



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TEMA**

**Evaluación de la incidencia del ozono sobre *Mycosphaerella fijiensis*  
(Sigatoka Negra) reproducida en condiciones *in vitro* en el  
Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad  
Católica de Santiago de Guayaquil.**

**AUTOR**

**Dávalos Barquet, Javier José**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del grado de  
INGENIERO AGROPECUARIO**

**TUTOR**

**Ing. Paz Carrasco Lenin Celiano, Ph. D**

**Guayaquil, Ecuador**

**Marzo de 2017**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN**

Certificamos que el presente trabajo de titulación, fue realizado en su totalidad por **Dávalos Barquet Javier José**, como requerimiento para la obtención del título de **Ingeniero Agropecuaria**.

**TUTOR**

---

**Ing. Paz Carrasco, Lenin Celiano, Ph. D**

**DIRECTOR DE LA CARRERA**

---

**Ing. Franco Rodríguez, John Eloy, Ph. D**

**Guayaquil, a los 20 días de marzo de 2017**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

**Yo, Dávalos Barquet, Javier José**

**DECLARO QUE:**

El Trabajo de Titulación, **Evaluación de la incidencia del ozono sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones *in vitro* en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

**Guayaquil, a los 20 días de marzo de 2017**

**EL AUTOR**

---

Dávalos Barquet, Javier José



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**AUTORIZACIÓN**

Yo, Dávalos Barquet, Javier José, autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación, **Evaluación de la incidencia del ozono sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones *in vitro* en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

**Guayaquil, a los 20 días de marzo de 2017**

**EL AUTOR**

---

**Dávalos Barquet, Javier José**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CERTIFICACIÓN URKUND**

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Titulación “Evaluación de la incidencia del ozono sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones *in vitro* en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil”, presentada por el estudiante **Dávalos Barquet Javier José**, de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, obtuvo el resultado del programa URKUND el valor de 0 %, Considerando ser aprobada por esta dirección.

URKUND	
Documento	<a href="#">Davalos Javier UTE 2016 B.docx</a> (D25303974)
Presentado	2017-01-26 16:46 (-05:00)
Presentado por	ute.fetd@gmail.com
Recibido	alfonso.kuffo.ucsg@analysis.arkund.com
Mensaje	SRTTB2016 Dávalos <a href="#">Mostrar el mensaje completo</a>
	0% de esta aprox. 21 páginas de documentos largos se componen de texto presente en 0 fuentes.

Fuente: URKUND-Usuario Alfonso Kuffó García, 2017

Certifican,

---

**Ing. John Franco Rodríguez, Ph. D**  
Director Carreras Agropecuarias  
UCSG-FETD

---

**Ing. Alfonso Kuffó García, M. Sc.**  
Revisor - URKUND

## **AGRADECIMIENTO**

Me faltarían hojas para agradecer a todos los que aportaron en lo personal y en lo académico. Agradecido eternamente Dios por darme la suerte de nacer para estrechar la mano de un amigo y ver el milagro de cada amanecer; de tener la suerte del aprendizaje y tener la valentía de salir adelante.

Agradezco infinitamente a mis padres Pedro Javier Dávalos Vásconez y Dórtzy Barquet Cedeño, por la confianza, motivación, perseverancia, paciencia, esfuerzo y sobre todo tanto amor que me han brindado para formar el camino adecuado e ir buscando las mejores riendas que me harán sobrevivir en esta vida que lo más difícil es vivirla.

Agradezco a mi hermana Bertha Alexandra Dávalos Barquet por su profundo cariño y sus deseos más puros y sobre todo su guía hacia Dios para fortalecer el alma.

Agradezco profundamente al Ing. Ángel Bernardo Llerena Hidalgo, Ph.D y al Ing. Cristóbal Aguirre Chan, por la enseñanza académica, por el tiempo, paciencia, consejos por la disciplina empleada en cada caso realizado y por ser partícipes de este trabajo de graduación.

Agradezco enérgicamente a mi director de tesis, Ing. Lenin Celiano Paz Carrasco, Ph. D, por su confianza, por su aporte académico e indicaciones exactas para ser posible el trabajo de titulación y a todo el grupo de docentes por su excelencia académico que ayudaron a enriquecer nuestros conocimientos.

Javier José Dávalos Barquet

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de titulación se lo dedico con todo respeto a Dios por permitir vivir el día a día y darme la fortaleza de ser mejor cada día. Con eterno amor a mis padres y a mi hermana, por ser la esencia y por ser la guía fundamental para que cada día me convierta en mejor ser humano y sobre todo el motor para romper con fuerza cada obstáculo.

Le dedico este logro a mis docentes, a mis amigos y a todas esas personas que creyeron y no creyeron en mí con mucho cariño ya que fortalecieron mí día a día y me convirtieron en una persona más sabia y más fuerte.

Dedico este esfuerzo a toda mi familia que sin duda alguna fueron parte de cada etapa de mi vida dándome su amor y consideración.

Javier José Dávalos Barquet



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

---

**Ing. Lenin Celiano Paz Carrasco, Ph. D.**  
TUTOR

---

**Ing. John Eloy Franco Rodríguez, Ph. D.**  
DIRECTOR DE CARRERA

---

**Ing. Manuel Enrique Donoso Bruque M. Sc**  
COORDINADOR DEL ÁREA





**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CALIFICACIÓN**

---

**Ing. Lenin Celiano Paz Carrasco, Ph. D**

**TUTOR**

## ÍNDICE GENERAL

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>16</b>
1.1.	Objetivos.....	18
1.1.1.	Objetivo general.....	18
1.1.2.	Objetivos específicos.....	18
<b>2.</b>	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
2.1	<i>Mycospharella fijensis</i> Morelet (Sigatoka Negra).....	19
2.1.1	Taxonomía.....	20
2.1.2	Origen y distribución de la Sigatoka negra. ....	21
2.1.3	Agente causal de la Sigatoka negra .....	22
2.1.4	Síntomas de la sigatoka negra .....	24
2.2	Biología del patógeno .....	25
2.2.1	Reproducción sexual. ....	25
2.2.2	Reproducción asexual .....	25
2.2.3	Las Ascosporas. ....	26
2.2.4	Control de enfermedades. ....	26
2.2.5	Dispersión La Sigatoka Negra. ....	26
2.2.6	Rango de hospederos.....	27
2.2.7	Estrategias de detección.....	27
2.3	El uso del ozono .....	28
2.3.1	El ozono en la agricultura y el bienestar. ....	28
2.3.2	Acción germicida. ....	30
2.3.3	Producción de ozono. ....	32

2.3.4	Magnitud y empleo del ozono en agricultura. ....	34
2.3.5	El ozono empleando a la agricultura.....	35
<b>3.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>38</b>
3.1	Localización del Ensayo .....	38
3.2	Materiales .....	38
3.2.1	Material biológico.....	38
3.2.2	Hoja de banano. ....	39
3.2.3	Hongo de Sigatoka negra. ....	39
3.2.4	Agar. ....	39
3.2.5	Destrose Anhydrous. ....	40
3.2.6	Soya ( <i>Glycine max</i> ).....	40
3.2.7	Ácido láctico.....	40
3.2.8	Material técnico.....	40
3.2.9	Material Tecnológico.....	41
3.3	Variables estudiadas.....	41
3.4	Diseño estadístico .....	42
3.5	Metodología .....	42
3.6	Método.....	43
3.7	Valor de la dosis óptimo de ozono en ppm .....	46
3.8	Diseño de la investigación .....	47
3.8.1	Tratamientos en estudio. ....	47
3.8.2	Técnicas y modelos de análisis de datos.....	47
<b>4</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>49</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
5.1	Conclusiones .....	53

5.2	Recomendación.....	53
-----	--------------------	----

**BIBLIOGRAFÍA.**

**ANEXOS.**

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Realización de concentraciones de ozono .....	46
Tabla 2. Diámetro del micelio (Duncan 0.05 %).....	50
Tabla 3. Diámetro del micelio en Prueba de T pareada (0.05%) .....	52
Tabla 4 Medición de diámetro del micelio Inicial sin aplicaciones.....	65
Tabla 5 Prueba de T pareada inicial .....	65
Tabla 6 Análisis de varianza de medición diámetro antes de la aplicación. ....	66
Tabla 7 Medición del diámetro del micelio en la primera evaluación con aplicación .....	66
Tabla 8 Prueba de T pareada en la primera evaluación con aplicación.....	67
Tabla 9 Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la primera evaluación con aplicación .....	67
Tabla 10 Medición de diámetro del micelio en la segunda evaluación con aplicación .....	68
Tabla 11 Prueba de T pareada en la segunda evaluación en aplicación.....	68
Tabla 12 Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la segunda evaluación con aplicación.....	69
Tabla 13 Medición de diámetro del micelio en la tercera evaluación con aplicación .....	69
Tabla 14 Prueba de T pareada en la tercera evaluación en aplicación. ....	70
Tabla 15 Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la tercera evaluación con aplicación. ....	70

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal en la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, teniendo como objetivo principal inhibir el crecimiento del micelio del hongo sigatoka negra reproducida *in vitro*. Se recolectó muestras de hojas de plantas (*Cavendish Gran Enano*) contaminadas con la enfermedad de Sigatoka negra para realizar la reproducción *in vitro* mediante el medio de cultivo a base de soya para su desarrollo. Se utilizó un generador de ozono, aquel que emite una descarga separando las moléculas ( $O_1$ ) entrantes de 95 % de oxígeno ( $O_2$ ) para luego unir las con una molécula completa de  $O_2$  en  $O_3$ . La ozonificación del agua se la realizó mediante un Venture PDF  $\frac{3}{4}$  resistente al ozono y una piedra burbujeante. Las concentraciones de ozono fueron medidas a través del equipo chemestrics modelo i-2019 con el objetivo de medir con exactitud las partes de millón (ppm). Para obtener la aplicación óptima de ozono en ppm se ejecutaron 6 réplicas por la cual se realizaron cuatro concentraciones de 1, 2, 3 y 4 partes por millón (ppm); para determinar la concentración óptima para inhibir el micelio del hongo de sigatoka negra se realizó una sola aplicación a todos los tratamientos aplicables, se consideró óptimo la concentración de 3 partes por millón para inhibir el micelio de Sigatoka negra.

