las siguientes clausulas:

PRIMERA

Por sus propios derechos y en calidad de Director de Tesis el Ing. Agr. Edwin Jaramillo Aguilar. Mg. Sc. y el tesista Sr. Jimmy Antonio Espinosa Suárez, por sus propios derechos, en calidad de Autor de tesis.

SEGUNDA

El tesista Sr. Jimmy Antonio Espinosa Suárez, realizó la Tesis Titulada **"CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Mycosphaerella* spp., DEL CULTIVO DE BANANO EN CONDICIONES DE LABORATORIO"**, para optar por el título de Ingeniero Agrónomo, en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, bajo dirección del Docente Ing. Agr. Edwin Jaramillo Aguilar. Mg. Sc., es política de la Universidad que la Tesis de Grado se aplique y materialice en beneficio de la colectividad.

Los comparecientes Ing. Agr. Edwin Jaramillo Aguilar., Mg. Sc., como Director de Tesis y el tesista Sr. Jimmy Antonio Espinosa Suárez, como autor de la misma, por medio del presente instrumento, tienen a bien ceder en forma gratuita sus derechos en la Tesis de Grado titulada **"CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE *Mycosphaerella* spp., DEL CULTIVO DE BANANO EN CONDICIONES DE LABORATORIO"**, a favor a la U. Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala y conceden autorización para que la Universidad pueda utilizar esta Tesis en su favor y/o de la colectividad, sin reserva alguna.

APROBACIÓN

Las partes declaran que reconocen expresamente todo lo estipulado en la presente Cesión de Derechos.

Para constancia suscriben la presente Cesión de Derechos en la ciudad de Machala a los ……. días del mes de …….. del año 2015.

Ing. Agr. Edwin Jaramillo Aguilar. Mg. Sc.	Sr. Jimmy Antonio Espinosa Suárez
DIRECTOR DE TESIS	AUTOR

El contenido del presente trabajo de investigación, resultados y conclusiones del mismo pertenece única y exclusivamente a su autor.

Jimmy Antonio Espinosa Suárez

ÍNDICE DE CONTENIDO

Tema	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1. Materiales	10
3.1.1. Localización del estudio	10
3.1.2. Ubicación geográfica	10
3.1.3. Clima y ecología	10
3.1.4. Materiales a utilizar	10
3.1.5. Tratamientos	11
3.1.6. Variables a evaluadas	11
3.1.7. Medición de variables	12
3.2. Métodos	12
3.2.1. Metodología para cumplir con el primer objetivo	12
3.2.2. Metodología para cumplir con el segundo objetivo	13
3.2.3. Diseño experimental	14
3.2.3.1. Modelos matemático	14
3.2.3.2. Hipótesis	14
3.2.3.3. Análisis de varianza	15
3.2.3.4. Análisis estadístico	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 ddi	16
4.2. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 ddi	18
4.3. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 ddi	20
4.4. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 ddi	22
4.5. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 ddi	24
4.6. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 ddi	26
5. CONCLUSIONES	29
6. RESUMEN	30
7. SUMMARY	31
8. BIBLIOGRAFÍA	32
APÉNDICES	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros **Página**

1. Tratamientos utilizados en control químico y biológico en control de *Myscospherella* spp., en condiciones de laboratorio. 11
2. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 10 ddi. 16
3. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 10 ddi. 17
4. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 20 ddi. 18
5. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 20 ddi. 19
6. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 30 ddi. 20
7. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 30 ddi. 21
8. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 10 ddi. 22
9. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 10 ddi. 23
10. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 20 ddi. 24
11. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 20 ddi. 25
12. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 30 ddi. 26
13. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 30 ddi. 27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras **Página**

1. Ciclo de la enfermedad de la Sigatoka negra 4
2. Estadios de la enfermedad de la sigatoka negra descrita por Fouré, (1982). 5
3. Procedimiento en el aislado de *Mycosphaerella* spp., en medio de cultivo PDA 12
4. Evaluación de los fungicidas químicos y biológicos ante *Mycosphaerella* spp. 13
5. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 10 ddi. 16
6. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 20 ddi. 18
7. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 30 ddi. 20
8. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.,* cada 10 ddi. 22
9. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.,* cada 20 ddi. 24
10. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.,* cada 30 ddi. 26
11. Resultados de la eficacia en control fungicidas químico y biológicos frente a *Mycosphaerella* spp. 37
12. Medio de Cultivo PDA. 38
13. PDA en punto de ebullición 38
14. Cámara de flujo laminar 38
15. Medición de volúmenes productos. 38
16. PDA® comercial 38
17. Siembra de *Mycosphaerella* spp., en PDA 38

1. INTRODUCCIÓN

El banano es una fruta de gran importancia nacional ya que es un producto de exportación que genera entradas de divisas a nuestro país (A.B.E.E, 2014). Su producción involucra un sin número de aspectos técnicos, en el que se encuentra mal control de plagas y enfermedades. Siendo la enfermedad conocida como Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), un problema fitopatológico que representa un rubro muy alto en el costo de producción generando pérdidas en los bananeros del país.

Esta enfermedad ataca las hojas de las plantas causando un necrosamiento matando a las mismas en periodos de tres a cuatro semanas, lo cual afecta el vigor vegetativo de la planta, maduración precoz, pérdida de peso de los racimos disminuyendo la calidad de fruta para la exportación (Stover y Ghaulr, 1974). Las condiciones para que se desarrolle esta enfermedad son humedad favorable, es por eso que la lluvia influye en la liberación de inoculo, permitiendo que esta enfermedad se desarrolle, las temperaturas apropiadas son de 18° a 28° C. para que se desarrolle óptimamente (Stover, 1980).

Hay algunas alternativas para el control de esta enfermedad entre ellas, las labores de campo, controles químicos y biológico; pero esta enfermedad presenta cada vez resistencia a la aplicación continua de ciertos productos por lo cual es imprescindible la utilización de moléculas diferentes para su control.

No hay un criterio generalizado para la utilización de los productos que se encuentran en el mercado pero si se tiene la posibilidad de demostrar en campo o laboratorio la eficacia de estas moléculas. De esta manera se plantea los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Control químico y biológico de *Mycosphaerella* spp., del cultivo de banano en condiciones de laboratorio.

Objetivos específicos:

1. Aislar "*In Vitro*" *Mycosphaerella spp*., agente causal de la enfermedad de la Sigatoka negra en el cultivo de banano, usando como medio de cultivo P.D.A. (papa+dextrosa+agar).

2. Evaluar la eficacia de fungicidas químicos y biológicos en el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella spp*.).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

Muñoz (2015), indica que obtuvo los resultados en los 28 días después de la aplicación de los productos del grupo químico Aminas, se observó que Volley® presentó el valor más bajo de infección con 9,99%, Seeker® presentó 11,93% de infección, Calixin® presentó 15,94% de infección, mientras que el testigo absoluto presentó 28,91% de infección.

Cobos (2010), manifiesta que en su trabajo de investigación de determinar la eficiencia de las cepas de *Trichoderma* spp. en contra el patógeno *P. fijiensis*, obtuvo tres mejores cepas del hongo antagonista que provocaron un menor crecimiento de acuerdo a los mayores y menores incrementos del hongo antagonista (*Trichoderma* spp.) vs patógeno (*Paracercospora fijiensis*), dando como resultado que los tratamientos T_4 (Cepa de *Trichoderma viride*), T_9 y T_{11} (cepas de *Trichoderma asperellum*) correspondientes a las cepas recolectadas en las localidades de Pasaje, Machala y Bonanza presentaron diferencias estadísticas significativas y demostrando de igual manera una mayor capacidad antagónica frente al patógeno.

Acosta *et al,* 2004 indica que los conidios de *P. fijiensis*, patógeno causante de la enfermedad de la Sigatoka negra (asexual), se pueden obtener "*in vitro"* a 20 ºC a partir de los 10 días de incubación en los medios de cultivo agar, papa, zanahoria, agar V-8 modificado y papa, dextrosa, agar, pero observando una notoria de mayor concentración de conidios con papa, dextrosa y agar (PDA) en los 20 días de incubación a 20 ºC.

Gómez, 2015 manifiesta que logro obtener micelios de *Mycosphaerella* spp., "*in vitro*" incubados a 25 °C a partir de los 15 días en medio de cultivo PDA (papa+dextrosa+agar) y la reproducción de inóculo en sustrato sólido como es granos cebada triturado en 35 días incubados a 25 °C, para realizar las evaluaciones de técnicas de inoculación artificial de Sigatoka negra sobre plántulas de banano de la variedad Williams de 9 semanas de edad.

La enfermedad de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), este hongo fue identificado por primera vez en nuestro país Ecuador por la década de 1987 el día 30 de enero, en la hacienda "El Timbre" ubicada en la provincia de Esmeraldas (Núñez, 1989) citados por (Núñez, 2015), ya en la actualidad este enfermedad alcanzado ya al más del 50 % de la bananeras del país que son aproximadamente 120 mil hectáreas incluyendo las bananeras ubicadas en la región insular de Galápagos (Asociación de exportadores de banano del Ecuador A.B.E.E., 2014).

El agente causal de la enfermedad de la Sigatoka negra es el patógeno de la clase ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (anamorfo es *Paracercospora fijiensis* M.) enfermando a todas la variedades de bananos (Aguirre, 2003), para su reproducción tiene dos tipos de esporas la sexual que la hace por medio de ascosporas en formaciones llamadas peritecios la cuales la principal fuente de inoculo y dispersión de esta enfermedad; y la fase asexual en estructuras llamas conidióforos es están formadas con esporas con el nombre de conidias que muestra los primero síntomas de esta enfermedad con la aparición de pizcas en los estomas del envés de hoja (Agrios, 2002).

