



Escuela Superior Politécnica del Litoral
Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción

**“Estudio de la densidad y tamaño de
estomas en variedades de Musa con
distintos grados de resistencia a
Sigatoka Negra”**

TESIS DE GRADO

Previa a la Obtención del Título de:
INGENIERO AGROPECUARIO

Presentada por:
Efrén Germán Santos Ordóñez

Guayaquil - Ecuador
Año - 2001

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y mi familia por haberme apoyado siempre en la culminación de este trabajo y a todas las personas que de una u otra manera colaboraron con la realización de esta tesis

UNIVERSIDAD DE GUAYMAS

DEDICATORIA

DIRECTOR DE LA BIBLIOTECA



A MIS PADRES

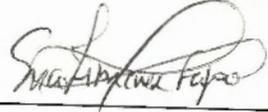
A MIS FAMILIARES

A DELTA

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN


Ing. Eduardo Rivadeneira P.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE


Ing. Alberto Ortega U.
DIRECTOR DE TESIS

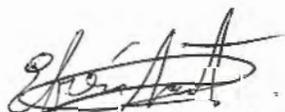

Ing. María Isabel Jiménez F.
VOCAL


Ing. Felipe Mendoza G.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).



Efrén Santos Ordóñez

RESUMEN

El banano es el tercer alimento consumido a nivel mundial y el primer producto agrícola de exportación en nuestro país. Este cultivo posee algunas enfermedades de las cuales la más importante es la Sigatoka Negra ya que produce el 50% de pérdidas de rendimiento para exportación. Existen más de 1000 variedades del género *Musa* con diferentes usos y diferentes comportamientos. Algunas son resistentes, tolerantes o susceptibles a la Sigatoka Negra. Mediante el conteo de la densidad y tamaño de estomas se podrá determinar si existe alguna correlación de acuerdo a la resistencia o no de las spp. de *Musa* a esta enfermedad fúngica que invade el tejido foliar mediante los estomas. Para cumplir este propósito se observó al microscopio. Se escogió 22 accesiones elegidas por la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y Plátano (INIBAP del Centro Internacional de Tránsito (ITC) que se encuentran cultivadas en el campus de la ESPOL para la toma de muestras.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
INDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGIA.....	VII
INDICE DE FIGURAS.....	VIII
INDICE DE TABLAS.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 1	
1 GENERALIDADES.....	5
1.1 Banano.....	5
1.1.1 Importancia económica.....	6
1.1.2. Taxonomía.....	6
1.1.3 Anatomía.....	9
1.1.4 Variabilidad genética.....	10

CAPITULO 2	
2 LA ENFERMEDAD.....	12
2.1 Sigatoka Negra.....	15
2.1 Síntomas.....	16
2.2 Infección.....	17
2.3 Período de incubación.....	17
CAPÍTULO 3	
3 ESTOMAS.....	21
2.1 Anatomía.....	21
2.2 Fisiología.....	30
CAPITULO 4	
4. METODOS DE EVALUACION.....	40
4.1 Lista de accesiones a evaluar.....	42
4.2 Determinación de densidad y tamaño de estomas.....	44
CAPÍTULO 5	
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	93
ANEXOS	
BIBLIOGRAFÍA	

ABREVIATURAS

ABA	ácido abscísico
ANOVA	Análisis de Varianza
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Cl ⁻	anión cloruro
CO ₂	dióxido de carbono
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
ESTO	Estomas
H ⁺	ión hidrógeno
Ha.	hectárea
HR	altamente resistente a la Sigatoka Negra (highly resistant)
HR (HS)	altamente resistente a la Sigatoka Negra por hipersensibilidad
H ₂ S	sulfuro de hidrógeno
INIBAP	Red Internacional para el Mejoramiento de Banano y Plátano (International Networking for the Improvement of Banana and Plantain)
ITC	Centro Internacional de Tránsito (International Transit Center)
K ⁺	catión potasio
micras ²	micras cuadradas
mm	milímetro
mm ²	milímetro cuadrado
mM	mili Moles
<i>M. fijiensis</i>	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>
n	Número de muestra
NH ₃	gas amoníaco
NO ₂	dióxido de nitrógeno
NO _x	óxido o dióxido de nitrógeno
O ₂	gas oxígeno
P-SAD 56	Provisional Sud America Datum, 1956
S	susceptible a la Sigatoka Negra.
Sig.	Significancia
SN	Sigatoka Negra
S. Negra	Sigatoka Negra
SO ₂	dióxido de azufre