**Palabras clave:** Ozono, Sigatoka negra, Micelio, Hongo, *In vitro*.

## ABSTRACT

The present research was carried out in the Laboratory of Fisiología Vegetal in the Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo of the Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, with the main objective of inhibiting the growth of mycelium of the fungus sigatoka black reproduced in vitro. Samples of leaves of plants (Cavendish Gran Enano) contaminated with black Sigatoka disease were collected for in vitro reproduction by means of the soybean culture medium for its development. An ozone generator was used, which emitted a discharge by separating the incoming molecules ( $O_1$ ) from 95 % oxygen ( $O_2$ ) and then joined them with a complete molecule of  $O_2$  in  $O_3$ . The ozonation of the water was done through an ozone-resistant Venture PDF and a bubbling stone. Ozone concentrations were measured through the chemestrics equipment model i-2019 with the objective of accurately measuring the parts of million (ppm). In order to obtain the optimum ozone application in ppm, 6 replicates were executed, for which four concentrations of 1, 2, 3 and 4 parts per million (ppm) were performed; To determine the optimum concentration to inhibit the mycelium of the black sigatoka fungus, a single application was applied to all applicable treatments, the concentration of 3 parts per million was considered optimal to inhibit the mycelium of black Sigatoka.

**Key words:** *Ozone, Black Sigatoka, Mycelium, Fungus, In vitro.*

## 1. INTRODUCCIÓN

Las exportaciones de Banano a nivel mundial alcanzan un total de 16.5 Millones de toneladas. Los principales países exportadores son Latinoamericanos, encabezados por Ecuador, Costa Rica, Guatemala y Colombia (ocupando cuarto lugar con un total de 1.88 Millones de toneladas) (S.A.S y Manager, 2015).

En el país, la sigatoka negra se encuentra entre las nueve enfermedades principales que afectan actualmente la producción de banano. La sigatoka negra es causada por el hongo fitopatógeno *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. El ciclo de vida de este hongos está influenciado principalmente por condiciones climáticas, la clase de hospedante, la variabilidad del patógeno, los sistemas de explotación y el manejo de los cultivos.

Los síntomas de la sigatoka negra corresponden a estrías finas marrón claras, visibles en el envés a partir de la parte apical de las hojas. La estría evoluciona a mancha marrón oscura para finalmente tornarse mancha oscura a negra de forma irregular, presentándose coalescencia entre las lesiones a partir de las fases iniciales o estrías de coloración marrón.



Por ende se busca otras alternativas para controlar este patógeno es forma menos agresiva para el medio ambiente. El ozono es una sustancia que ha alcanzado popularidad por sus efectos, unas veces positivos y protectores (capa de ozono estratosférica) y otras perjudiciales (ozono troposférico de origen antropogénico), en concentraciones superiores a ciertos valores recogidos en la normativa.

También, debido a sus múltiples aplicaciones basadas en su poder fuertemente oxidante, antiséptico y decolorante que le han abierto un abanico de aplicaciones en campos muy dispares como la desodorización de locales, la sanitización de aguas, el blanqueo de tejidos, el lavado de alimentos con agua ozonizada y otros.

El excepcional método de mezcla consigue niveles de ozonización del agua muy altos, lo que permite usarla en riego para eliminar virus, bacterias, hongos, algas, esporas y cualquier otro microorganismo del suelo y las raíces. Al mismo tiempo, el agua ozonizada oxigena las raíces de las plantas favoreciendo su enraizamiento y salud (Aspozono, 2015). Es por esto que el presente trabajo de titulación tuvo como objetivos:

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo general.**

Evaluar el efecto del ozono en el control de *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducidas en condiciones *in vitro*.

### **1.1.2. Objetivos específicos.**

- Establecer concentraciones de ozono para el control de *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducidas en condiciones *in vitro*.
- Evaluar el crecimiento del micelio *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones *in vitro* luego de la aplicación de concentraciones de ozono.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (Sigatoka Negra)

Es una destructiva enfermedad foliar que afecta principalmente a plantas del género *Musa*: banano y plátano. Es causada por el hongo del género *Ascomycete Mycosphaerella fijiensis* Morelet (anamorfo *Pseudocercospora fijiensis*) y constituye el principal problema fitopatológico en estos cultivos (Guzman y Paladines, 2015).

Es considerada la enfermedad foliar más destructiva y de mayor valor económico en los cultivos de banano y plátano y que puede causar pérdidas de hasta un 50 % en el rendimiento. Sin medidas de control la Sigatoka Negra puede reducir hasta en un 50 % el peso del racimo y causar pérdidas del 100 % de la producción debido al deterioro en la calidad. Su nombre viene del Valle de Sigatoka en las Islas Fiji donde fue identificada por primera vez en 1912. Durante los siguientes 40 años, la enfermedad se difundió a todos los países productores de banano (Guzman y Paladines, 2015).

Los primeros síntomas de la enfermedad de Sigatoka negra son manchas cloróticas muy pequeñas que aparecen en la superficie inferior (abaxial) de la tercera o cuarta hoja abierta. Las manchas crecen convirtiéndose en rayas de color marrón delimitadas por las nervaduras. El

color de las rayas va haciéndose más oscuro, algunas veces con un matiz púrpura, y visible en la superficie superior (adaxial). Luego las lesiones se amplían, tornándose fusiformes o elípticas, y se oscurecen aún más formando las rayas negras de las hojas características de la enfermedad (Bennett y Arneson, 2005).

El desarrollo de la enfermedad se encuentra directamente influenciado por las condiciones climáticas, susceptibilidad de la variedad sembrada y manejo del cultivo. Las zonas más afectadas por la Sigatoka se caracterizan por tener una precipitación mayor a 1 400 mm anuales, humedad relativa mayor a 80 % y temperatura promedio entre 23 a 28 °C. La enfermedad es más agresiva en épocas lluviosas, debido a la presencia continua de una lámina de agua sobre las hojas que favorece los procesos de liberación e infección de las esporas (Álvarez, Pantoja y Ceballos, 2013).

### **2.1.1 Taxonomía.**

De acuerdo a Álvarez (2011) la clasificación taxonómica de la Sigatoka negra es la siguiente:

Reino: Fungi

Division: Ascomycota

Subdivision: Pezizomycotina

Clase: Dothideomycetes

Orden: Mycosphaerellales

Género: *Mycosphaerella*

Especie: *M. fijiensis*

Binomial name: *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

### **2.1.2 Origen y distribución de la Sigatoka negra.**

La Sigatoka negra, se describió como una enfermedad nueva en 1963, en las islas Fiji, donde en poco tiempo se diseminó desplazando a la Sigatoka amarilla, comportamiento que se presenta en forma similar en la mayoría de las regiones bananeras y plataneras en el mundo (Aguirre, Castaño y Zuluaga, 2003).

La sigatoka negra fue detectada en el Ecuador en febrero de 1987 al norte del país, en la provincia de Esmeraldas, para el año 1989 se la encontró en la provincia de los Ríos y Guayas y finalmente en 1992 apareció en las bananeras de la provincia de El Oro, al sur del país. Por lo que a esta enfermedad le tomo 5 años en infectar todas las bananeras del Ecuador (Rivas y Rosales, 2003).

La enfermedad causada por del hongo *Mycosphaerella fijiensis* M, es una limitante a nivel mundial, su principal limitante por ser una enfermedad foliar es la de reducir las producciones de las musáceas (bananos y plátanos), además la enfermedad puede llegar a causar en la planta

desordenes fisiológicos en su crecimiento y causa un deterioro muy severo de su área foliar y reduciría sus actividades fotosintéticas. Esto puede causar el no llenado del racimo por la dificultad de la asimilación de los nutrientes y llegando a ocasionar que la fruta presente madurez prematura y afectaría la calidad de la fruta para su exportación (Quintero, Cabrera y Zapata, 2011).

### **2.1.3 Agente causal de la Sigatoka negra**

El hongo de la sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* M, el cual presenta una reproducción sexual y asexual en todo su ciclo de vida. La más importante en la 15 reproducción de la enfermedad es la fase sexual, porque se presenta un gran número de ascosporas, llamados peritecios, correspondiendo a las esporas sexuales (Zhiñin, 2016).

Los conidios son hialinos, cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, de seis a nueve septos, delgados en el ápice y más ancho en la base con una cicatriz en el hilio basal del conidio (punto de unión entre el conidio y el conidióforo). En la presencia de las primeras lesiones tenemos la reproducción asexual (pizca), donde se observa la presencia de un número relativamente bajo de conidióforo (estructura donde se producen las esporas asexuales llamadas conidios) que salen de los estomas, principalmente en la superficie inferior de la hoja (Martínez-Bolaños et al., 2012).

La enfermedad de la sigatoka negra es importante ya que afecta el área foliar en el cultivo de banano, llegando a infectar a todas las especies de musáceas por medio de los estomas, la cual dentro de la cavidad subestomática se reproduce a través de la introducción de su tubo germinativo, este proceso se realiza en el envés de la hoja. Bajo sus condiciones favorables esta enfermedad puede ser muy mortal para las plantaciones bananeras, ya que puede llegar a disminuir las producciones hasta un 50 % por problemas de esta enfermedad, y puede exceder a un 100 % si se le presentan condiciones favorables (Rodríguez, Gaviria y Cayón, 2008).

El problema principal fitopatológico del cultivo de banano es el hongo ascomicete *Micosphaerella fijiensis* M, presenta unas elevadas colonizaciones de tejidos, produce mayor número de ascosporas y esta enfermedad puede predominar rápidamente ante otra enfermedad menos agresiva que se presenten en la parte foliar del banano (Hidalgo, Tapia, Rodríguez, y Serrano, 2005).

Cuando este hongo ataca la planta se ve afectada en el área foliar y en la productividad, obteniéndose racimos pequeños de bajo peso y disminuyendo la actividad fotosintética causando una maduración precoz de sus frutos que impiden su exportación (Quintero, Cabrera y Zapata, 2011).

La densidad estomática, bajo ciertas condiciones bioclimáticas y del cultivo, podrán ser unos de los factores importantes de regulación negativa a la entrada del hongos dentro de las plantas (Hernández, Portillo, Portillo, Navarro, Rodríguez y Velazco, 2006).