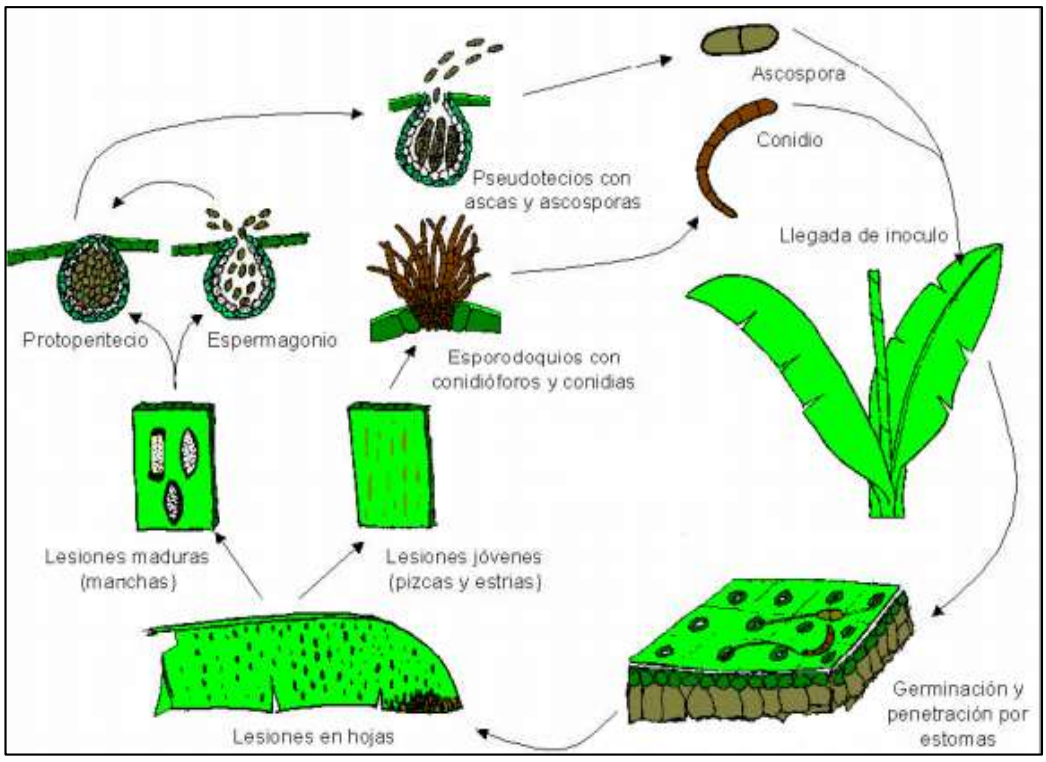


Figura. 1. Ciclo de la enfermedad de la Sigatoka negra (Bornacelly, 2009) citado por (Cedeño, 2010)

La Sigatoka negra es un enfermedad que genera grandes daños en el follaje de las plantas de bananos, destruyendo su la capacidad fotosintética y también la respiración, reduciendo la producción, rendimiento y la calidad del fruta si es que la infección llega sobre las hojas más jóvenes, la producción sería una pérdida total. La maduración rápida de la fruta afecta a los mercados de exportación. (Suquilanda, 2001).

Alexopoulos, *et al*., (1996) citado por Meléndez, (1999) indica que la sigatoka negra pertenece a la familia Ascomiceto del orden Dothideales, de la familia Mycosphaerellaceae, del género Mycosphaerella y de las especies sexual *Mycosphaerella fijiensis* (teliomorfo) y asexual *Paracercospora fijiensis* (anamorfo).

La caracterización de la progreso de los síntomas de la Sigatoka negra ha sido realizada por diferentes autores (Meredith y Lawrence, 1969) de Hawaii; (Stover y Dickson, 1976) en Honduras; (Mulder y Stover, 1976) con material de diferentes procedencias; (Fouré, 1982) en Gabón.

Con los criterios de (Fouré, 1982) las características de los síntomas son conocidos por seis diferentes estadios de desarrollo de la infección los cuales son los siguientes:

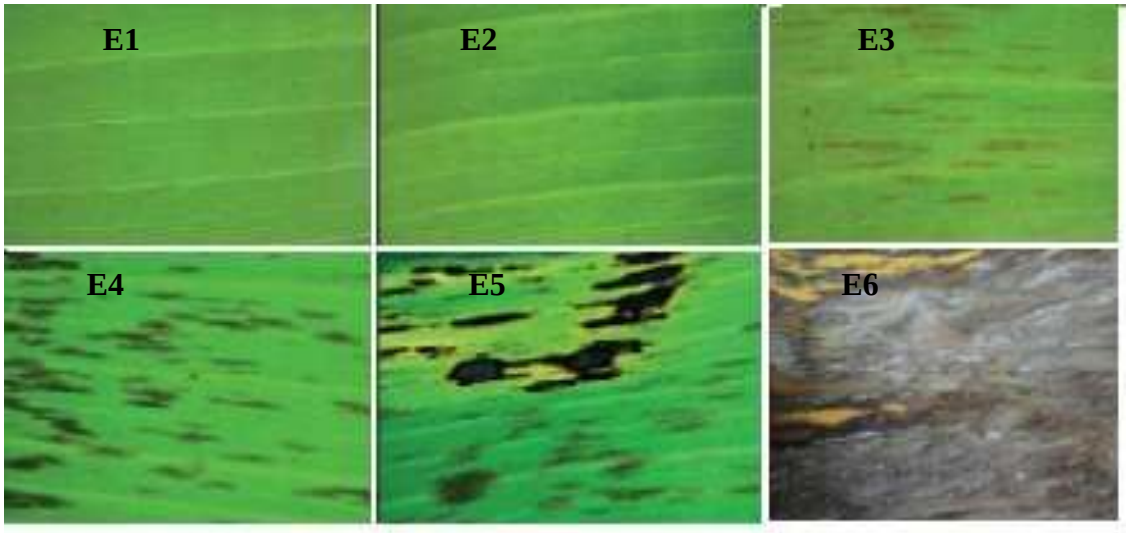


Figura 2. Estadios de la enfermedad de la sigatoka negra descrita por Fouré, (1982).

- **Estadio 1.** La aparición de pequeñas pecas de forma irregular de color amarillo pálido de un tamaño de 0.25 mm llamado “pizcas”, casi siempre aparecen en las hojas 3 y 4.

Estas pecas se alargan y alcanzan aproximadamente 1 mm de longitud, tomando las características de una raya pardo rojiza y no son visibles por el haz.

- **Estadio 2.** La raya se alarga hasta tomar una longitud variable hasta llegar 2 mm de ancho paralelas a las venas de la hoja. La principal característica del estado es que ya las rayas son visibles por el haz de las hojas y siguen manteniendo su color pardo rojizo-café

- **Estadio 3.** Las estrías o rayas se hacen más larga y anchan, bajo condiciones climáticas favorables, alcanza una longitud de 2 a 3 cm y de 2 mm de ancho. Este estadio aparecen los conidióforos. En envés sigue siendo de color café rojizo en el haz se presenta de color negro

- **Estadio 4.** Es el primer estado de mancha. Las rayas se ensanchan y toman un contorno, más o menos redondeado, elíptico o fusiforme. La transición de rayas a manchas es caracterizada por el desarrollo de un borde acuoso o pardo claro alrededor de la mancha

- **Estadio 5.** La mancha es elíptica que se vuelve totalmente negra visible en el haz y envés de la hoja. Esta mancha tiene un halo amarillo que la rodea y su centro comienza a deprimirse. Este estado caracteriza el color oscuro casi negro, que toma el follaje de las plantas afectadas seriamente por la enfermedad.

- **Estadio 6.** El centro de la mancha se seca, adquiere un color gris claro que después de deprime, rodea un anillo bien definido de color negro, rodeado a su vez por un halo de color amarillo brillante. Impidiendo que realiza la fotosíntesis y depender de las reservas de la plantas reduciendo la producción y cálida de la fruta.

Agrios, (2002) manifiesta que la enfermedad se puede controlar usando una combinación de técnicas o métodos que incluyen cuarentenas, saneamiento por eliminación y destrucción de hojas con síntomas de infección y principalmente mediante la aplicación frecuente de aspersiones con fungicidas durante todo el año.En objetivo principal del control químico de esta enfermedad de la Sigatoka negra es de detener la producción de las esporas del patógeno, así haya ocurrido la infección (Orozco, 1998).

Para el control químico la principal herramienta es mediante la utilización alternada de fungicidas protectantes y sistémico, pero el hongo se hace más agresivo y resistentes a los fungicidas sistémicos de cierto grupos químicos por lo que le mercado han incorporado otros fungicidas del grupo de la Aminas y anilinopirimidinas (Martínez y Guzmán, 2010).

Pérez y Mauri, (1994) indican que los fungicidas son de diferentes grupos como son los: triazoles, morfolinas, benzimidazoles, tiofanatos, carbamatos y el clorotalonil. Los del triazol (son inhibidores de la síntesis de ergosterol), han mostrado el mejor nivel de eficacia contra *M. fijiensis*. Tienen una alta actividad inhibitoria sobre el crecimiento de los filamentos germinativos y la inhibición del desarrollo de fructificaciones, así como sobre el tamaño de las manchas foliares.

Las investigación científicas dirigidas al desarrollo de control biológico de la enfermedad de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* M.), son limitadas por que los métodos de control químico son más efectivos y económicos. Pero en cambio el método biológico de control es principalmente para protección del medio ambiente. Probablemente es difícil el éxito de control de esta enfermedad es susceptible al banano y está presente todo el años (Suquilanda, 2001).

Descripción de los productos utilizados:

Seeker® 750 EC, fungicida sistémico y traslaminar de amplio espectro de acción, brinda un control efectivo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo de banano, su ingrediente activo es el Fenpropidin que pertenece al grupo químico de las Piperidinas, concentrado emulsionante con 750 gramos de ingrediente activo por litro (g/l), su mecanismo de acción en la inhibición de la biosíntesis de esterol del hongo, la dosis es de 0.6 L/Ha, puede ser aplicado en emulsión agua-aceite o en suspensión en aceite con un volumen adecuado de 12 a 15 L/Ha y para emulsión 20 L/Ha de cuales 8 litros son de aceite (Ecuaquimica, 2015).

Tilt® 250 EC, fungicida sistémico de acción curativo que controla enfermedades como la roya en cebada y café, mancha del grano en el arroz, macha de asfalto en el maíz, Sigatoka amarilla y negra en cultivo de banano, su ingrediente activo es Propiconazol del grupo químico de Triazoles, emulsión concentrada que contiene 250 g de ingrediente activo por litro

de producto comercial, su mecanismo de acción inhibe el desarrollo de haustorios secundarios de los patógenos, es decir que detiene las enfermedades aún cuando ya hayan iniciado su proceso de infección dentro de los tejidos de la planta, su dosis es 0.4 L/ha (Ecuaquimica, 2015).

Volley® 88 OL, fungicida sistémico de acción preventivo y curativo de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo de banano, su ingrediente activo es el Fenpropimorf perteneciente al grupo químico de las Morfolinas, es liquido miscible en aceite que contiene 880 gramos de ingrediente activo por litro de producto comercial, es absorbido por las hojas y trasladados a través de los tejidos vegetal, se puede mezclar en suspensión con aceite agrícola puro o en emulsiones aceite-agua adicionando un emulsificante, su dosis 0.5 l/ha (BASF, 2015).

Sico® 250 EC, fungicida sistémico de acción preventivo y curativo de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* M.) en el cultivo de banano, su ingrediente activo es el Difenoconazole del grupo de los triazoles, concentrado emulsionable, que contiene 250 g de denoconazole, por litro de producto comercial, su mecanismo de acción es tomado por las plantas y actúa sobre el patógeno durante la penetración y formación de haustorios. Detiene el desarrollo del hongo por interferencia de la biosíntesis de esteroles en las membranas celulares, la dosis es de 0.3-0.4 l/ha (Ecuaquimica, 2015).

Extracto de sábila (*Aloe vera L.*), el compuesto anti fúngico es Aloína, también aproximadamente 200 elementos que la componen. El análisis fotoquímico de la sábila refleja que contiene proteínas en 0.013 %, polisacáridos 0.2 – 0.3 %, resinas 40 – 80 %, **aloína 20 %**, aceites esenciales, alcaloides, glucósidos cardiotónicos, taninos, glucosa, agua y otros (Retamar, 1995).