SIMBOLOGIA

2n	diploide
3n	triploide
4n	tetraploide
400X	aumento de 400 veces visto al microscopio
AA	diploide (acuminata+acuminata)
AAA	triploide (acuminata+acuminata+acuminata)
AAAA	tetraploide (acuminata+acuminata+acuminata+acuminata)
AAAB	tetraploide (acuminata+acuminata+acuminata+balbiana)
AABB	tetraploide (acuminata+acuminata+balbiana+balbiana)
AABB?	tetraploide (acuminata+acuminata+balbiana+(balbiana se sospecha))
ψ_s	potencial osmótico
μ	micra
μ^2	Micras cuadradas
$^{\circ}\text{C}$	grados celcius
ρ	coeficiente de correlación lineal

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 3.1 Estomas del envés de la hoja 6 de la accesión FHIA-02 observados al microscopio de luz óptica con un aumento de 400x, ESPOL 2001.....	39
Figura 4.1 Lugar de muestreo en hoja de banano.....	46
Figura 5.1. Comparación de la densidad y el tamaño de los estomas de las 22 accesiones en el envés de la hoja 6.....	82
Figura 5.2. Comparación de la densidad y el tamaño de los estomas de las 22 accesiones en el envés de la hoja 1.....	83
Figura 5.3. Comparación de la densidad y el tamaño de los estomas de las 22 accesiones en el envés de la hoja 3 a la floración.....	84
Figura 5.4. Relación envés/haz de la densidad de estomas en la hoja 6.....	87
Figura 5.5. Relación envés/haz de la densidad de estomas en la hoja 1.....	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Nombre, nivel de resistencia y nivel de ploidía de las accesiones del acuerdo al INIBAP.....	43
Tabla 2	Comparación del tamaño de estomas micras ² ordenados de manera descendente, de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 6 de las 22 accesiones del INIBAP ESPOL, 2000.....	51
Tabla 3.	Comparación del tamaño de estomas micras ² de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 1, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	53
Tabla 4.	Comparación del tamaño de estomas micras ² de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 3, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	55
Tabla 5.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400x) de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 6, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	58
Tabla 6.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400X) de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 1, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	60
Tabla 7.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400x), de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra en el envés de la hoja 3, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	62
Tabla 8.	Comparación del tamaño de estomas micras ² en el envés de la hoja 6 de acuerdo al nivel de ploidía, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	65
Tabla 9.	Comparación del tamaño de estomas micras ² de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de la hoja 1, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	67

Tabla 10.	Comparación del tamaño de estomas micras ² de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de la hoja 3, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	69
Tabla 11.	Promedio de los tamaño de estomas en dos épocas de acuerdo al nivel de ploidía, de las accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	71
Tabla 12.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400x) de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de la hoja 6, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	74
Tabla 13.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400x) de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de la hoja 1, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2000.....	76
Tabla 14.	Comparación de la densidad de estomas (# esto/ 400x) en orden descendente, de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de la hoja 3, de las 22 accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	78
Tabla 15.	Promedio de la densidad de estomas en dos épocas de acuerdo al nivel de ploidía, de las accesiones del INIBAP. ESPOL, 2001.....	80
Tabla 16.	Correlaciones de las variables estudiadas: tamaño de estoma densidad de estomas, nivel de resistencia a la Sigatoka Negra y nivel de ploidía. ESPOL, 2001.....	90

INTRODUCCIÓN

El banano es el principal rubro económico agroexportable del país. Beneficia a más de 1.472.815 personas directas e indirectamente con un área total cultivada de 131.807 Ha según el Programa Nacional del Banano 1998. Debido a que es un monocultivo, es afectado por muchas enfermedades, entre ellas la más importante la Sigatoka Negra, cuyo agente causal es *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. La enfermedad infecta a todas las especies de *Musa* mediante los estomas, introduciendo el tubo germinativo y reproduciéndose en la cavidad subestomática y repoblando nuevos estomas. Esto sucede principalmente en la cara abaxial (envés) de la hoja (JONES, 1999). Normalmente existe aproximadamente 140 estomas por mm^2 en el envés de las hojas de banano, comparado con 55 en la cara adaxial (haz) (29).