#### **2.1.4 Síntomas de la sigatoka negra**

Los síntomas en las plantaciones que se ven medianamente afectadas, pueden llegar a confundirse con los de la sigatoka amarilla, especialmente en las plantas jóvenes donde las manchas individuales tienden a ser de forma circulares u ovaladas, además que en las plantas adultas el ataque severo de la sigatoka negra es inconfundible, las manchas de color café y la gran cantidad de rayas que pueden llegar a cubrir toda el área foliar y se nota en forma descendente en las hojas y son más notorios desde la tercera hoja más joven abierta; estas lesiones son más abundantes y notorias en el envés de la hoja (Zhiñin, 2016).

El daño causado en el área foliar por la enfermedad de la sigatoka negra puede llegar a reducir su actividad fotosintética por causar una alteración en su fisiología, la cual ocasiona el apareamiento de manchas de coloración negra (necrosis) en el racimo de banano el cual nos causa perdida en la calidad de la fruta y por ende reduce su producción de exportación (Calle y Angali, 2014).



Para caracterizar los procesos de la sintomatología de la sigatoka negra y los estadios, se realiza con la escala de Fouré (Tumbaco Vera, 2011).

## **2.2 Biología del patógeno**

### **2.2.1 Reproducción sexual.**

Para producir la forma sexual el hongo inicialmente desarrolla muchos espermogonios en la superficie inferior de la hoja al colapsar las lesiones. El espermogonio es oscuro, un poco errumpente, y de forma piriforme. En condiciones húmedas estas estructuras pueden producir grandes cantidades de células de reproducción masculina (espermatias). Las espermatias son diminutas y cilíndricas y van a fertilizar las hifas hembras vecinas llamadas tricóginas (Bennett y Arneson, 2005).

### **2.2.2 Reproducción asexual.**

La forma asexual (anamorfa) se llama *Pseudocercospora fijiensis*. Las conidias germinan durante períodos de alta humedad relativa (92 – 100 % humedad relativa) e infectan a la hoja a través de los estomas, usualmente en la superficie inferior. Bajo condiciones de alta humedad, las hifas pueden emerger por las estomas y crecer a lo largo de la superficie de la hoja y penetrar por otras estomas, así agrandando las lesiones. Los conidióforos emergen por las estomas, y algunas veces sobre errumpentes

masas compactas de micelio (estromas). Los estromas también pueden desarrollarse sobre espermogonios jóvenes (Bennett y Arneson, 2005).

### **2.2.3 Las Ascosporas.**

Las ascosporas son de coloración hialina, forma globosa y con un septo que forman dos células unidas, una de las cuales es ligeramente más abultada que la otra (Martínez, Soto, Murillo y Gúzman, 2011)

### **2.2.4 Control de enfermedades.**

El control de enfermedades no debe estar basado únicamente en la aplicación de productos químicos, sino que estos deben ser un complemento de otras medidas posibles de utilizar. Esto es lo que se denomina manejo integrado de enfermedades, que considera el empleo de otros métodos de control como inspecciones reguladoras, control biológico, control físico y control cultural (Lehmann-Danzinger, 2004, p. 396).

### **2.2.5 Dispersión la Sigatoka Negra.**

Ataca solamente las hojas en donde produce una gran cantidad de manchas que colapsen rápidamente, causando necrosis y muerte de toda el área foliar. De esta manera, disminuye la actividad fotosintética afectando el normal crecimiento y productividad de las plantas y trayendo, como consecuencia, la maduración prematura de los racimos lo que se constituye

en la mayor causa de pérdidas ligadas al ataque de esta enfermedad (Merchán, 2000, citado por Bornacelly y Bolaño, 2003).

### **2.2.6 Rango de hospederos.**

Ataca a la familia de las Musáceae, *M. fijiensis*, se han registrados principalmente en banano y plátano. Los cultivares difieren en su reacción al patógeno. La inmunidad es desconocida y es posible que otras especies silvestres y subespecies de *Musa* sean infectadas, pero la enfermedad no se desarrolla significativamente. *M. fijiensis* puede también afectar el estado de plántulas de los hospederos silvestres (CABI, 1999).

### **2.2.7 Estrategias de detección.**

Algunas investigaciones realizadas para estudiar el efecto de las condiciones ambientales sobre el desarrollo de la sigatoka negra revelan que, en épocas de invierno, el ciclo de la enfermedad se acorta, alcanzando niveles epidémicos que ocasionan daños muy severos al follaje y pérdidas considerables sobre el rendimiento anual (Patiño y Mejía, 1999).

De igual forma se ha encontrado que, en épocas secas, el ciclo de la enfermedad se alarga notablemente; en consecuencia, se registran los menores niveles de severidad y de daños a la producción (Patiño, 2002).

## **2.3 El uso del ozono**

### **2.3.1 El ozono en la agricultura y el bienestar.**

Las principales aplicaciones del ozono en la agricultura son la inyección de agua ozonizada en el riego y los tratamientos foliares por pulverización (sustituyendo al sulfatado o al fumigado) (Panorama-agro, 2015).

El riego con agua ozonizada desinfecta las raíces y el sustrato, lo que impide enfermedades causadas por hongos o bacterias, mientras que su descomposición en oxígeno asegura unas raíces nuevas y sanas hasta el final del cultivo. Por su parte, los tratamientos foliares con ozono evitan otros ataques bacterianos o fúngicos (Panorama-agro, 2015).

La mayoría de los microorganismos asociado con pudriciones de frutas y verduras son inocuos a los humanos. Esto incluye los géneros de bacterias *Erwinia* y *Pseudomonas* y muchos hongos como *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Alternaría*, entre otros (Pincay, 2012).

La mayor parte de los productos crudos sanos tienen en cualquier parte de ellos unos cuantos miles o millones de microorganismos por gramo. La presencia de muchos de estos microorganismos es de mucha preocupación por causar pudrición del producto y el procedimiento normal de

lavado puede reducir la carga microbiana nativa en la superficie por hasta un 99 %. Con un microflora inicial de uno a diez mil microbios por gramo, la pudrición puede ocurrir dentro de diez a catorce días a una temperatura de almacenamiento de 5 °C. Entre más baja sea la población microbiana inicial, es más alarga la vida de anaquel del producto. El ozono es un germicida muy eficaz; los virus, bacterias y hongos son totalmente aniquilados con una exposición adecuada (Larson, 1988).

Es costumbre rociar productos desplegados en tiendas de comestibles y supermercados para guardarlos frescos y húmedos. Se permite ahora (por la FDA) agregar Ozono al agua de rocío reforzando los efectos beneficiosos del agua en el producto y disminuyendo la oportunidad de crecimientos de microorganismo. Por supuesto, debe prestarse atención apropiada para guardar la cantidad de Ozono disuelto bajo los límites controlados para minimizar el escape de Ozono en la atmósfera circundante (Kingozone, 2010).

Por otra parte, los generadores de ozono pueden eliminar los pesticidas y hacer que los empleados del sector agrícola puedan trabajar del modo más saludable y con menos riesgos. Para evitar la mayor parte del contacto directo con los pesticidas, los trabajadores deben utilizar distintos tipos de dispositivos de seguridad, como ropa impermeable y el uso de

guantes en todo momento, así como mascarillas para evitar respirar los gases producidos por los elementos químicos (Innovagri, 2015).

El ozono, dado su alto poder oxidante y su descomposición espontánea a oxígeno, se ha convertido en un agente potencial para la seguridad microbiológica y la calidad de estos productos (Bataller, Santa - Cruz, y García, 2010).

### **2.3.2 Acción germicida.**

Conocida la acción germicida directa del ozono sobre todo tipo de microorganismos, tanto hongos como bacterias y virus. Entre las bacterias que combate el ozono se encuentran familias tales como: *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Legionella*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, entre otros y entre los hongos, muchos pertenecen a los gérmenes *Cándida*, *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*) y otros causantes de enfermedades en los humanos por el consumo de agua contaminada. Con un residual de 0.6 mg O<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> en el agua la acción bactericida sobre el *Escherichia coli* se realiza en 2.5 minutos (Ramírez y Sainz, 2012).

El ozono en estado gaseoso es muy eficaz para la conservación de frutas y hortalizas. Usado en el interior de cámaras frigoríficas y salas de manipulación permite la reducción de hongos, bacterias y virus superficiales. También elimina de forma continua el etileno del ambiente, alargando el

tiempo de conservación de frutas y hortalizas. En resumen, con ozono se pueden obtener productos frescos durante más tiempo y controlar el etileno y la maduración de los frutos (Panorama-agro, 2015).

Numerosos estudios en el tratamiento de las aguas indican que el ozono es el desinfectante más efectivo respecto a otras alternativas. Posee un elevado poder oxidante y germicida, es inestable tanto en agua como en el aire y se descompone a oxígeno en un tiempo corto sin generar subproductos de reacción indeseables (Bataller, Santa-Cruz, y García, 2010).

El riego con agua ozonizada desinfecta las raíces y el sustrato, lo que impide enfermedades causadas por hongos o bacterias como *Fusarium*, pudrición bacteriana o *Phytophthora*; mientras que su descomposición en oxígeno asegura unas raíces nuevas y sanas hasta el final del cultivo. Por su parte, los tratamientos foliares con ozono evitan otros ataques bacterianos o fúngicos como la *Botritis*, ceniza o mildiu (Panorama-agro, 2015).

En el apartado de análisis químico de los suelos, los investigadores indican que, al aumentar el tiempo de aplicación de ozono, se observa que el suelo se acidifica, hasta y el fósforo asimilable aumenta. La conductividad,

asimismo, sigue una tendencia ascendente aunque poco significativa (Sinc, 2011).

El agua ozonizada utilizada para el riego proporciona oxígeno a la raíz, liberándola de virus, bacterias, hongos, algas marinas, esporas y otros microorganismos, y además promueve un crecimiento rápido y constante, con más vitalidad y más productividad (Oz-air, 2012).

### **2.3.3 Producción de ozono.**

En su esencia el ozono no es más que oxígeno diatómico ( $O_2$ ), con un átomo extra de oxígeno formado por una alta carga eléctrica. En la naturaleza el ozono se produce por algunas reacciones químicas. El ejemplo más conocido es por supuesto la capa de ozono, donde el ozono es producido por los rayos ultravioleta (UV) del sol (Lenntech.es, 2016).

El ozono también se forma durante las tormentas eléctricas. Esto produce el olor característico que aparece después de esas tormentas. En las líneas 10 a 15 el autor diferencia entre “ozono malo” y “ozono bueno” (Inee, 2015, p. 109).