Los áloes muestran una actividad inhibitoria de algunos *Bacillus*, bloqueando la síntesis de los ácidos nucleídos en las bacterias, acción debida probablemente a las antraquinonas. El conjunto de antraquinonas (aloin, barbaloin y ácido aloético) produce un efecto antibiótico y antiviral. La saponina y aloetina presentan un carácter antiséptico y un amplio espectro antimicrobiano (bactericida y antivirosa) estos compuestos neutralizan el efecto de las toxinas microbianas. Se ha demostrado que desde el punto de vista biológico los taninos están

relacionados con la resistencia de las plantas a las infecciones y se consideran potentes agentes antifúngicos (Castillo, 2002).

Trichoderma spp., son hongos anaeróbicos, cuya taxonomía pertenece al Reino Fungí, División Mycota, de la Clase Deuteromicetes, Orden Moniliales y del Genero Trichoderma, no posee fase sexual determina, su fase perfecta (Telomorfo) lo clasifican en la clase Ascomycetes, Serie Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género Hypocrea (Villegas, 2000).

Trichoderma spp., para varios ensayistas es un "biocontrolador", ya que es un hongo de fácil cultivo adaptables a varios medios de cultivos de desarrollo rápido en varios sustratos, no es patógeno en plantas superior, lo cual actúa como micoparásito y compite con los fuentes de nutrientes, su poder enzimático puede atacar una gran cantidad de fitopatógenos (Falconí, 1997).

Cepas con conidios de *Trichoderma* spp., con una concentración de $1x10^9$ conidios viables por gr. Su modo de acción es de fungicida biológico que produce ruptura de las paredes hifales del hongo fitoparásito, lo penetra con sus propias hifas y aprovecha los nutrientes de este y lo rompe. Simultáneamente produce sustancias de tipo antibiótico tal como *Trichodermin* y *Harzianopiridona* que causan un efecto fungistasis sobre el fitopatógeno y enzimas de tipo lítico que son capaces de destruir los esclerocios o estructuras de resistencia del fitopatógeno (Laboratorios San Pablo, 2015).

El género *Trichoderma* tiene buenas capacidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora, Rhizoctonia, Sclerotium, Pythium y Fusarium* entre otros (Ezziyyani et al,. 2004)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES.

3.1.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

Esta investigación la realice en el laboratorio de fitopatología de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, ubicada en la parroquia El Cambio a 5,5 km del cantón Machala, provincia de El Oro, región siete.

3.1.2 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

La ubicación geográfica del ensayo está ubicada en las siguientes coordenadas:

C. UTM		C. Geográficas	
Latitud sur:	6166612595 UTMASA	Latitud:	03°17’31.0”S
Longitud oeste:	96388663965 UTMASA	Longitud:	79°54’52.9”W
		Altitud:	11 m snm

3.1.3 CLIMA Y ECOLOGÍA

Según la zona de vida natural de Holdridge y el mapa ecológico del Ecuador, corresponde a un monte espinoso Tropical (me – T) con temperatura de 24 a 25° C, una precipitación de 400 a 500 mm anuales y humedad relativa de 80 %.

3.1.4 MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS

Para obtener muestras de hongo se usó hojas de banano con síntomas del patógeno de *Mycosphaerella spp.* (UTM-N3 y PAJ-1), el medio de cultivo usado fue papa dextrosa agar (PDA), para la esterilización del medio y materiales se utilizaron autoclave 121 °C, alcohol, etanol 70%, hipoclorito de sodio 1%, agua destilada esterilizada, mechero de alcohol, para la

medición de volúmenes fueron pipetas, erlenmeyer, para la realización del bioensayo se utilizó una cámara de flujo laminar, incubadora 25-28 °C, cajas de petri, tubos de ensayos, asa para garantizar condiciones estériles, para la medición del diámetro de las colonias con una regla, los fungicidas químico utilizados Seeker®, Sico®, Tilt®, Volley®, y los fungicidas biológicos usados fueron el extracto de *Aloe vera* y Cepa de *Trichoderma* spp.

3.1.5 TRATAMIENTOS

Los tratamientos consistieron en dos concentraciones de fungicidas químicos y biológicos los cuales fueron los siguientes:

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en control químico y biológico en control de *Myscospherella* spp., en condiciones de laboratorio. 2015

CODIGO	NOMBRE COMERCIAL	GRUPO QUIMICO	INGREDIENTE ACTIVO	DOSIS (ppm)
T_1	Seeker® 750 EC	Piperidinas	Fenpropidin	250
T_2	Seeker® 750 EC	Piperidinas	Fenpropidin	500
T_3	Tilt® 250 EC	Triazoles	Propiconazol	250
T_4	Tilt® 250 EC	Triazoles	Propiconazol	500
T_5	Volley® 88 OL	Morfolinas	Fenpropimorf	250
T_6	Volley® 88 OL	Morfolinas	Fenpropimorf	500
T_7	Sico® 250 EC	Triazoles	Difenoconazole	250
T_8	Sico® 250 EC	Triazoles	Difenoconazole	500
T_9	*Aloe Vera*			1000
T_{10}	*Aloe Vera*			500
T_{11}	*Trichoderma* spp.			1000
T_{12}	*Trichoderma* spp.			500
T_{13}	Testigo Absoluto			-

3.1.6 VARIABLES EVALUADAS

- Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 días.
- Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 días.
- Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 días.
- Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella* spp., a los 10 días.

- Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella* spp., a los 20 días.
- Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella* spp., a los 30 días.

3.1.7 MEDICIÓN DE LAS VARIABLES

Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella* spp., cada 10 días después de la inoculación, para esta evaluación se medió el micelio del patógeno con la ayuda de una regla, observando el crecimiento del micelios de *Mycosphaerella* spp.

Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella* spp., cada 10 días después de la inoculación, para esta medición de esta variable de porcentaje de inhibición se usó para el cálculo la siguiente formula usando la media de repeticiones de testigo (control) para cada observación analizada:

$$\% = \frac{\bar{x}\, control - repeticion\ xi}{\bar{x}\, control}\ x\ 100$$

3.2 MÉTODOS

3.2.1 METODOLOGÍA PARA CUMPLIR CON EL PRIMER OBJETIVO

Para cumplir con el objetivo de aislar *Mycosphaerella* spp., patógeno causante de la enfermedad de la sigatoka negra, usando como medio de cultivo PDA.

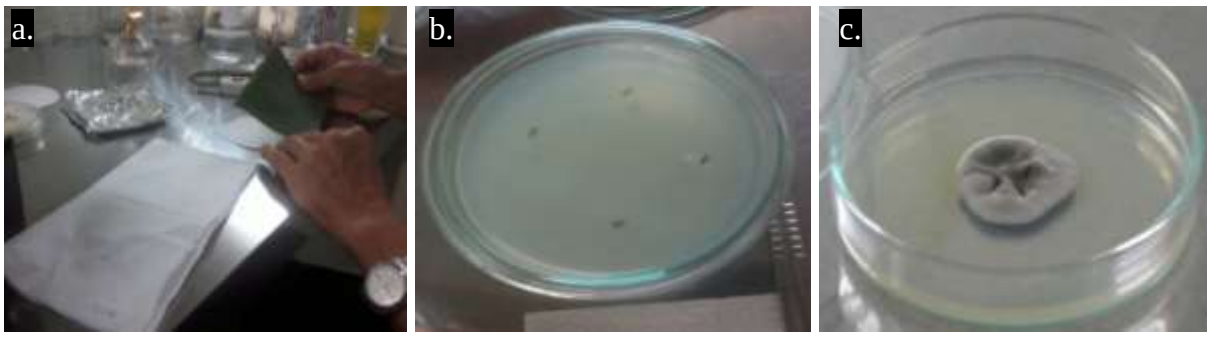


Figura 3. Procedimiento en el aislado de *Mycosphaerella* spp., en medio de cultivo PDA. **a.** Cortes de la muestras de hojas con síntomas de sigatoka negra, **b.** Muestras de 3x3 mm sembrado en PDA, **c.** Cepa de hongo puro de la muestra PAJ-N1. Machala, El Oro, 2015

Fuente: Foto tomada por Jimmy Espinosa Suárez en la UTMACH-UACA, laboratorio de biotecnología.

Se seleccionó hojas de banano con síntomas de sigatoka negra de con síntomas de tercer, cuarto y quinto estadios, de las bananera de la UACA y del sector Pajonal, las muestras fueron puestas en fundas de papel y transportadas al laboratorio de fitopatología para seleccionar las partes con mayor presencia del hongo. En la cámara de flujo laminar de recortaron pedazos de 3x3 mm estos fueron esterilizados por 5 minutos en etanol 70%, luego por 8 minutos en hipoclorito de sodio al 1% y enjuagados con agua destilada.

Colocadas en papel filtro para ser secados los pedazos de hojas, estos fueron ubicados en las cajas de petri con el envés frente al medio de cultivo PDA para la descarga de ascosporas. Estas fueron encubadas a 25 °C por 15 días para el desarrollo del hongo. Con el patógeno desarrollado se colocó pequeños porciones de colonias en tubos de ensayos con 5 ml de PDA en una incubadora para su conservación por 20 días para inocular en cajas de petri con medio cultivo envenados con los fungicidas químicos y biológicos.

3.2.2 METODOLOGÍA PARA CUMPLIR CON EL SEGUNDO OBJETIVO

En el segundo objetivo evaluar la eficacia de fungicidas químico y biológicos en el control de *Mycosphaerella* spp., en medio de cultivo PDA.

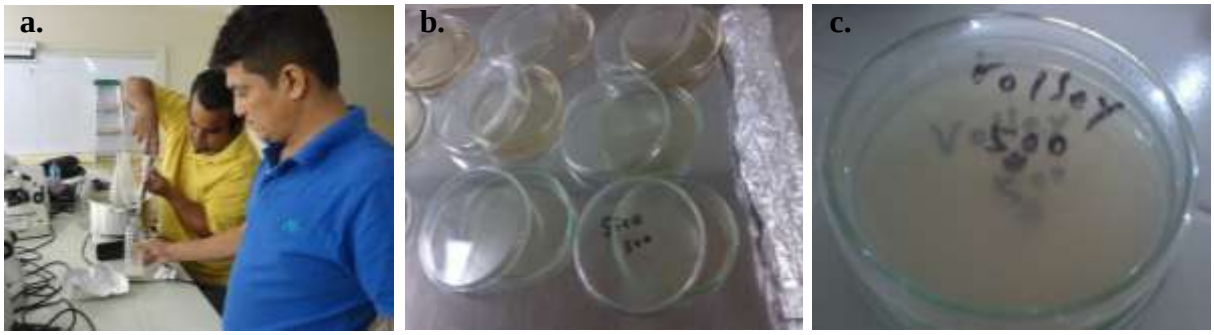


Figura 4. Evaluación de los fungicidas químicos y biológicos ante *Mycosphaerella* spp. **a.** Preparación de 120 ml de PDA+veneno (fungicidas), **b.** Repeticiones de los alimentos envenados PDA+veneno, **c.** Tratamiento Volley® con hongo. Machala, El Oro, 2015

Fuente: Foto tomada por Jimmy Espinosa Suárez en la UTMACH-UACA, laboratorio de biotecnología.

Para realizar la concentración de los productos se expresó en ppm (partes por millón), usando la fórmula:

$$\textbf{ppm} = x/y$$

De donde: **x** = ml del producto; **y** = litro de agua

Con la ayuda de pipeta se midió 1.5 ml del fungicida químico y biológico respetivamente, se mezclo en un vaso de precipitación con 50 ml de agua destilada esterilizada obteniendo una concentración patrón. Las dosis se calcularon en 120 ml de medio de cultivo PDA mezclando 2 ml y 1 ml de la solución patrón alcanzando 250 y 500 ppm respetivamente de los productos químicos, para los fungicidas biológicos se utilizó 4 ml y 2 ml de la solución patrón adquiriendo 500 y 1.000 ppm. Se utilizó la misma dosis de los fungicidas para los 12 tratamientos con tres repeticiones de 40 ml de medio de cultivo envenado en cada uno y para el tratamiento control solo uso agua destilada esterilizada.

Con la ayuda de un sacabocados, en los aislados del hongo se obtuvo 5 mm de diámetro de micelios de *Mycosphaerella* spp., para ser colocados en las cajas de petri con PDA envenenado con los fungicidas químicos y biológicos, colocando el micelio en el centro la caja petri en cada uno de los tratamientos. Se las mantuvo en una incubadora a 25 °C por el lapso de 30 días realizando las medidas de las variables cada 10 días en el crecimiento del diámetro del hongo y el porcentaje de inhibición de los fungicidas en cada tratamiento.

3.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), de 13 tratamientos con 3 repeticiones lo cual las variables se evaluaron cada 10 días después de la inoculación en un periodo de duración de 30 días.

3.2.3.1 Modelo matemático

El modelo matemático del diseño, viene simbolizado mediante la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1,2,\ldots\ldots t$ (número de tratamientos)

$j = 1,2,\ldots\ldots b$ (número de repeticiones)

Dónde:

Y_{ij} = Variable evaluada.
μ = Promedio general del ensayo.
τ_i = Efectos de los tratamientos.
ε_{ij} = Error experimental.

3.2.3.2 Hipótesis

La hipótesis nula y alternativa de los tratamientos fue:

H_o: Los efectos de los tratamientos no difieren significativamente.

H_a: Al menos un tratamiento es significativamente diferente.

3.2.3.3 Análisis de varianza

ADEVA

Fuentes de variación		Grados de Libertad
Repeticiones	(b -1)	2
Tratamientos	(t -1)	12
Error	(b - 1) (t - 1)	26
Total	(b · t) – 1	38

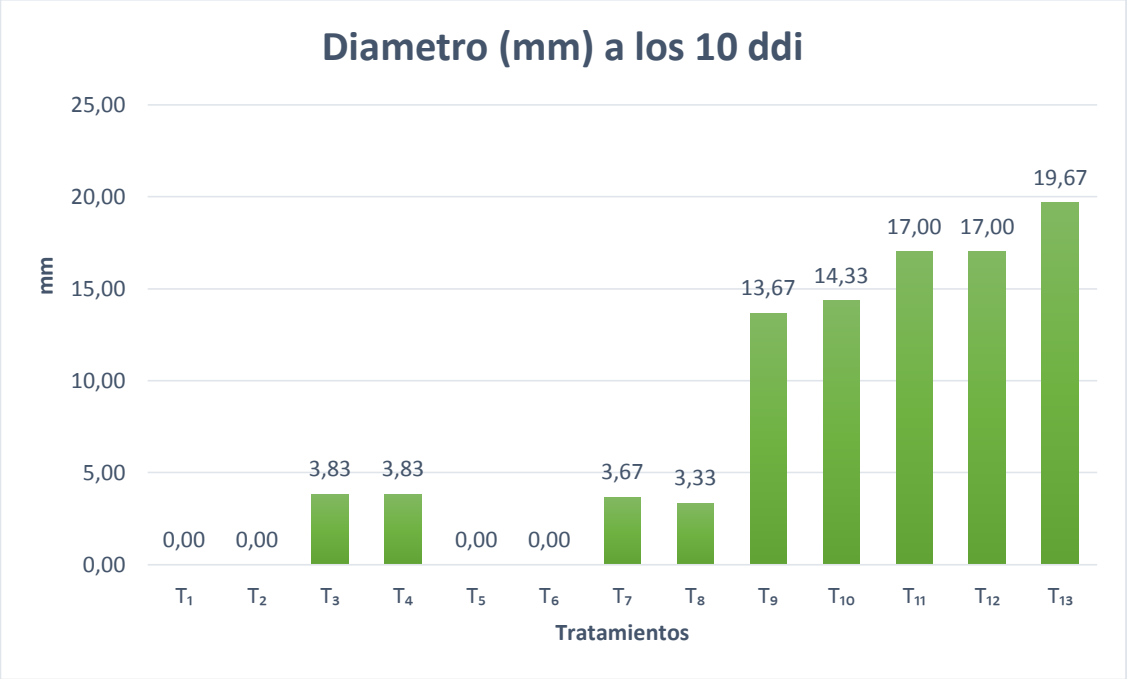
3.2.3.4 Análisis estadístico

Para el análisis de varianza (ADEVA), la comparación de promedios fueron obtenidos empleando las pruebas de Tukey al 5% de significancia. Para este análisis estadístico fueron analizaron los datos con el software InfoStat V. 2014e.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 días después de inoculación.

Figura 5. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 10 ddi.



El ADEVA en la evaluación del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 días después de inoculación (Cuadro 2), mostró significancia entre los tratamientos, tomando en cuenta el p-valor 0.0001 en menor que al valor de α=0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

Cuadro 2. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 10 ddi.

Fuente de variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	2,091.27	12	174.27	82.134	< 0.0001
Error (e)	55.17	26	2.12		
Total (T)	2,146.44	38			
			C.V=	19.66%	

En el cuadro 3, indica las medias de los promedios de los tratamientos en la evaluación del diámetro de crecimientos de *Mycosphaerella* spp., a los 10 días después de inoculación (ddi) en PDA, mostrando ninguna diferencias estadísticas entre los tratamientos T_1, T_2, T_6, T_5, T_3 y T_4 ya que no hubo crecimiento del hongo con un valor de 0.00 mm. EL T_9, T_{10}, y T_{12} si existe diferencia significativa con el tratamiento testigo T_{13} este si incremento su crecimiento de una media de 19.67 mm.

Cuadro 3. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 10 ddi.

Tratamientos	Medias	N	E.E.		
T1	0.00	3	0.84	A	
T2	0.00	3	0.84	A	
T6	0.00	3	0.84	A	
T5	0.00	3	0.84	A	
T8	3.33	3	0.84	A	
T7	3.67	3	0.84	A	
T3	3.83	3	0.84	A	
T4	3.83	3	0.84	A	
T9	13.67	3	0.84	B	
T10	14.33	3	0.84	B	
T12	17.00	3	0.84	B	C
T11	17.00	3	0.84	B	C
T13	19.67	3	0.84		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Se puede observar que no hay ninguna diferencia entre los tratamientos de control químico que están agrupados con la letra A, pero con los tratamientos de control biológico hay diferencia significativa con el testigo que presento un crecimiento del diámetro del hongo de 19.67 mm.

4.2. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 días después de la inoculación.

Figura 6. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 20 ddi.

En la prueba del ADEVA del diámetro de crecientito del hongo en los 20 días después de la inoculación del patógeno (cuadro 4), revelando una significancia de tratamientos siendo el p-valor 0.0001 es menor al 0.05 de significancia del test de Tukey, rechazando la hipótesis nula y aceptando el alternativa que al menos un tratamiento es diferente.

Cuadro 4. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 20 ddi.

Fuente de Variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	7,497.94	12	624.83	125.934	< 0.0001
Error (e)	129.00	26	4.96		
Total (T)	7,626.94	38			
			C.V=	15.11%	

El cuadro 5. Indica las medias de los tratamientos en test de Tukey de 0.05 de significancia a los 20 días del crecimiento del hongo, mostrando que no hay diferencia significativa en los tratamientos T_2 y T_1 del control químico con 0.0 mm de creciente del patógeno en el PDA,

con el T_5, T_6, y T_8 con un crecimiento de 2.17 a 6.5 mm del patógeno, en comparación los tratamientos biológico con los químicos hay diferencia significativas, con T_{13} que es el testigo con media de 41.17 mm de creciente hubo diferencias significativas.

Cuadro 5. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 20 ddi.