Existen dos formas de obtener ozono en la industria. El método más generalizado consiste en hacer pasar aire a través de unos tubos de vidrio



con superficies metalizadas dispuestos de forma concéntrica (ozonizadores) entre los que se hace saltar una descarga de alta diferencia de potencial (unos 15 kV) y alta frecuencia (50 Hz) que actúa sobre las moléculas de dióxigeno ( $O_2$ ) provocando la formación del ozono (trioxígeno). Posteriormente se puede separar el ozono por destilación fraccionada. De esta forma se obtiene ozono mezclado con el aire en concentraciones de aproximadamente un 2 %. Otra forma de obtención, en concentraciones menores, consiste en irradiar aire con luz ultravioleta (Tecnozon, 2015).

Artificialmente el ozono se puede producir con luz ultravioleta o por medio de descargas eléctricas de alto voltaje. La luz ultravioleta no es tan efectiva como la descarga eléctrica. Las descargas de alto voltaje se aplican al aire o al oxígeno, el cual circula por un espacio reducido, lo que produce la disociación del oxígeno ( $O_2$ ) y al cual se le añade un átomo de otra molécula de oxígeno disociado, creándose finalmente el ozono ( $O_3$ ). El ozono no es almacenado o acarreado como el cloro. El ozono es un compuesto muy inestable, siendo su vida muy corta (30 minutos) o que una vez realizada su labor de desinfección se descompone formando oxígeno, por lo cual es necesario que se genere en el sitio de consumo (Ramírez y Sainz, 2012).

Destrucción de microorganismos patógenos: bacterias, hongos y virus, con elevación de la calidad microbiológica del agua, evitándose

enfermedades. Eliminación de algas Ahorro en reactivos purificadores (Pincay, 2012).

El efecto del agua ozonizada consiste básicamente en una mucha mayor aportación de oxígeno a la raíz. El agua ozonizada que llega al riego está completamente libre de virus, bacterias, hongos, algas, esporas y cualquier otro microorganismo. El Ozono es el desinfectante más potente de cuantos se conocen. La ausencia de gérmenes confiere al agua las mejores condiciones posibles para lograr un crecimiento mucho más rápido de lo habitual. La planta crecerá con más viveza cómo podrá comprobarse al cabo de un pequeño espacio de tiempo (entre 30 y 40 días desde el inicio del tratamiento), y con más vitalidad y fuerza (Ozonodecalidad, 2012).

#### **2.3.4 Magnitud y empleo del ozono en agricultura.**

La utilización de riego con ozono en el sector agrícola aparece como una buena alternativa para disminuir la población de *Fusarium* sin generar ningún residuo tóxico (Cosemarozono.es, 2016).

Ahorro sustancial en abonos y pesticidas, debido a que el buen funcionamiento de la técnica, reduce un 50 % la aplicación de abonos, ya que cada dos riegos uno debe de realizarse sólo con agua ozonizada, además de ello, nos permite la eliminación de pesticidas debido a que los

beneficios generados por el Ozono permitirán eliminar los microorganismos que pongan en peligro los cultivos (Ferpa-graphic, 2011).

Tanto las plantas, como el producto arrancado, contarán con mejores condiciones de conservación. Existe un sistema de ozonización de aire diseñado especialmente para el transporte en cámaras frigoríficas que aporta estas y otras ventajas, tanto para el propio vehículo, como a la mercancía. El producto regado con agua ozonizada (y/o almacenado-transportado en ambientes ozonizados) posee una vida más larga y es improbable que aparezca con defectos externos. Está en perfectas condiciones de inmunidad microbiológico (Ozonodecalidad, 2010)

### **2.3.5 El ozono empleado a la agricultura.**

El Ozono es una variedad alotrópica del oxígeno, muy conocido por su presencia en la estratósfera, donde se forma por la acción de los rayos Ultravioletas del sol, los cuales absorbe en gran medida, evitando de éste modo su acción perjudicial sobre los seres vivos. El Ozono posee un poder oxigenante mayor que el del oxígeno normal, y por ello mejora el proceso respiratorio a nivel celular. Es también conocida la acción germicida directa del Ozono sobre todo tipo de microorganismos, tanto hongos como bacterias y virus (Hidritec, 2011).

Entre las bacterias que combate el Ozono se encuentran familias tales como: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, *Legionella*, entre otros y entre los hongos, muchos pertenecen a los gérmenes *Candida aspergillus* (Hidritec, 2011).

El uso de agua ozonizada en cultivos permite incrementar la productividad de las explotaciones entre un 15 % y un 40 %.

El ozono potencia y estimula las raíces aportando oxígeno, lo que aumenta la producción y calidad de los frutos. Además se trata de un gran desinfectante que evita las enfermedades de las plantas sin generar residuos químicos (Panorama-agro, 2015).

Por otro lado, los sistemas de ozono reducen los costes económicos debido al ahorro en químicos, abono y agua de riego. Todo ello contribuye a incrementar de forma significativa la rentabilidad de la explotación (Panorama-agro, 2015).

Al rociar los productos con agua ozonizada durante la técnica del hidrocooling, se garantiza la total desinfección del producto, sin dañarlo y sin dejar ningún residuo químico alguno, ya que el ozono se descompone en oxígeno (Aspozono, 2015).

De este modo, se ahorra en productos químicos contaminantes como el cloro, se mejora la seguridad alimentaria de las frutas y hortalizas y se facilita su comercialización, cumpliendo los más estrictos controles legales y de calidad. Por otro lado, el uso del ozono en hidrocooling también mejora del aspecto del producto, así como favorece el alargamiento de su vida útil (Aspozono, 2015).

El uso de plaguicidas y otros agentes químicos deja atrás los residuos, que son perjudiciales para el consumo humano y para el medio ambiente, por otra parte el ozono no deja atrás ningún residuo y se descompone nuevamente en oxígeno (Oz-air, 2012).

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Localización del Ensayo**

El presente trabajo de investigación, se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, entre los meses de Octubre de 2016 a Febrero de 2017.

Se utilizó cultivo de Sigatoka Negra *in vitro* reproducida en el laboratorio.

#### **3.2 Materiales**

##### **3.2.1 Material biológico.**

- Hojas de banano (variedad *Cavendish gran enano*)
- Enfermedad de Sigatoka negra
- Agar
- Dextrosa
- Soya
- Ácido láctico

### **3.2.2 Hoja de banano.**

Las hojas de banano fueron escogidas con la enfermedad de sigatoka negra en la zona de Vinces para realizar los cortes seleccionados para reproducir el hongo en el medio de cultivo.

### **3.2.3 Hongo de Sigatoka negra.**

Se realizó una desinfección adecuada para poder reproducir satisfactoriamente el hongo en el medio de cultivo, para ello se realizaron cortes pequeños en rectángulo y se colocaron cuatro muestras por caja Petri.

### **3.2.4 Agar.**

El agar que se utilizó fue el AGAR AGAR CM-AA317 sus especificaciones son: Sieve analysis on mesh 60 pass, gel strength 1010 g/cm<sup>2</sup>, melting point 93 C, Gelling point 35 C.

Este producto se realizó una conversión para usarlos en 2 335 ml de difusión, esto quiere decir que en 1 000 ml de difusión se utilizó 15 g de agar, en 2 335 ml de difusión se utilizó 35.025 g de agar.

### **3.2.5 Destrose Anhydrous.**

Se utilizó Destrose anhydrous AR for Bacteriology (D-(+)- Glucose). Se realizó la conversión en 20 g se utilizan en 1 000 ml y para los 2 335 ml se utiliza 46.70 g en la difusión.

### **3.2.6 Soya (*Glycine max*).**

Se utilizó 200 g de soya para 1 000 ml de agua, esto se dejó en reposo con agua por 24 horas, luego se realizó la limpieza del grano desechando la cascarilla para evitar que la fibra que se desprende afecte al medio de cultivo y se endurezca.

### **3.2.7 Ácido láctico.**

El ácido láctico se colocó en el medio de cultivo esterilizado una vez que se iba a colocar en las cajas Petri dentro de la cámara de flujo. Se adicionó una gota de ácido láctico por cada 10 ml de medio de cultivo.

### **3.2.8 Material técnico.**

- Agenda
- Lupa
- Regla en cm
- Cajas Petri
- Pinza
- Saca bocado



- Mechero
- Alcohol
- Algodón
- Tubo de ensayo
- Cedazo
- Gramera
- Botella de laboratorio
- Agua destilada
- Cocina industrial

### **3.2.9 Material Tecnológico.**

- Computadora
- Cámara Fotográfica
- Teléfono Móvil
- Ozonizador
- Esterilizador
- Auto clave
- Cámara de flujo laminar

### **3.3 Variables estudiadas**

Medición diámetro del micelio en cm.

### **3.4 Diseño estadístico**

- Diseño de muestras pareadas.

### **3.5 Metodología**

Para la medición de las variables anteriormente expuestas, se utilizó un diseño de muestras pareadas con 6 tratamientos y 5 repeticiones, siendo el indicador la enfermedad de la sigatoka negra cultivada y reproducida en cajas Petri con medio de cultivo a base de soya.

Los tratamientos en estudio fueron:

- Testigo aspersion con agua
- Testigo absoluto sin aspersion
- Concentración de 1.0 ppm O<sub>3</sub>
- Concentración de 2.0 ppm O<sub>3</sub>
- Concentración de 3.0 ppm O<sub>3</sub>
- Concentración 4.0 ppm O<sub>3</sub>

El trabajo consistió en la aplicación ozono en agua disuelto al hongo (micelio), las aplicaciones de ozono en los tratamientos en estudio se realizaron una sola vez, para eso se utilizó un medidor de ozono para realizar las diferentes concentraciones. Estas aplicaciones se realizaron con

la finalidad de inhibir el crecimiento del hongo y comparar la eficiencia de las concentraciones en los diferentes tratamientos.

Se realizó un diseño de muestras pareadas con 6 tratamientos y cada uno de ellos tuvo 5 repeticiones.

Cuadro de ANDEVA.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Tratamientos (t – 1)	5
Repeticiones (r -1)	4
Error (r –1) (t – 1)	20
Total (rt –1)	28

### **3.6 Método**

Método experimental de laboratorio, se tomó la muestra de hojas infestadas con la enfermedad de la sigatoka negra del cultivo de banano variedad *Cavendish gran enano*.

Se realizó los cortes en rectángulos muy pequeños para la purificación de las muestras por lo consiguiente colocarlos en las cajas Petri que contienen medio de cultivo a base de soya.

El medio del cultivo se realizó utilizando Agar agar, Dextrose Anhydrous y soya. La soya se dejó en reposo con agua por 24 horas para luego hervir 1 000 ml de agua destilada colocando la soya hasta quedar la difusión requerida, luego se dejó la difusión con un cedazo para luego colocar el agar y el dextrose por unos minutos.

Una vez que el medio de cultivo fue realizado se colocó en botellas de laboratorio para su respectivo reposo hasta utilizar. Una vez que se obtuvo las muestras de las hojas contaminadas con la enfermedad de la sigatoka negra se utilizó el medio de cultivo que se envasó en las botellas de ensayo, por ende se colocaron en el auto clave para esterilizar la muestra por aproximadamente una hora y treinta minutos.

Mientras se realizó la esterilización del medio de cultivo, se tuvo listas las cajas Petri esterilizadas en las estufas, aquellas que luego fueron trasladadas a la cámara de flujo laminar. Una vez esterilizado el medio de cultivo y haya quedado líquida por la temperatura, se dejó que el recipiente quede a temperatura soportable para trabajar; se trasladó a las cámara de flujo y dentro de ella se mantuvo un mechero encendido para evitar la contaminación del aire; para colocar el ácido láctico se colocó 1 gota por cada 10 ml de medio cultivo; esto evitó el crecimiento de bacterias en el ensayo.

Una vez listas las cajas Petri con el medio de cultivo, se procedió a dejar enfriar para que se convierta en sólido. Una vez que se solidificó el medio de cultivo en las cajas Petri se procedió a colocar las pequeñas muestras de hojas infestadas. En cada caja Petri se colocaron cinco muestras separadas de 6 cm aproximadamente ubicadas en cuadrado para su reproducción.

Demoró, aproximadamente, una semana para que el hongo haya logrado el crecimiento requerido. Una vez que se reprodujo el hongo se procedió a replicar el micelio, esto se realizó con un saca-bocado junto a un mechero prendido y las manos limpias con alcohol al 70 % para descontaminarlas.

Se culminó la reproducción del hongo y se dejó listas las cajas Petri con los seis tratamientos y cada una de ellas con cinco repeticiones, luego se dejó que cumpla el crecimiento esperado para proceder a la aplicación de ozono.

Se trabajó en determinar las concentraciones para cada tratamiento para ello se utilizó el ozonificador, agua destilada, medido de ozono en ppm, reactivos de medidor de ozono, tubos de ensayos, aspersores manuales,

alcohol y algodón. Una vez que se realizó el burbujeo en el agua de ozono se determinó cada concentración para cada tratamiento.

Finalmente, se realizó la aspersión de agua ozonificada en cada tratamiento con su determinada concentración, esto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación de nuestro ensayo.

### **3.7 Valor de la dosis óptimo de ozono en ppm**

Para determinar la dosis óptima se realizaron 6 replicaciones, cuatro de ellas se establecieron concentraciones de 1, 2, 3 y 4 partes por millón para aplicar al micelio de sigatoka negra y relacionarlo con el trabajo en campo realizado por Llerena y Aguirre, 2014.

**Tabla 1.** Realización de concentraciones de ozono

<b>Variable Ozono</b>		
<b>Trataientos con aplicación de ozono</b>	<b>Ppm de Ozono</b>	<b>Tiempo para la concentracion de ozono esperada</b>
T3	1 ppm	1 min y 30 seg
T4	2 ppm	2 min y 45 seg
T5	3 ppm	3 min y 55 seg
T6	4 ppm	5 min y 05 seg

Elaborado por: El Autor

### **3.8 Diseño de la investigación**

Para lograr este propósito se analizó el crecimiento del micelio y/o la inhibición del mismo y se midió las concentraciones para establecerlas en cada tratamiento, estuvieron distribuidos por tratamientos para diferenciarlos por concentración de aplicación de ozono y dos testigos para su diferenciación, se colocaron 5 cajas Petri con 6 tratamientos.

#### **3.8.1 Tratamientos en estudio.**

- T1 Testigo aspersion con agua
- T2 Testigo absoluto sin aspersion
- T3 Aplicación de ozono con concentración de 1.0 ppm
- T4 Aplicación de ozono con concentración de 2.0 ppm
- T5 Aplicación de ozono con concentración de 3.0 ppm
- T6 Aplicación de ozono con concentración de 4.0 ppm

#### **3.8.2 Técnicas y modelos de análisis de datos.**

Las técnicas de datos fueron escogidas por tratamientos, en cada repetición, se realizó la medición del diámetro del micelio en cm, es así que las evaluaciones fueron ejecutadas cada tres días. En cada repetición se

colocaron los promedios de las mediciones por evaluación para luego realizar los análisis respectivos.

Se analizaron por muestras apareadas que consistió en comparar los tratamientos testigos que son aplicación de agua y el testigo absoluto con los tratamientos que se les aplicó diferentes números de concentraciones de ozono disuelto en agua.



## 4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

Una vez analizada esta variable y obtenido el promedio de cada tratamiento y en cada evaluación se determinó que:

En la evaluación 0, indica los tratamientos sin aplicación alguna en general señala que estadísticamente son iguales, esto quiere decir que los tratamientos testigos 1 y 2 no existen diferencia alguna con los tratamientos 3, 4, 5 y 6.

En la evaluación 1, se determinó que el tratamiento 5 (denominado aplicación de 3 ppm de agua ozonificada) demostró el menor crecimiento en diámetro (3.03 cm) en relación al tratamiento testigo absoluto (3.68 cm de diámetro). Sin embargo los tratamientos ozonificados 3, 4 y 6 (1 ppm, 2 ppm y 4 ppm) demostraron ser estadísticamente similares en sus diámetros respecto al testigo 1 sometido a aspersion con agua.

En la evaluación 2, se estableció que en el tratamiento con aplicación de agua ozonificada 4 (3.14 cm de diámetro), 5 (3.11 cm de diámetro) y 6 (3.29 cm de diámetro) (2 ppm, 3 ppm y 4 ppm) son estadísticamente similares a diferencia del testigo 1 con aplicación a aspersion con agua (3.98 cm de diámetro) y el tratamiento con aplicación de agua ozonificada 3,

tuvo diferencia estadística con los Tratamientos 4, 5 y 6 y sin embargo tuvo diferencia estadística de menor crecimiento con el Tratamiento 2 testigo absoluto.

En la evaluación 3, se señaló que los tratamientos 3, 4, 5 y 6 indican que estadísticamente tienen similitud, demostrando así que tienen diferencia estadística del tratamiento con aplicación de agua (1) y el Tratamiento absoluto (2).

**Tabla 2.** Diámetro del micelio (Duncan 0.05 %)

T	Evaluación 0	Evaluación 1	Evaluación 2	Evaluación 3
1	3.01 A	3.54 A B	3.98 A	4.56 A
2	3.09 A	3.68 A	3.82 A B	4.16 A
3	2.85 A	3.12 A B	3.39 B C	3.36 B
4	2.55 A	3.12 A B	3.14 C	3.23 B
5	2.96 A	3.03 B	3.11 C	3.26 B
6	3.02 A	3.14 A B	3.29 C	3.45 B

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

Elaborado por: El Autor

Para realizar la T pareada se escogió los promedios de cada evaluación para poder compararlos con los tratamientos 1 (testigo aspersion con agua) y 2 (Testigo absoluto). En la evaluación antes la aplicación observamos que el testigo agua vs los tratamientos 3, 4, 5 y 6 (1 ppm, 2 ppm, 3 ppm y 4 ppm) no son significativos según la prueba; así mismo la comparación con el tratamiento 2 (testigo absoluto) vs los tratamientos 3, 4, 5 y 6.

En la primera evaluación donde se aplicó agua ozonificada, se realizó la comparación testigo agua vs tratamientos 3, 4, 5 y 6 donde se observa que en el tratamiento 3 existe una significancia; con el tratamiento 5 se encontró alta significancia y así mismo se verificó los tratamientos 4 y 6 que no existe significancia alguna, en el tratamiento absoluto vs los tratamientos 3, 4, 5 y 6 se observó que el tratamiento 3 y 5 tienen significancia así mismo señaló que los tratamientos 4 y 6 son altamente significativos.

En la segunda evaluación se observó que la comparación con el tratamiento testigo agua tiene una significancia con los tratamientos 3, 4 y 6, sin embargo, el tratamiento 5 tiene una alta significancia, así mismo, se determinó que el tratamiento testigo absoluto vs los tratamientos 3, 4 y 6, tienen una significancia resaltando siempre en esta evaluación el tratamiento 5 con una alta significancia.

En la tercera evaluación fueron determinados que todos los tratamientos son altamente significativos al compararlos con los dos tratamientos testigos denominados T1 aspersión agua y T2 testigo absoluto.

Los resultados de este trabajo coinciden con los obtenidos por la investigación realizada por Kazuhiro, Masato, Yugo y Kenji (2006), los cuales investigaron el potencial del agua ozonificada como alternativa de

desinfectantes del suelo, en la reducción de las densidades población de *Fusarium oxysporum*, utilizando arena de cuarzo en forma artificial infestada con el hongo, dando significancia lo cual redujo la densidad de la población de Fusarium, al resultado observando la reducción en la densidad de población.

**Tabla 3.** Diámetro del micelio en Prueba de T pareada (0.05%)

	Evaluación antes de la aplicación				Tratamientos ozonificados				Tratamientos ozonificados				Tratamientos ozonificados			
	Concentraciones en Ppm				1ra Evaluación Ppm				2da Evaluación Ppm				3ra Evaluación Ppm			
	T3	T4	T5	T6	T3	T4	T5	T6	T3	T4	T5	T6	T3	T4	T5	T6
T 1	0.70 ns	1.89 ns	1.7 ns	0.03 ns	2.3 *	1.6 ns	4.22 **	1.29 ns	2.87 *	2.87 *	7.01 **	2.24 *	3.81 **	3.81 **	5.77* *	3.33 **
T 2	0.88 ns	1.75 ns	1.3 ns	0.19 ns	2.9 4*	3.06 **	2.8* **	3.54 **	2.02 *	2.06 *	4.14 **	2.03 *	3.81 **	5.02 **	5.29* *	3.33 **

Elaborado por: El Autor

## 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Con respecto a los objetivos en la investigación en función de los resultados encontrados para la inhibición del micelio del hongo de Sigatoka negra en condiciones *in vitro*, se concluye:

Se establecieron concentración óptima de 3 ppm para el control de *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducidas en condiciones *in vitro*.