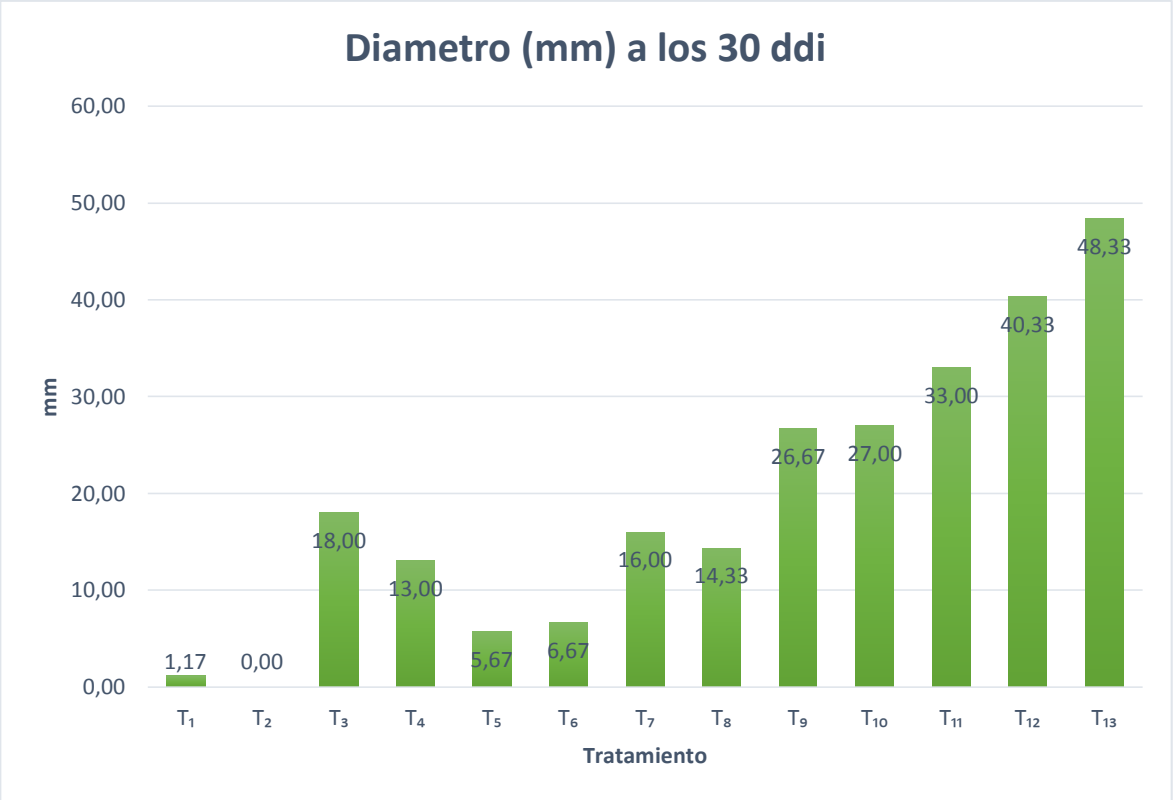
Tratamientos	Medias	n	E.E.					
T2	0.00	3	1.29	A				
T1	0.67	3	1.29	A				
T5	2.17	3	1.29	A	B			
T6	2.17	3	1.29	A	B			
T8	6.50	3	1.29	A	B			
T3	7.83	3	1.29		B			
T7	8.17	3	1.29		B			
T4	8.50	3	1.29		B			
T10	24.00	3	1.29			C		
T9	24.67	3	1.29			C		
T11	29.67	3	1.29			C	D	
T12	35.67	3	1.29				D	E
T13	41.67	3	1.29					E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Los controles químico con los biológicos existen diferencias significativas, T_2 que el Seeker® 750 con una dosis de 500 ppm no existe crecimiento del patógeno, con T_5 y T_6 que el Volley® hubo poco desarrollo del patógeno de una media de crecimiento de 2.17 mm, pero en cambio con el T_9 Aloe vera tiene crecimiento de una media de 24.67 mm y T_{12} con Trichoderma spp., con media de 45.37 mm, en comparación con el T_{13} que es el testigo absoluto que no hubo producto de control del patógeno el hongo se desarrolló con una media de 41.76 mm.

4.3. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 días después de la inoculación.

Figura 7. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp*., a los 30 ddi.



Cuadro 6. Análisis de varianza para el diámetro de crecimiento a los 30 ddi.

Fuente de Variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	8,130.77	12	677.56	103.526	< 0.0001
Error (e)	170.17	26	6.54		
Total (T)	8,300.94	38			
			C.V=	13.29%	

Basados en la prueba del ADEVA en el crecimiento del diámetro del patógeno a los 30 (ddi) en el (cuadro 6), se acepta la hipótesis alternita (H_a) y se rechaza la hipótesis nula (H_o), indicando que el p-valor 0.0001 es menor a al valor de α= 0.05, que es altamente significativo, que al menos un tratamiento es significativamente diferente.

Cuadro 7. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para diámetro a los 30 ddi.

Tratamientos	Medias	n	E.E.						
T2	0.00	3	1.54	A					
T1	1.17	3	1.54	A					
T5	5.67	3	1.54	A	B				
T6	6.67	3	1.54	A	B	C			
T4	13.00	3	1.54		B	C	D		
T8	14.33	3	1.54			C	D		
T7	16.00	3	1.54				D		
T3	18.00	3	1.54				D		
T9	26.67	3	1.54					E	
T10	27.00	3	1.54					E	
T11	33.00	3	1.54					E	F
T12	40.33	3	1.54						F
T13	48.33	3	1.54						G

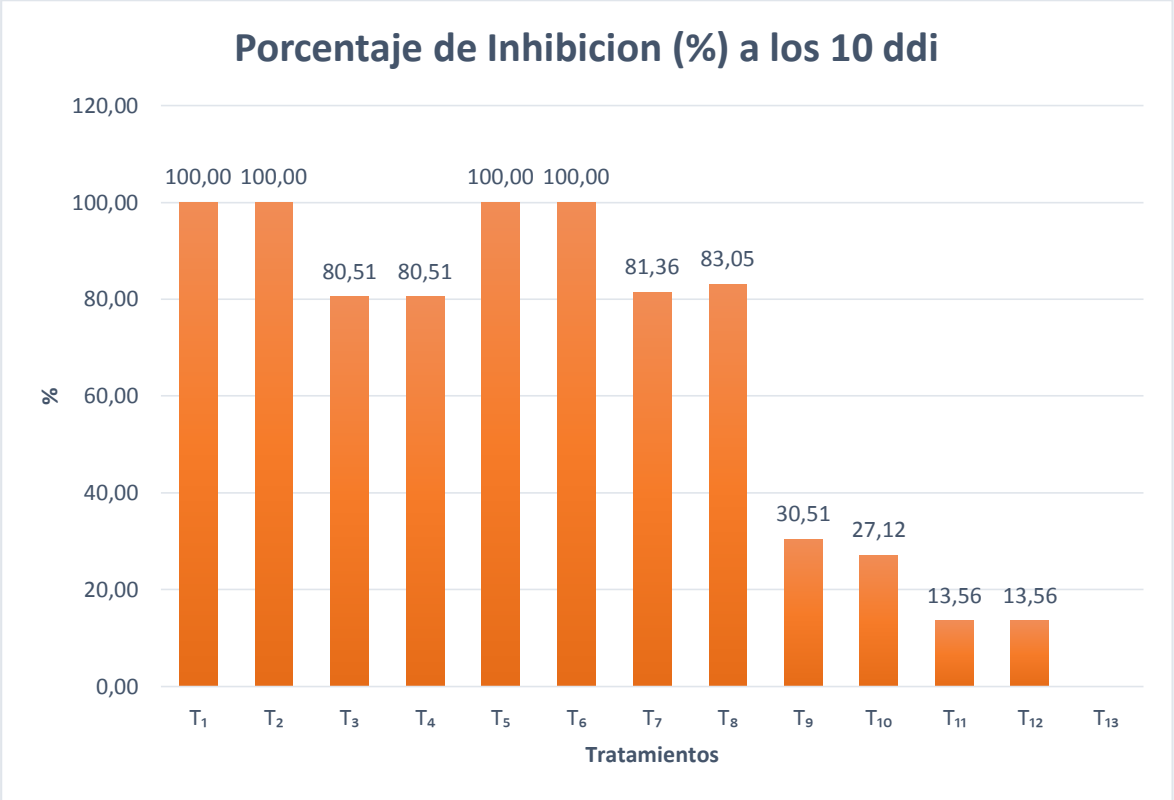
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

En el cuadro 7. Muestra el test de Tukey con significancia 0.05, en medias de los crecimiento del diámetro del patógeno a los 30 días después de la inoculación en la cajas petri con PDA envenenado, indica diferencia significativa entra los tratamientos de control químicos y biológicos. T_2 y T_1 no hay diferencia significativa siendo Seeker® esto los mejores tratamientos para evitar el desarrollo del patógeno. En comparación con el testigo T_{13} el hongo se desarrolló obteniendo una media de 48.33 mm no hubo control.

El mejor tratamiento fue el T_2 con una media de 0.0 mm de crecimiento del diámetro del hongo en todo el periodo de evaluación de 30 días, siendo el producto químico Seeker® con dosis de 500 ppm, pero para los tratamientos biológicos como T_{10}, T_9 Aloe vera ® medias de 27 mm y T_{11}, T_{12} Trichoderma spp. ® con medias 33.00 a 40.33 mm muy altas de creciente del diámetro del hongo en PDA casi no hubo control en su desarrollo, y el testigo T_{13} llegando a medir una media de crecimiento de 48.33 mm.

4.4. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 días después de la inoculación.

Figura 8. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, cada 10 ddi.



El análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 10 (ddi), en el (cuadro 8), se rechaza la hipótesis nula aceptando la hipótesis alternativa que al menos un tratamiento es diferente significativamente, siendo el p-valor menor al valor de significancia α= 0.05 lo cual existe diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 8. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 10 ddi.

Fuente de Variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	54,069.05	12	4,505.75	82.134	< 0.0001
Error (e)	1,426.32	26	54.86		
Total (T)	55,495.36	38			
			C.V=	11.88%	

En prueba de comparación de medias de los tratamientos en porcentaje de inhibición a los 10 ddi en PDA envenenado el (cuadro 9), mostro diferencias significativas entre tratamientos, el test de Tukey 5% se observa cuatros rangos (A,B, BC y C), indicando que no hay diferencia significativas con los T_5,T_6,T_2,T_1,T_8,T_7,T_3 y T_4 de fungicidas químicos, de igual manera no hay diferencia en el rango B (T_9 y T_{10}) Aloe vera, comparados con l tratamiento control T_{13} hay diferencia significativas con los demás tratamientos.

Cuadro 9. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 10 ddi

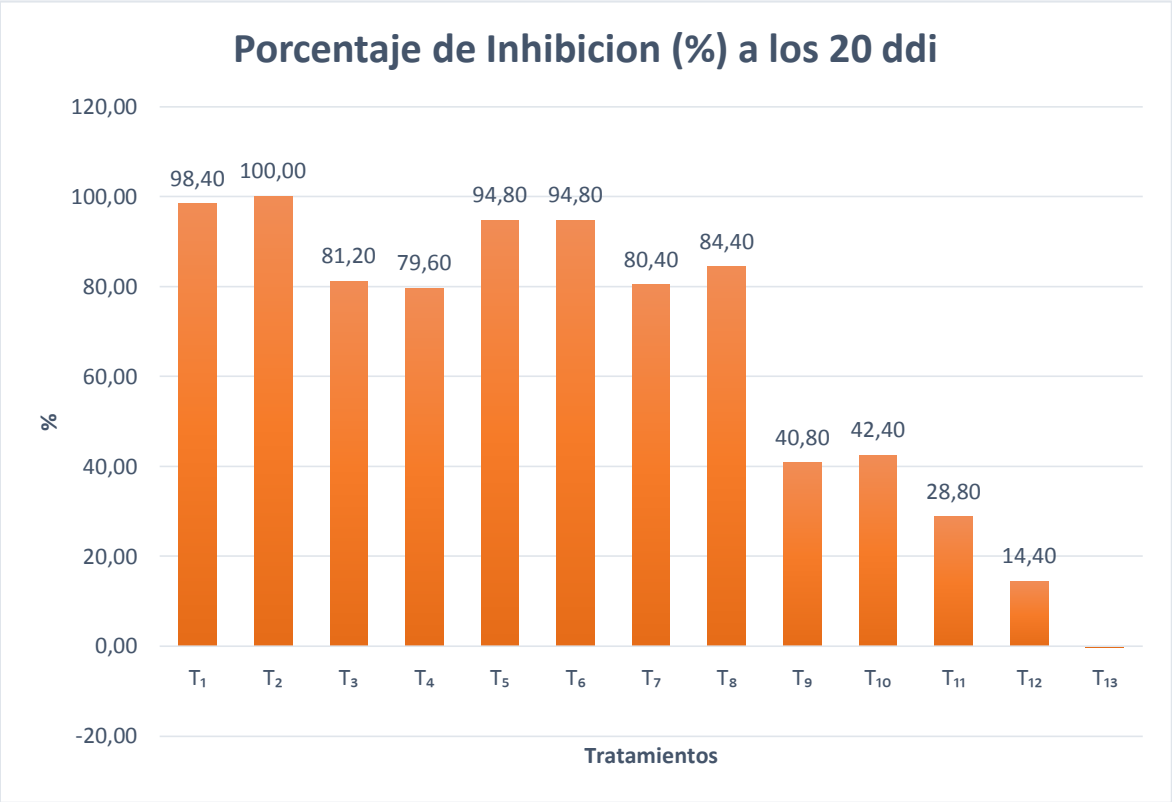
Tratamiento	Medias	n	E.E.			
T5	100	3	4.28	A		
T6	100	3	4.28	A		
T2	100	3	4.28	A		
T1	100	3	4.28	A		
T8	83.05	3	4.28	A		
T7	81.36	3	4.28	A		
T3	80.51	3	4.28	A		
T4	80.51	3	4.28	A		
T9	30.51	3	4.28		B	
T10	27.12	3	4.28		B	
T11	13.56	3	4.28		B	C
T12	13.56	3	4.28		B	C
T13	0.00	3	4.28			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Los fungidas químicos como Seeker, Tilt, Volley y Sico están agrupados en el rango A no habiendo diferencia significativa entre ellos con valores de 100% a 80,51%, pero con los fungicidas biológicos de Aloe vera existe diferencia significativa con *Trichoderma* spp., con el tratamiento control comparados con los fungicidas químicos y biológicos hubo una diferencia significativas ya obtuvo una media de 0.00 % de inhibición en 10 ddi en PDA envenado.

4.5. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 días después de la inoculación.

Figura 9. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, cada 20 ddi.



Cuadro 10. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 20 ddi.

Fuente de Variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	43,188.25	12	3,599.02	125.934	< 0.0001
Error (e)	743.04	26	28.58		
Total (T)	43,931.29	38			
			C.V=	8.27%	

El cuadro 10, mostro que le análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro del micelio de *Mycosphaerella* spp., inoculado en PDA envenado a los 20 (ddi), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternaba indicando que al menos un tratamiento es diferente significativamente ya que p-valor en menor a valor de significancia del 5% del test de Tukey.

Cuadro 11. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 20 ddi

Tratamiento	Medias	n	E.E.					
T2	100.00	3	3.09	A				
T1	98.40	3	3.09	A				
T5	94.80	3	3.09	A	B			
T6	94.80	3	3.09	A	B			
T8	84.40	3	3.09	A	B			
T3	81.20	3	3.09		B			
T7	80.40	3	3.09		B			
T4	79.60	3	3.09		B			
T10	42.40	3	3.09			C		
T9	40.80	3	3.09			C		
T11	28.80	3	3.09			C	D	
T12	14.40	3	3.09				D	E
T13	0.00	3	3.09					E

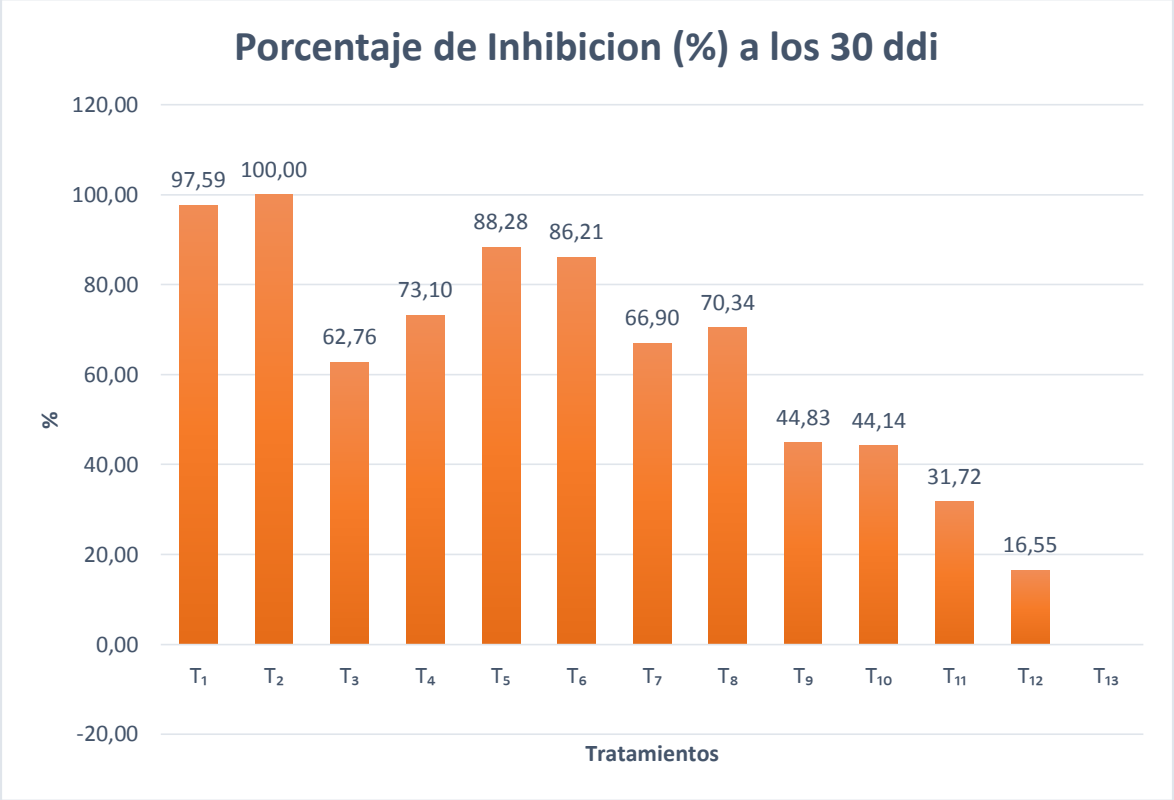
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

De acuerdo al (cuadro 11), del test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inhibición a los 20 ddi en medio de cultivo envenado, mostro siete rangos diferentes significativamente (A,AB, B, C,CD, DE y F), en cuanto para Seeker T_1 y T_2 no hay diferencia con 100% de inhibición del hongo, entre Volley para las dos dosis T_5 y T_6 no hay diferencia, para Tilt el T_3, T_4 y Sico 250 ppm T_7 entre estos no hubo diferencia significativa, el T_9 y T_{10} el fungicidas de Aloe vera no hubo diferencia, pero con *Trichoderma* spp., si hubo diferencia en las dos concentraciones de 500 y 1.000 ppm con 16.55 y 31.72 % respetivamente, comparando los tratamientos químicos y biológicos existió una diferencia significativa con el tratamientos control T_{13} de 0.00 % de inhibían del hongo.

A los 20 ddi del micelio del hongo *Mycosphaerella* spp., en medio de cultivo PDA envenados con los fungicidas químicos y biológicos en dos dosis, hubo diferencia significativas con el tratamiento control T_{13} que obtuvo una media de 0.00 %, con el mayor rango T_2 Seeker en 500 ppm obtuvo el 100 % de inhibición del hongo y con el más bajo porcentaje de inhibición fue T_{12} de *Trichoderma* spp., con dosis de 500 ppm.

4.6. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, cada 30 ddi

Figura 10. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, cada 30 ddi.



Cuadro 12. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del diámetro a los 30 ddi.

Fuente de Variabilidad (FV)	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	F Calculada (Fo)	p-valor
Tratamientos (k)	34,804.77	12	2,900.40	103.526	< 0.0001
Error (e)	728.42	26	28.02		
Total (T)	35,533.19	38			
			C.V=	8.79%	

El análisis de varianza (ADEVA), de porcentaje de inhibición del diámetro del micelio de hongo de *Mycosphaerella* spp., a los 30 (ddi) en medio cultivo PDA envenados, (cuadro 12) muestra que diferencia significativas entre tratamiento rechazando la hipótesis nula (H_o), siendo el p-valor menos al valor de significancia 0.05 del test de Tukey en comparación de medias.

Cuadro 13. Test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inicio a los 30 ddi

Tratamiento	Medias	n	E.E.						
T2	100.00	3	3.06	A					
T1	97.59	3	3.06	A					
T5	88.28	3	3.06	A	B				
T6	86.21	3	3.06	A	B				
T4	73.10	3	3.06		B	C			
T8	70.34	3	3.06			C			
T7	66.90	3	3.06			C			
T3	62.76	3	3.06			C			
T9	44.83	3	3.06				D		
T10	44.14	3	3.06				D		
T11	31.72	3	3.06				D	E	
T12	16.55	3	3.06					E	
T13	0.00	3	3.06						F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

El cuadro 13 y figura 10, indican el test de Tukey con significancia α= 00.5, para porcentaje de inhibición a los 30 ddi en medio de cultivo envenado, mostro ocho rangos diferentes significativamente (A, AB, BC, C, D, DE, E y F), para T_2 y T_1 no hay diferencia significativas ya pertenecen al rango A del fungicida Seeker® en dosis de 500 y 250 ppm con medias de 100 y 97,59 % de inhibición respetivamente, en esteran no hay diferencia significativa en los T_8, T_7 y T_3 de los fungicidas Sico ® con el Tilt ® 250 ppm, el fungicida Aloe vera no hubo diferencia significativa 44.83 y 44, 14 % de inhibición, pero en cambio sí hay diferencia con *Trichoderma* spp., 31,71 para el T_{11} con 16.55 % para el T_{12}, comparados con el tratamiento control T_{13} hay diferencia significativas teniendo como media el 0.00 % de inhibición del crecimiento del diámetro del micelios de *Mycosphaerella* spp.

En base a los resultados obtenidos resultados se puede observar una que el comportamiento de la amina Volley muy notorio en cuanto al crecimiento del diámetro del micelio y porcentaje de inhibición frente a *Mycosphaerella* spp., alcanzando promedios de 0.00 mm de crecimiento radial y 100% de inhibición, estos resultados se confirman con (Muñoz, 2015) donde realizo una prueba de tres fungicidas del grupo de Aminas dando como resultado al mejor al Volley con el más bajo porcentaje de infección con 9.99%, luego al Seeker con 11.93% y por ultimo a Calixin con 15.94 %. Pero en cambio en comparación con los fungidas

biológicos *Trichoderma* spp., y el extracto de *Aloe vera* obtuvieron los más altos crecimientos radial del hongo y el porcentaje inhibición más bajo en comparación con los fungicidas químicos, los resultados de (Cobos, 2010) en su trabajo de investigación de determinar la eficiencia de las cepas de *Trichoderma* spp. en contra el patógeno *P. fijiensis*, obtuvo tres mejores cepas del hongo antagonista que provocaron un m1 enor crecimiento de acuerdo son los T_4 (Cepa de *Trichoderma viride*), T_9 y T_{11} (cepas de *Trichoderma asperellum*) correspondientes a las cepas recolectadas en las localidades de Pasaje, Machala y Bonanza presentaron diferencias estadísticas significativas y demostrando de igual manera una mayor capacidad antagónica frente al patógeno.