Las concentraciones de ozono utilizadas en el presente ensayo controlaron el crecimiento del micelio en condiciones *in vitro*

### 5.2 Recomendación

- Utilizar la concentración de 3 ppm para realizar la inhibición del hongo
- Se realicen trabajos de investigación con otras concentraciones de ozono en condiciones *in vitro*.

## BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, Castaño y Zuluaga. (2003). *Fitopatología* - Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad de Caldas. Recuperado el 11 de enero de 2017, a partir de <http://ciagrope.tripod.com/fitote30.html>

Álvarez, E., Pantoja, A., Gañán, L. y Ceballos, G., (2013). *La sigatoka negra en plátano y banano*. Palmira (Valle del Cauca): Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) Acuerdo de Apoyo CIAT/FAO.

Álvarez. J. H. (2011). *Descripción científica de la sigatoka negra*. Recuperado a partir de <https://cultivodeplatano.com/2011/05/06/descripcion-cientifica-de-la-sigatoka-negra/>

Aspozono. (2015). *Ozono para invernaderos y agricultura* | ASP Ozono. Recuperado el 11 de enero de 2017, a partir de <http://www.aspozono.es/invernaderos-agricultura.asp>

Aspozono. (2015). *Ozono para la Agricultura (invernaderos, cultivos hidropónicos, agricultura ecológica)*. Recuperado de <http://www.aspozono.es/invernaderos-agricultura.asp>

Bataller, M., Santa-Cruz, S., García, Ma. (2010). *El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas*. Revista CENIC Ciencias Biológicas.

Bennett, R. S., y Arneson, P. A. (2005). *Sigatoka Negra*. The Plant Health Instructor. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2005-0217-01>

CABI. (1999). *Ficha técnica de la sigatoka negra*. Recuperado de: <http://www.insai.gob.ve/wp-content/uploads/2016/09/Ficha-T%C3%A9cnica-Sigatoka-Negra-Final.pdf>

Calle y Yangali. (2014). *La Sigatoka Negra en el Ecuador*. Recuperado de: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2014/12/PresentacionSigatokaH-Calle-JYangali.pdf>

Cosemarozono. (2016). *Prevención y control de Plagas y enfermedades en suelos agrícolas con ozono*. Recuperado de

<http://www.cosemarozono.es/blog/2016/08/plagas-enfermedades-suelos-agricolas/>

Ferpa graphic. (2011). *Aplicaciones del ozono en la agricultura*. Recuperado de <http://www.ferpa-graphic.com/index.php/productos/sistemas-de-ozono/agricultura-y-ganaderia/agricultura-y-ozono>

Guzmán y Paladines. (2015). *Sigatoka Negra*. Recuperado el 12 de enero de 2017, a partir de <http://www.croplifela.org/es/plaga-del-mes?id=163>

Hernández, Y., Portillo, F., Portillo, M., Navarro, C., Rodríguez, M., y Velazco, J. (2006). *Densidad estomática en materiales de plátano (Musa AAB, AAAB y ABB) susceptibles y resistentes a Sigatoka Negra (Mycosphaerella fijiensis, Morelet)*. ResearchGate. Recuperado a partir de [https://www.researchgate.net/publication/28128820\\_Densidad\\_estomat\\_ica\\_en\\_materiales\\_de\\_platano\\_Musa\\_AAB\\_AAAB\\_y\\_ABB\\_susceptible\\_s\\_y\\_resistentes\\_a\\_Sigatoka\\_Negra\\_Mycosphaerella\\_fijiensis\\_Morelet](https://www.researchgate.net/publication/28128820_Densidad_estomat_ica_en_materiales_de_platano_Musa_AAB_AAAB_y_ABB_susceptible_s_y_resistentes_a_Sigatoka_Negra_Mycosphaerella_fijiensis_Morelet)

Hidalgo, M., Tapia, A., Rodríguez, W., y Serrano, E. (2005). *Efecto de la Sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (Musa sp. AAA, cv. Valery)*. Agronomía



Costarricense, 30(1). Recuperado a partir de <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6829>

Hidritec. (2011). *El ozono en la agricultura*. Recuperado de <http://www.hidritec.com/hidritec/el-ozono-en-la-agricultura>

Inee. (2015). *Ozono*. Recuperado de [http://recursostic.educacion.es/inee/pisa/ciencias/cienciaspisa/geologia/geologia\\_er/108\\_pisageologia\\_ozono\\_er.pdf](http://recursostic.educacion.es/inee/pisa/ciencias/cienciaspisa/geologia/geologia_er/108_pisageologia_ozono_er.pdf)

Innovagri. (2015). *El uso de ozono en la agricultura para incrementar los rendimientos de más de 250 cultivos*. Recuperado de <http://www.innovagri.es/actualidad/asepsia.html>

Kazuhiro, Masato, Yugo y Kenji. (2006). *Effects of Ozonated Water Application on the Population Density of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici in Soil Columns*. Recuperado de: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919510600559435?src=recsysjournalCode=bose20>

Kingozono. (2010). *El uso del ozono en plantas de alimentos*. Recuperado de <http://www.kingozono.com.mx/alimento.htm>.

Larson, R.A., (Ed.) (1988). *Biohazards of Drinking Water Treatment*. Lewis Publishers, Chelsea, MI.

Lehmann-danzinger, h. (2004). *Introduction to integrated pest management of plant diseases and pests in the tropics/subtropics*. Germany.University of Göttingen. 396 p.

Lenntech. (2016). *Qué es el ozono*. Recuperado de <http://www.lenntech.es/biblioteca/ozono/preguntas-mas-frecuentes/faqozono-esp.htm>.

Llerena y Aguirre. (2014). *Ozono, alternativa contra sigatoka*. Recuperado de <http://www.eluniverso.com/noticias/2014/11/01/nota/4171716/ozono-alternativa-contra-sigatoka>

Martin, P y Palacios, P. (2006). *Efectos del ozono sobre el tomate en poscosecha*. Recuperado de <http://www.horticom.com/pd/article.php?sid=64192>

Martínez I., R.V., Soto E., Murillo G, Gúzman M. (2011). *Manejo de la sigatoka negra en el cultivo del banano: proyecto demostrativo con 114 implementación de BPA*. CORBANA. Dirección de investigaciones sección fitopatología. Costa Rica.

Martínez-Bolaños, L., Téliz-Ortiz, D., Rodríguez-Maciel, J. C., Mora-Aguilera, J. A., Nieto-Ángel, D., Cortés-Flores, J. I., ... Silva-Aguayo, G. (2012). *Resistencia a fungicidas en poblaciones de Mycosphaerella fijiensis del sureste mexicano*. *Agrociencia*, 46(7), 707–717.

Merchan. (2000). Citado por Bornacelly y Bolaños. (2003). *Ficha técnica de la sigatoka negra*. Recuperado de: <http://www.insai.gob.ve/wp-content/uploads/2016/09/Ficha-T%C3%A9cnica-Sigatoka-Negra-Final.pdf>

Oz-air. (2012). *Ozone in agriculture | ozone water treatment Machine suppliers | Agricultural Water Systems Manufacturers | India*. Recuperado el 11 de enero de 2017, a partir de <http://www.oz-air.com/agriculture.html>

Ozonodecalidad. (2010). *El ozono en la agricultura*. Recuperado de <http://www.ozonodecalidad.es/272560998>

Panorama-agro. (2015). *El uso del ozono en agricultura protegida incrementa la productividad. Noticias.* Recuperado de <http://panorama-agro.com/?p=7899>

Patiño y Mejía. (1999). *Ficha técnica de la sigatoka negra.* Recuperado de: <http://www.insai.gob.ve/wp-content/uploads/2016/09/Ficha-T%C3%A9cnica-Sigatoka-Negra-Final.pdf>

Patiño. (2002). *Ficha técnica de la sigatoka negra.* Recuperado de: <http://www.insai.gob.ve/wp-content/uploads/2016/09/Ficha-T%C3%A9cnica-Sigatoka-Negra-Final.pdf>

Pincay. (2012). *El ozono en la agricultura y el bienestar.* Universidad autónoma de Sinaloa, Mexico.DF.

Pincay. (2012). *El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas,* 41() 155-164. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220593001>

Quintero, A. C., Cabrera, E. Á., y Zapata, J. C. (2011). *Evaluación de Resistencia de Genotipos de Plátano y Banano a la Sigatoka Negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet.)*. Revista Facultad Nacional de Agronomía, 64(1), 5853–5865.

Ramirez V., J. Sainz R. R. (2012). *El ozono en la agricultura y el bienestar*. Universidad autónoma de Sinaloa, México. DF

Rivas, G. y Rosales, F. (2003). *Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos*. Actas del Taller “Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas”, celebrado en Guayaquil, Ecuador. 11- 13 de agosto, 2003.

Rodríguez-Gaviria, P. A., y Cayón, G. (2008). *Physiological effect of Mycosphaerella fijiensis in banana leaves*. Agronomía Colombiana, 26(2), 256–265.

S.A.S, P., y Manager. (2015). *Producción de Banano en el Mundo - Puerto Antioquia Urabá*. Recuperado el 23 de enero de 2017, a partir de

<http://www.puertoantioquia.com.co/portal/es/noticias/item/29-produccion-de-banano-en-el-mundo.html>

Sinc. (2011). *El ozono es efectivo para desinfectar suelos agrícolas*. Recuperado de <http://www.agenciasinc.es/Noticias/El-ozono-es-efectivo-para-desinfectar-suelos-agricolas>

Tecnozo. (2015). *Ozono*. Portal de medio ambiente. Recuperado por <http://www.tecnozono.com/ozono.htm>

Torrado-Jaime, M., y Castaño-Zapata, J. (2008). *Incidence and severity of black (Mycosphaerella fijiensis Morelet) and yellow (Mycosphaerella musicola Leach et Mulder) sigatocas of plantain according to the phenological stages*. *Agronomía Colombiana*, 26(3), 435–442.