Pérez y Mauri, (1994) indican que los fungicidas son de diferentes grupos como son los: triazoles, morfolinas. Los del triazol (son inhibidores de la síntesis de ergosterol), han mostrado el mejor nivel de eficacia contra *M. fijiensis*. Tienen una alta actividad inhibitoria sobre el crecimiento de los filamentos germinativos y la inhibición del desarrollo de fructificaciones, así como sobre el tamaño de las manchas foliares.

El género Trichoderma tiene buenas capacidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora, Rhizoctonia, Sclerotium, Pythium y Fusarium* entre otros (Ezziyyani et al,. 2004)

5. CONCLUSIONES

Se aisló "*in vitro*" *Mycosphaerella* spp., a 25 °C a partir de los 15 días de incubación en medio de cultivo PDA, para obtener micelio del patógeno para poder hacer la inoculaciones los PDA envenenados con los fungidas químico y biológicos.

Los fungicidas químicos del grupo de las aminas Seeker®, Volley®; T_2, T_1, T_5 y T_6 obtuvieron los más altos porcentajes de inhibición en los 30 días después de la inoculaciones (ddi), en el medio de cultivo envenado con valores 100, 97.59, 88.28 y 86.21 % respetivamente y el menor crecimiento del diámetro del micelio con 0.00, 0.67, 2.17 y 2.17 mm.

Los otros fungicidas químico del grupo de los triazoles como son el Tilt®, Sico®; T_4, T_8, T_7 y T_3 se observaron que este grupo de fungicidas fueron notorios los resultados no muy altos en los porcentajes de inhibición con valores de 73.10, 70.10, 66.90 y 62.76 % y de igual manera el crecimiento del diámetro del micelios con valores medios de 13.00, 14.33, 16.00 y 18.00 mm en los 30 ddi.

Los fungicidas biológicos como son el extracto de *Aloe vera* y *Trichoderma* spp., T_9, T_{10}, T_{11} y T_{12}, estos fungidas fueron diferentes estadísticamente comparados con las medias de los tratamientos de los fungicidas químicos, se obtuvieron resultados xz más bajos en el porcentaje inhibición a los 30 ddi, con valores 44.83 a 16.55 % de igual manera con los valores más altos en crecimiento del diámetro del hongo de 26.67 a 40. 33 mm no hubo control de la enfermedad comparados con el tratamiento control con el 0.00% de inhibición y con el 48.33 mm de crecimiento micelial.

6. RESUMEN

En esta investigación consistió en la evaluación de productos químicos y biológicos en control de *Mycosphaerella* spp., en el cultivo de banano en condiciones de laboratorio, que se la realizo en laboratorio de fitopatología de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Los objetivos fueron:

- Aislar *Mycosphaerella* spp., ***in vitro*** que es el agente que causa la enfermedad de la Sigatoka negra en el cultivo de banano, en medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar).
- Evaluación de la eficacia de los fungicidas químico y biológicos en el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella spp*.)

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), evaluado en un periodo de 30 días después de la inoculación al PDA.

Las variables evaluadas en el diámetro de crecimiento del hongo frente a los fungicidas cada 10 días después de inoculación se observó el T_2 Seeker® con una dosis de 500 ppm obtuvo el mejor resultado de eficacia con un 0.00 mm de crecimiento del hongo con relación a los tratamientos de fungicidas biológicos *Aloe vera* con una media de 27.00 mm de crecimiento a los 30 ddi y el Testigo T_{13} obtuvo un crecimiento de 48.33 mm ; con la otra variable que es el porcentaje de inhibición también T_2 Seeker® obtuvo el 100 % de eficacia frente al hongo durante todo el periodo de evaluación de los 30 ddi, seguido del T_6 con un porcentaje de 86.21, pero en cambio con los tratamientos biológicos Trichoderma el T_{12} con un porcentaje de inhibición 16.55 %, en comparación el testigo fue 0.00 %. El mejor tratamiento para el control de se sigatoka negra lo obtuvo los tratamientos químicos el T_2 es el Seeker® con una dosis de 500 ppm de la familia de las Piperidina sin crecimiento del hongo y con el 100 % de inhibición del hongo.

7. SUMMARY

In this research was to evaluate chemical and biological products in control of Mycosphaerella spp. On banana cultivation under laboratory conditions, it was made in plant pathology laboratory of the Academic Unit of Agricultural Sciences at the Technical University of Machala . The objectives were:

- Isolate Mycosphaerella spp, in vitro which is the agent that causes black sigatoka disease in banana cultivation in culture medium PDA (potato dextrose agar).
- Evaluation of the effectiveness of chemical and biological control of Black Sigatoka fungal (*Mycosphaerella* spp.)

A completely randomized design (CRD), evaluated over a period of 30 days after inoculation the PDA was used.

Variables evaluated in the diameter of fungal growth to fungicides 10 days after inoculation the Seeker® T_2 was observed with a dose of 500 ppm, obtained the best result of a 0.00 mm efficacy of fungal growth compared to biological fungicide treatments with *Aloe vera* averaging growth of 27.00 mm 30 ddi Witness T_{13} and achieved a growth of 48.33 mm; with the other variable is the percentage of inhibition Seeker® T_2 also obtained 100% efficacy against the fungus during the evaluation period of 30 ddi, followed by T_6 with a percentage of 86.21, but instead with biologics Trichoderma T_{12} with 16.55% percent inhibition compared the control was 0.00%. The best treatment is to control black sigatoka was obtained by chemical treatments T_2 is the Seeker® with a dose of 500 ppm of the family of Piperidine no fungal growth and 100% inhibition of the fungus.

8. BIBLIOGRAFÍA CITADA

AEBE. 2014. Asociación de Exportadores Bananeros del Ecuador. *Informe ejecutivo*, 14 P. Guayaquil – Ecuador

ACOSTA M., ALVARADO Y., CRUZ M., LEIVA M., y ROQUE B. 2004. Evaluación en casa de cultivo de la respuesta a la Sigatoka negra de dos cultivares de *Musa* mediante la inoculación artificial de suspensiones conidiales de *Pseudocercospora fijiensis*. Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Cuba. Recuperada el 15 de Octubre 2014 la Web: http://revista.ibp.co.cu/component/docman/doc_download/126-bv0397-04-4277-84.html.

AGUIRRE, 2003 Evaluación de la efectividad del antagonista *Trichoderma lignorum* al tratar la semilla de arroz (*Oriza sativa*), contra el hongo *Rhizoctonia solani*". Departamento Técnico Agro servicios; Uldarico Varón Reyes e Iván Ramírez Segura. Colombia. Recuperado el 30 de agosto de 2015, de la web de la UNAL: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/viewFile/11759/12297

AGRIOS, G. 2002. Fitopatología. Editorial Limusa. México, D. F. pp.366 – 368

ALEXOPOULOS, C., MIMS, C. y BLACKWELL. M. 1996. Introductory Mycology. John Wiley & Sons. INC. USA

BASF, 2015. Fungicida Volley® 88 OL. Costa Rica. Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de BASF: http://www.agro.basf.co.cr/productos/p_fungicida.php?id=18

BORNACELLY, H. 2009. Estudio del ciclo de vida de *Mycosphaerella fijiensis* en tres clones de banano (*Musa* AAA) en tres regiones de la zona bananera del magdalena. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Colombia. 27 p. Recuperado el 15 de

Septiembre de 2015 de la Web: http://www.bdigital.unal.edu.co/716/1/8006001.2009.pdf

CASTILLO, N. 2002. Productos que se pueden obtener de la sábila Frontera activa Salud/ Aloe o sábila.

CEDEÑO, G. 2010. Evaluación del comportamiento de doce cultivares de *Mussa* spp, inoculados con *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agente causal de la Sigatoka negra. Tesis de grado. Universidad Técnica de Manabí. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Portoviejo, Ecuador. p. 11. Recuperado el 15 de Septiembre de 2017 de la Web: http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/50000/2615/1/EVALUACION%20DEL%20COMPORTAMIENTO%20DE%20DOCE%20CULTIVARES%20DE%20MUSA%20SPP%20INOCULADOS%20CON%20MYCOSPHAERELLA%20FIJIENSIS%20MORELET%20AGENTE%20CAUSAL%20DE%20LA%20SIGATOKA%20NEGR.pdf.

COBOS, G. 2010. Escuela Politécnica del Ejército departamento de Ciencias de la Vida. Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias Santo Domingo. Tesis "evaluación de cepas nativas de Trichoderma spp. para el control de sigatoka negra (Paracercospora fijiensis M.) en el cultivo de banano (musa paradisiaca) en fase de laboratorio". Santo Domingo- Ecuador. 44-54 p.

ECUAQUIMICA. 2015. Fungicida Sico® 250 EC. Guayaquil – Ecuador. Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de Ecuaquimica: Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de ECUAQUIMICA: http://www.ecuaquimica.com.ec/pdf_agricola/SICO.pdf

ECUAQUIMICA. 2015. Fungicida Seeker® 750 EC. Guayaquil-Ecuador. Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de Ecuaquimica: Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de ECUAQUIMICA: http://www.ecuaquimica.com.ec/pdf_agricola/Seeker.pdf

ECUAQUIMICA. 2015. Fungicida Tilt® 250 EC. Guayaquil-Ecuador. Recuperada el 10 de septiembre 2015 la Web de ECUAQUIMICA: http://www.ecuaquimica.com.ec/pdf_agricola/TILT250.pdf

EZZIYYANI M., PÉREZ C., SID A., REQUENA M., CANDELA M. 2004. Trichoderma harzianum como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia. Murcia, España. Recuperada el 15 de septiembre 2015 la Web: http://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf

FALCONÍ, C. 1997. El Control Biológico de Plagas y Enfermedades. Primera Edición. Quito. Ecuador. 200 p.

FOURÉ, E. 1982. Les cercosporiose du bananier et leurs traitement. Comportment des varietés. Etude de la sensibilité varietale des bananiers et plantains a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie de raies noires). I. Incubation et evolution de la meladie. II. Etude de quelques parametres. Friuts, 37, 749-754.

GÓMEZ, C. 2015. Universidad Técnica de Machala. Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Carrera de Ingeniería Agronómica. Trabajo de Titulación "Evaluación de Técnicas de Inoculación de *Mycosphaerella* spp. sobre plántulas de banano (*Musa* AA)". Machala-Ecuador. 11-23 p.

LABORATORIOS SAN PABLO. 2015. Folleto De Trichoderma sp. España. Recuperado el 5 de septiembre 2015 de la Web: http://www.labsanpablo.com/wp-content/uploads/Folleto-Trichoderma-V01T16...pdf

MARTÍNEZ, I. y GUZMÁN, M. 2010. Sensibilidad de Mycosphaerella fijiensis a fungicidas. *Corporacion Bananera Nacional*, 227 - 238 p

MEREDITH, D. y LAWRENCE, J. 1969. Black leaf streak disease of banana (*Mycosphaerella fijiensis*): symptoms of disease in Hawaii, and notes on the conidial state of the causal fungus. Trans. Br. Mycol. Soc. 52 (3), 459-476

MULDER J. y STOVER R. 1976. The *Mycosphaerella species* causing banana leaf spots. Transactions of British Mycological Society. 67, 77 - 82.

NÚÑEZ, R. 1989. *El Cultivo del Banano. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa Nacional del Banano.* Recuperado el 5 de Septiembre de 2016, de la Web: http:// www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/Ing%20Rizzo/perf

MUÑEZ, F. 2015. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Facultad de Ciencias Pecuarias Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Tema de tesis: "Fungicidas del grupo de las aminas para el control de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en el cultivo de banano (*Musa* AAA) Valencia – Los Rios" Quevedo. 29-35 p.

OROZCO, M. 1998. Manejo integrado de la sigatoka negra del plátano. SAGAR, INIFAP, CIPAC. Campo Experimental Tecomán, Colima, México. Folleto Técnico No 1 División Agrícola. 95 p

PEREZ, L. y MARIN, F. 1994. Efficacy of EBI fungicidas on the control of Sigatoka disease in bananas caused by Mycosphaerella musicola Leach ex mulder in Cuba. International Journal of Pest Management, 40, 1-5

VILLEGAS, F. 2000 DNA restriction fragment length polymorphisms in Mycosphaerella species that cause banana leaf spot diseases. Phytopathology, 84(7): 751-755

RETAMAR, J. 1995. Dos especies del género Aloe: *Aloe arborescens* Mill y *Barbadensis* Mill. En Essenze derivati agrumari,N0 2, 1995.

RHODES, P. 1964. A new banana disease in Fiji. Commonw. Phytopath. News 10, 38 - 41.

SUQUILANDA M., 2001. Manual de Cultivos Orgánicos. Cuarta Edición

STOVER, R. 1976. Distributions and cultural characteristics of the phatogens causing banana leaf spot. Tropical Agricultural (Trinidad) 53:111-114

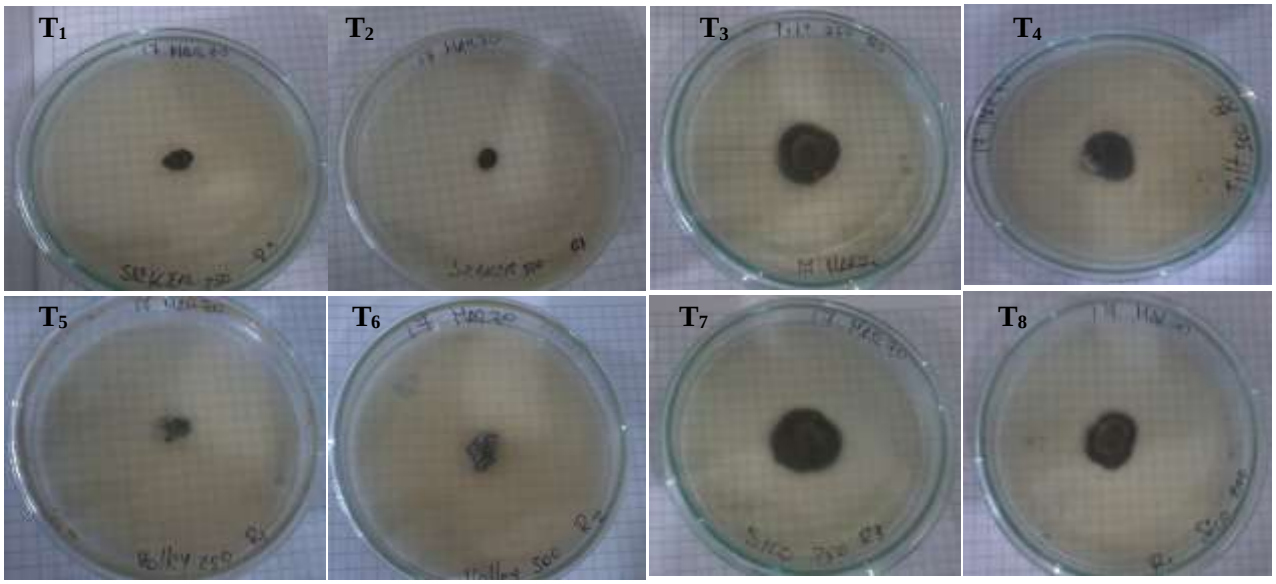
STOVER, R.H. 1980. Sigatoka leaf spot of bananas and plantains. Plant Disease. 64:750-755

STOVER, R. y GHAULR, H. 1974. Efecto de niveles de Sigatoka de plátanos en la calidad de la fruta y senescencia foliar. Trop Agric. 531 - 542 p.

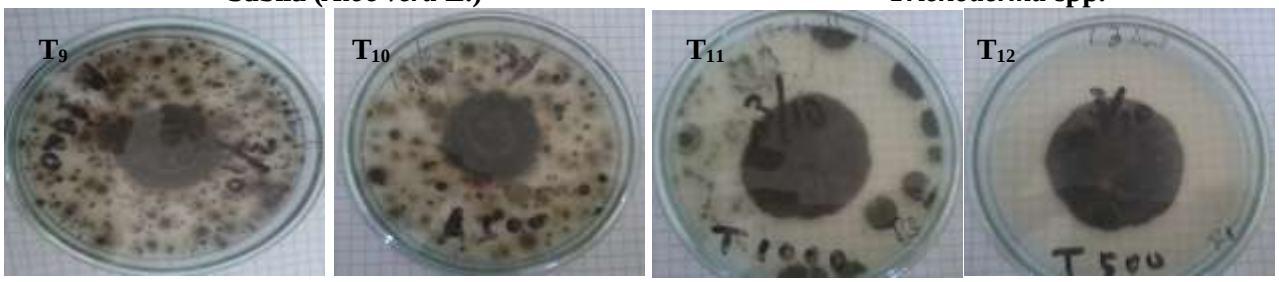
APÉNDICE

Apéndice 1. Resumen fotográfico.

Grupo Aminas **Grupo Triazoles**



Sábila (*Aloe vera* L.) ***Trichoderma* spp.**



Testigo absoluto

Figura 11. Resultados de la eficacia en control fungicidas químico y biológicos frente a *Mycosphaerella* spp.

Figura 12. Medio de Cultivo PDA

Figura 13. PDA en punto de ebullición

Figura 14. Cámara de flujo laminar

Figura 15. Medición de volúmenes productos

Figura 16. PDA® comercial

Figura 17. Siembra de *Mycosphaerella* spp. en PDA.

Apéndice 2. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 ddi

TRATAMIENTOS			DIAMETRO (mm) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	0	0	0	0.00
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	0	0	0	0.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	1	6	4.5	3.83
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	5.5	3	3	3.83
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	0	0	0	0.00
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	0	0	0	0.00
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	5	1	5	3.67
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	4	1.5	4.5	3.33
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	14	14	13	13.67
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	13	13	17	14.33
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	15	19	17	17.00
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	18	17	16	17.00
T_{13}	Testigo Absoluto		19	20	20	19.67
						7.41

Apéndice 3. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 ddi

TRATAMIENTOS			DIAMETRO (mm) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	0	2	0	0.67
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	0	0	0	0.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	3	10.5	10	7.83
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	11	8.5	6	8.50
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	1.5	2	3	2.17
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	2	3	1.5	2.17
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	7.5	6	11	8.17
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	6.5	4.5	8.5	6.50
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	25	25	24	24.67
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	22	25	25	24.00
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	26	28	35	29.67
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	35	36	36	35.67
T_{13}	Testigo Absoluto	-	41.5	43	40.5	41.67
						14.74

Apéndice 4. Diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 ddi

TRATAMIENTOS			DIAMETRO (mm) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	0	3.5	0	1.17
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	0	0	0	0.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	18	19	17	18.00
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	14	14	11	13.00
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	4	5	8	5.67
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	7	7	6	6.67
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	17	11	20	16.00
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	14	14	15	14.33
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	26	28	26	26.67
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	23	29	29	27.00
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	28	32	39	33.00
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	41	38	42	40.33
T_{13}	Testigo Absoluto	-	47	50	48	48.33
						19.24

Apéndice 5. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 10 ddi.

TRATAMIENTOS			INHIBICIÓN (%) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	94.92	69.49	77.12	80.51
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	72.03	84.75	84.75	80.51
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	74.58	94.92	74.58	81.36
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	79.66	92.37	77.12	83.05
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	28.81	28.81	33.90	30.51
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	33.90	33.90	13.56	27.12
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	23.73	3.39	13.56	13.56
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	8.47	13.56	18.64	13.56
T_{13}	Testigo Absoluto	-	3.39	-1.69	-1.69	0.00
						62.32

Apéndice 6. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 20 ddi.

TRATAMIENTOS			INHIBICIÓN (%) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	100.00	95.20	100.00	98.40
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	92.80	74.80	76.00	81.20
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	73.60	79.60	85.60	79.60
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	96.40	95.20	92.80	94.80
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	95.20	92.80	96.40	94.80
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	82.00	85.60	73.60	80.40
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	84.40	89.20	79.60	84.40
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	40.00	40.00	42.40	40.80
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	47.20	40.00	40.00	42.40
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	37.60	32.80	16.00	28.80
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	16.00	13.60	13.60	14.40
T_{13}	Testigo Absoluto	-	0.40	-3.20	2.80	0.00
						64.62

Apéndice 7. Porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento del micelio de *Mycosphaerella spp.*, a los 30 ddi.

TRATAMIENTOS			INHIBICIÓN (%) Repeticiones			$\bar{x}$
			I	II	III	
T_1	Seeker® 750 EC	250 ppm	100.00	92.76	100.00	97.59
T_2	Seeker® 750 EC	500 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
T_3	Tilt® 250 EC	250 ppm	62.76	60.69	64.83	62.76
T_4	Tilt® 250 EC	500 ppm	71.03	71.03	77.24	73.10
T_5	Volley® 88 OL	250 ppm	91.72	89.66	83.45	88.28
T_6	Volley® 88 OL	500 ppm	85.52	85.52	87.59	86.21
T_7	Sico® 250 EC	250 ppm	64.83	77.24	58.62	66.90
T_8	Sico® 250 EC	500 ppm	71.03	71.03	68.97	70.34
T_9	*Aloe Vera*	1000 ppm	46.21	42.07	46.21	44.83
T_{10}	*Aloe Vera*	500 ppm	52.41	40.00	40.00	44.14
T_{11}	*Trichoderma* spp.	1000 ppm	42.07	33.79	19.31	31.72
T_{12}	*Trichoderma* spp.	500 ppm	15.17	21.38	13.10	16.55
T_{13}	Testigo Absoluto	-	2.76	-3.45	0.69	0.00
						60.19