Tumbaco Vera, J. (2011). *Evaluación del efecto sobre sigatoka negra, en hojas separadas de banano, cavendish (variedad williams), del extracto de melaleuca alternifolia en 3 zonas del litoral ecuatoriano*. Recuperado a partir de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/15974>

Zhiñin. (2016). *Evaluación del fungicida orgánico pk - 50 en sigatoka negra (mycosphaerella fijiensis m.) bajo condiciones de campo y laboratorio.*

Recuperado

de:

[http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7636/1/DE00027\\_](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7636/1/DE00027_)

TRABAJO DETITULACION.pdf

# **ANEXOS**



Tabla 4. Medición de diámetro del micelio Inicial sin aplicaciones

Toma de Datos Inicial 27-12-2016 12:20 PM

Tratamiento		Repeticiones																			
Diametros del micelio		I	Total	Promedio	II	Total	Promedio	III	Total	Promedio	IV	Total	Promedio	V	Total	Promedio					
Aplicación de agua	T1	3,2	2,3	5,5	2,75	3,1	2,7	5,8	2,9	3,4	2,7	6,1	3,05	2,8	3,8	6,6	3,3	3,3	2,8	6,1	3,05
Aplicación de O <sub>2</sub> 0ppm	T2	2,5	3	5,5	2,75	3,1	3,4	6,5	3,25	3,3	3,1	6,4	3,2	3,1	2,6	5,7	2,85	3,3	3,4	6,7	3,35
Aplicación de O <sub>2</sub> 1ppm	T3	3	3	6	3	2,5	2	4,5	2,25	3,4	3,7	7,1	3,55	2,8	2,7	5,5	2,75	2,7	2,7	5,4	2,7
Aplicación de O <sub>2</sub> 2ppm	T4	2,4	2,4	4,8	2,4	2,6	2,5	5,1	2,55	2	2	4	2	2,5	3	5,5	2,75	2,9	3,2	6,1	3,05
Aplicación de O <sub>2</sub> 3ppm	T5	2,5	2,5	5	2,5	2,3	1,9	4,2	2,1	3,3	2,8	6,1	3,05	3,4	3,2	6,6	3,3	3,2	2,5	5,7	2,85
Aplicación de O <sub>2</sub> 4ppm	T6	3,4	3,4	6,8	3,4	2,6	3,4	6	3	3,9	3,5	7,4	3,7	3	2,5	5,5	2,75	2,4	2,1	4,5	2,25

Elaborado por: El Autor

Tabla 5. Prueba de T pareada inicial

PRUEBA DE T AGUA VS 1PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 1PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media	Medi	Media	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	1PPM	5	0,16	3,01	2,85	0,51	0,7	0,52		ABSOLUTO	1PPM	5	0,23	3,08	2,85	0,58	0,88	0,4265	
PRUEBA DE T AGUA VS 2PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 2PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media	Medi	Media	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	2PPM	5	0,46	3,01	2,55	0,38	1,89	0,06		ABSOLUTO	2PPM	5	0,53	3,08	2,55	0,43	1,75	0,0519	
PRUEBA DE T AGUA VS 3PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 3PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media	Medi	Media	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	3PPM	5	0,25	3,01	2,76	0,33	1,7	0,16		ABSOLUTO	3PPM	5	0,32	3,08	2,76	0,58	1,3	0,2852	
PRUEBA DE T AGUA VS 4PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 4PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media	Medi	Media	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	4PPM	5	-0,01	3,01	3,02	0,67	-0,03	0,98		ABSOLUTO	4PPM	5	0,06	3,08	3,02	0,7	0,19	0,8565	

Elaborado por: El Autor

Tabla 6. Análisis de varianza de medición de diámetro antes de la aplicación.

Análisis de la varianza						
Análisis de la varianza						
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV		
Diametro del	30	0,16	0	15,8		
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	0,94	5	0,19			
Tratamientos	0,94	5	0,19	0,89	0,503	ns
Error	5,09	24	0,21			
Total	6,03	29				
Test:Duncan Alfa=0,05						
Error: 0,2119 gl: 24						
Tratamientos	Media:	n	E.E.			
2	3,09	5	0,21	A		
6	3,02	5	0,21	A		
1	3,01	5	0,21	A		
5	2,96	5	0,21	A		
3	2,85	5	0,21	A		
4	2,55	5	0,21	A		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)						

Elaborado por: El Autor

Tabla 7. Medición de diámetro del micelio en la primera evaluación con aplicación

Toma de Datos #2 30-12-2016 20:20 PM																					
Tratamiento		Repeticiones																			
Diametro del micelio		I			II			III			IV			V							
		Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio						
Aplicación de agua	T1	3,6	2,5	6,1	3,05	3,5	3,4	6,9	3,45	3,8	3,4	7,2	3,6	3,2	4,5	7,7	3,85	3,9	3,6	7,5	3,75
Aplicación de O3 0ppm	T2	3,5	4	7,5	3,75	4	3,7	7,7	3,85	3,8	3,6	7,4	3,7	3,8	3,4	7,2	3,6	3,5	3,5	7	3,5
Aplicación de O3 1ppm	T3	2,4	2,8	5,2	2,6	3,5	3	6,5	3,25	3,5	4	7,5	3,75	3	3	6	3	3	3	6	3
Aplicación de O3 2ppm	T4	4	3,5	7,5	3,75	2,9	3	5,9	2,95	2,5	2,3	4,8	2,4	3,3	2,7	6	3	3,5	3,5	7	3,5
Aplicación de O3 3ppm	T5	2,8	2	4,8	2,4	2,7	3	5,7	2,85	3,8	3,2	7	3,5	3,5	3,4	6,9	3,45	3,4	2,5	5,9	2,95
Aplicación de O3 4ppm	T6	3,7	3,2	6,9	3,45	3,8	3	6,8	3,4	3,7	3,2	6,9	3,45	3,2	2,8	6	3	2,5	2,4	4,9	2,45

Elaborado por: El Autor

Tabla 8 Prueba de T pareada en la primera evaluación con aplicación.

PRUEBA DE T AGUA VS 1PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 1PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(di	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral	Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral
AGUA	1PPM	5	0,42	3,54	3,12	0,41	2,3	0,083	ABSOLUTC	1PPM	5	0,56	3,68	3,12	0,43	2,94	0,0425
PRUEBA DE T AGUA VS 2PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 2PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(di	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral	Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral
AGUA	2PPM	5	0,52	3,54	3,02	0,73	1,6	0,185	ABSOLUTC	2PPM	5	0,66	3,68	3,02	0,48	3,06	0,0378
PRUEBA DE T AGUA VS 3PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 3PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(di	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral	Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral
AGUA	3PPM	5	0,51	3,54	3,03	0,27	4,22	0,014	ABSOLUTC	3PPM	5	0,65	3,68	3,03	0,52	2,8	0,0486
PRUEBA DE T AGUA VS 4PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 4PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(di	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral	Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2	DE(dif)	T	Bilateral
AGUA	4PPM	5	0,4	3,54	3,14	0,69	1,29	0,267	ABSOLUTC	4PPM	5	0,54	3,68	3,14	0,34	3,53	0,0241

Elaborado por: El Autor

Tabla 9 Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la primera evaluación con aplicación.

Análisis de la varianza						
Análisis de la varianza						
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV		
Diametro de	30	0,49	0,39	10,85		
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	3,29	5	0,66			
Tratamiento	3,29	5	0,66	4,68	0,004	**
Error	3,37	24	0,14			
Total	6,67	29				
Test: Duncan Alfa=0,05						
Error: 0,1406 gl: 24						
Tratamiento	Medias	n	E.E.			
1	3,98	5	0,17	A		
2	3,82	5	0,17	A	B	
3	3,39	5	0,17		B	C
6	3,29	5	0,17			C
4	3,14	5	0,17			C
5	3,11	5	0,17			C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)						

Elaborado por: El Autor

Tabla 10 Medición de diámetro del micelio en la segunda evaluación con aplicación

Tratamiento		Repeticiones																			
Diametro del micelio		I				II				III				IV				V			
		Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio				
Aplicación de agua	T1	4	2,9	6,9	3,45	3,9	3,5	7,4	3,7	4,3	3,7	8	4	4	5	9	4,5	4,6	3,9	8,5	4,25
Aplicación de O3 0ppm	T2	3,7	3,2	6,9	3,45	3,8	4,2	8	4	4	3,8	7,8	3,9	3,5	4,2	7,7	3,85	4	3,8	7,8	3,9
Aplicación de O3 1ppm	T3	3,3	3,6	6,9	3,45	3,3	2,6	5,9	2,95	3,6	3,9	7,5	3,75	3,7	3,7	7,4	3,7	3,1	3,1	6,2	3,1
Aplicación de O3 2ppm	T4	3,5	3,7	7,2	3,6	3,1	3,1	6,2	3,1	2,7	2,6	5,3	2,65	3,1	3	6,1	3,05	3,6	3,1	6,7	3,35
Aplicación de O3 3ppm	T5	2,9	2,5	5,4	2,7	3,1	2,4	5,5	2,75	3,3	3,8	7,1	3,55	3,5	3,4	6,9	3,45	3,6	2,6	6,2	3,1
Aplicación de O3 4ppm	T6	4	3,3	7,3	3,65	3,2	2,7	5,9	2,95	4	3,5	7,5	3,75	3,2	3,6	6,8	3,4	2,8	2,6	5,4	2,7

Elaborado por: El Autor

Tabla 11 Prueba de T pareada en la segunda evaluación en aplicación.

PRUEBA DE T AGUA VS 1PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 1PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	1PPM	5	0,59	3,98	3,39	0,46	2,87	0,05		ABSOLU	1PPM	5	0,39	3,78	3,39	0,43	2,02	0,1138	
PRUEBA DE T AGUA VS 2PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 2PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	2PPM	5	0,83	3,98	3,15	0,65	2,87	0,05		ABSOLU	2PPM	5	0,63	3,78	3,15	0,54	2,6	0,06	
PRUEBA DE T AGUA VS 3PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 3PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	3PPM	5	0,87	3,98	3,11	0,28	7,01	0		ABSOLU	3PPM	5	0,67	3,78	3,11	0,36	4,14	0,0143	
PRUEBA DE T AGUA VS 4PPM										PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 4PPM									
Prueba T (muestras apareadas)										Prueba T (muestras apareadas)									
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Media(1)	Media(2)	DE(dif)	T	Bilateral	
AGUA	4PPM	5	0,69	3,98	3,29	0,69	2,24	0,09		ABSOLU	4PPM	5	0,49	3,78	3,29	0,54	2,03	0,1124	

Elaborado por: El Autor

Tabla 12 Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la segunda evaluación con aplicación.

Análisis de la varianza					
Análisis de la varianza					
Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Diámetro c	30	0,49	0,39	10,85	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,29	5	0,66		
Tratamiento	3,29	5	0,66	4,68	0,004 **
Error	3,37	24	0,14		
Total	6,67	29			
Test: Duncan Alfa=0,05					
Error: 0,1406 gl: 24					
Tratamiento	Media:	n	E.E.		
1	3,98	5	0,17	A	
2	3,82	5	0,17	A	B
3	3,39	5	0,17		B C
6	3,29	5	0,17		C
4	3,14	5	0,17		C
5	3,11	5	0,17		C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Elaborado por: El Autor

Tabla 13 Medición de diámetro del micelio en la tercera evaluación con aplicación

Toma de Datos #4 06-01-2017 12:30 PM																					
Tratamiento		Repeticiones																			
		I			II			III			IV			V							
		Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio						
Aplicación de agua	T1	4,5	5	9,5	4,75	4	3,7	7,7	3,85	4	4,3	8,3	4,15	4,6	5,6	10,2	5,1	4,9	5	9,9	4,95
Aplicación de O3 0ppm	T2	4,2	3,5	7,7	3,85	4,2	4,5	8,7	4,35	4,3	4	8,3	4,15	4,5	4,2	8,7	4,35	4	4,2	8,2	4,1
Aplicación de O3 1ppm	T3	3,6	3,2	6,8	3,4	3,6	2,8	6,4	3,2	4,1	3,6	7,7	3,85	3,2	3,2	6,4	3,2	3,2	3,1	6,3	3,15
Aplicación de O3 2ppm	T4	4	4	8	4	3	3,2	6,2	3,1	2,7	2,2	4,9	2,45	3,3	2,7	6	3	3,7	3,5	7,2	3,6
Aplicación de O3 3ppm	T5	2,9	2,6	5,5	2,75	3,3	2,5	5,8	2,9	3,8	3,3	7,1	3,55	3,8	3,9	7,7	3,85	3,7	2,8	6,5	3,25
Aplicación de O3 4ppm	T6	4,4	3,5	7,9	3,95	3,7	2,9	6,6	3,3	3,8	3,6	7,4	3,7	3,5	3,6	7,1	3,55	3	2,5	5,5	2,75

Elaborado por: El Autor

Tabla 14 Prueba de T pareada en la tercera evaluación en aplicación.

PRUEBA DE T AGUA VS 1PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 1PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Medi	Media DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(c)	Media(1)	Media(2 DE(dif)	T	Bilateral	
Agua	1PPM	5	1,2	4,56	3,36	0,7	3,81	0,02	ABSOLUT	1PPM	5	1,2	4,56	3,36	0,7	3,81	0,019
PRUEBA DE T AGUA VS 2PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 2PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Medi	Media DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(c)	Media(1)	Media(2 DE(dif)	T	Bilateral	
	2PPM	5	1,2	4,56	3,36	0,7	3,81	0,02	ABSOLUT	2PPM	5	1,33	4,56	3,23	0,59	5,02	0,0074
PRUEBA DE T AGUA VS 3PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 3PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Medi	Media DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(c)	Media(1)	Media(2 DE(dif)	T	Bilateral	
Agua	3PPM	5	1,3	4,56	3,26	0,56	5,17	0,01	ABSOLUT	3PPM	5	1,23	4,56	3,33	0,52	5,29	0,0061
PRUEBA DE T AGUA VS 4PPM									PRUEBA DE T ABSOLUTO VS 4PPM								
Prueba T (muestras apareadas)									Prueba T (muestras apareadas)								
Obs(1)	Obs(2)	N	media(dif)	Medi	Media DE(dif)	T	Bilateral		Obs(1)	Obs(2)	N	media(c)	Media(1)	Media(2 DE(dif)	T	Bilateral	
Agua	4PPM	5	1,11	4,56	3,45	0,75	3,33	0,03	ABSOLUT	4PPM	5	1,11	4,56	3,45	0,75	3,33	0,0292

Elaborado por: El Autor

Tabla 15. Análisis de varianza de medición de diámetro del micelio en la tercera evaluación con aplicación.

Análisis de la varianza						
Análisis de la varianza						
Variabl	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV		
Diámetro	30	0,62	0,54	12,09		
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	7,69	5	1,54			
Tratamier	7,69	5	1,54	7,81	0,0002	**
Error	4,73	24	0,2			
Total	12,42	29				
Test:Duncan Alfa=0,05						
Error: 0,1969 gl: 24						
Tratamier	Medias	n	E.E.			
1	4,56	5	0,2	A		
2	4,16	5	0,2	A		
6	3,45	5	0,2		B	
3	3,36	5	0,2		B	
5	3,26	5	0,2		B	
4	3,23	5	0,2		B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)						

Elaborado por: El Autor

Foto 1. Selección de hojas enferma con sigatoka negra



Elaborado por: El Autor

Foto 2. Materiales para realizar el medio de cultivo



Elaborado por: El Autor

Foto 3. Agar y Dextrose



Fuente: El Autor

Foto 4. Soya lista para ser hervida



Fuente: El Autor



Foto 5. Difusión de soya



Fuente: El Autor

Foto 6. Medición de Dextrose



Fuente: El Autor

Foto 7. Tubo de ensayo para embazar el medio de cultivo



Fuente: El Autor

Foto 8. Medio de cultivo embazado para su uso.



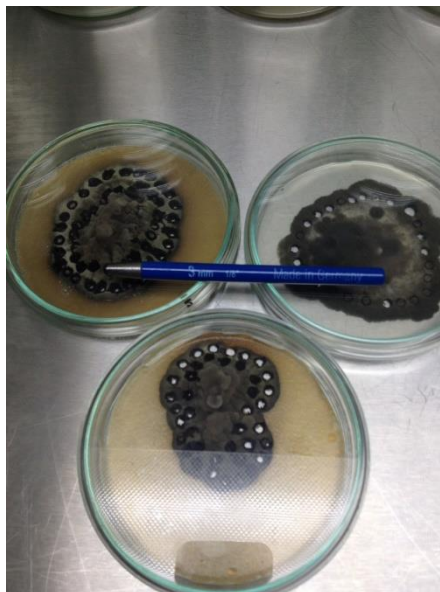
Fuente: El Autor

Foto 9. Establecimiento de los tratamientos y repeticiones



Fuente: El Autor

Foto 10. Repique del micelio de Sigatoka negra



Fuente: El Autor

Foto 11. Repique del micelio del hongo para su reproducción.



Fuente: El Autor

Foto 11. Cámara de flujo laminar con los tratamientos y repeticiones



Fuente: El Autor



**Presidencia  
de la República  
del Ecuador**



**Plan Nacional  
de Ciencia, Tecnología,  
Innovación y Saberes**



**SENESCYT**  
Secretaría Nacional de Educación Superior,  
Ciencia, Tecnología e Innovación

## **DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN**

Yo, **Dávalos Barquet Javier José**, con C.C: # **1206540815** autor del **trabajo de titulación**: Evaluación de la incidencia del ozono sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones in vitro en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, previo a la obtención del título de **INGENIERO AGROPECUARIO** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 20 de marzo de 2017

---

Nombre: **Dávalos Barquet Javier José**

C.C:**1206540815**



Presidencia  
de la República  
del Ecuador



Plan Nacional  
de Ciencia, Tecnología,  
Innovación y Saberes



SENESCYT  
Secretaría Nacional de Educación Superior,  
Ciencia, Tecnología e Innovación

## REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

### FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b>	Evaluación de la incidencia del ozono sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (Sigatoka Negra) reproducida en condiciones in vitro en el laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
<b>AUTOR(ES)</b>	Dávalos Barquet Javier José		
<b>REVISOR(ES)/TUTOR(ES)</b>	Lenin Celiano Paz Carrasco		
<b>INSTITUCIÓN:</b>	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
<b>FACULTAD:</b>	Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo		
<b>CARRERA:</b>	Ingeniería Agropecuaria		
<b>TÍTULO OBTENIDO:</b>	Ingeniero Agropecuaria		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>	<b>DE</b> 20 de 03 de 2017	<b>No. PÁGINAS:</b>	<b>DE</b> 78
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b>	Manejo sostenible de cultivos tropicales y producciones pecuarias.		
<b>PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:</b>	Ozono, Sigatoka negra, Micelio, Hongo, In vitro.		
<b>RESUMEN/ABSTRACT</b>	<p>El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal en la Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, teniendo como objetivo principal inhibir el crecimiento del micelio del hongo sigatoka negra reproducida in vitro. Se recolectó muestras de hojas de plantas (<i>Cavendish gran Williams</i>) contaminadas con la enfermedad de Sigatoka negra para realizar la reproducción <i>in vitro</i> mediante el medio de cultivo a base de soya para su desarrollo. Se utilizó un generador de ozono, aquel que emite una descarga separando las moléculas (<math>O_1</math>) entrantes de 95 % de oxígeno (<math>O_2</math>) para luego unir las con una molécula completa de <math>O_2</math> en <math>O_3</math>. La ozonificación del agua se la realizó mediante un Venture PDF <math>\frac{3}{4}</math> resistente al ozono y una piedra burbujeante. Las concentraciones de ozono fueron medidas a través del equipo chemestrics modelo i-2019 con el objetivo de medir con exactitud las partes por millón (ppm). Para obtener la aplicación óptima de ozono en ppm se ejecutaron 6 réplicas por la cual se realizó cuatro concentraciones de 1, 2, 3 y 4 partes por millón (ppm); para determinar la concentración óptima para inhibir el micelio del hongo de sigatoka negra se realizó una sola aplicación a todos los tratamientos aplicables, se consideró óptimo la concentración de 3 partes por millón para inhibir el micelio de Sigatoka negra.</p>		
<b>ADJUNTO PDF:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
<b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>	<b>Teléfono:</b> 0984285814	<b>E-mail:</b> davalosbarquet@hotmail.com	
<b>CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::</b>	<b>Nombre:</b> Ing. Donoso Bruque, Manuel Enrique M. Sc		
	<b>Teléfono:</b> 0991070554		
	<b>E-mail:</b> manuel.donosob@cu.ucsg.edu.ec		
<b>SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA</b>			
<b>Nº. DE REGISTRO (en base a datos):</b>			
<b>Nº. DE CLASIFICACIÓN:</b>			
<b>DIRECCIÓN URL (tesis en la web):</b>			