Por otro lado los estomas están involucrados en el control de dos de los más importantes procesos vegetales: la fotosíntesis y la transpiración, además, son de primerísima importancia en toda consideración de los factores que regulan el rendimiento de las cosechas (42). El tamaño de los estomas y su frecuencia varían de acuerdo a las especies y al nivel de ploidía de las mismas.

El éxito del mejoramiento genético de cualquier cultivo depende entre otros factores, de la amplitud de la variabilidad disponible para el fitomejorador. La ESPOC posee una colección de Germoplasma de *Musa* spp. clasificadas de acuerdo a su resistencia a la Sigatoka Negra y nivel de ploidía por el INIBAP (Red Internacional para el Mejoramiento de Banano y Plátano) teniendo la base para un programa de mejora genética.

El Ecuador es el primer exportador de banano en el mundo. Este cultivo, en el país genera divisas y reconocimiento a nivel mundial; contradictoriamente la investigación sobre este cultivo es muy escaso en comparación con otros países como Costa Rica o Brasil; por lo que es necesario fomentar la misma para solucionar problemas en este género.

La Sigatoka Negra es la enfermedad más importante en el banano, producida por el agente causal *Mycosphaerelle fijiensis*, ocasiona pérdidas económicas importantes que bordean el 50 %, por lo que es necesario contribuir con investigaciones que permitan establecer los mecanismos de resistencia, dentro de un programa de mejoramiento genético que a su vez se oriente a la generación de variedades resistentes o tolerantes a esta enfermedad. El estudio comparativo de los estomas en variedades con distinto nivel de resistencia y ploidía puede determinar si existe alguna correlación de

resistencia mecánica a la *Mycosphaerella fijiensis*. Su mecanismo de infección es a través de los estomas, siendo esta estructura la que podría facilitar o no la penetración del micelio a la planta. Esta evidencia contribuiría a implementar un programa de mejoramiento genético para inducir la resistencia mecánica.

El objetivo general de este estudio es el siguiente:

Realizar un estudio comparativo de la densidad y tamaño de estomas de láminas foliares de la colección germoplásmica de *Musa* spp. cultivadas en la zona de la Prosperina, Campus Gustavo Galindo de la ESPOL.

Los objetivos específicos de este estudio son los siguientes:

- Establecer la densidad de estomas en el envés y haz de las hojas de 22 accesiones.

- Medir el tamaño de los estomas en el envés de las hojas de las 22 accesiones.

- Comparar el tamaño y densidad de estomas de 22 accesiones del género *Musa* y establecer relación entre nivel de ploidía y nivel de resistencia a la *Mycosphaerella fijiensis*.

CAPÍTULO 1



1. GENERALIDADES.

Según varios autores el banano y el plátano pertenecen a la familia de las *Musáceas* y en su conjunto es un cultivo importante y subutilizado en el mundo. Crece predominantemente en jardines y pequeños agricultores en más de 120 países, principalmente en los trópicos y subtropicos (29).

1.1. Banano.

La primera clasificación científica del banano fue hecha por Linnaeus en 1783. Él dio el nombre de *Musa sapientum* a todos los bananos de postre los cuales son dulces cuando maduran y se comen crudos. El nombre *Musa paradisiaca* fue dado al grupo de los plátanos los cuales se cocinan y consumen cuando todavía están verdes (con alto contenido de almidón) (29).

1.1.1. Importancia Económica.

El banano para postre es dulce y de fácil digestión cuando está maduro, constituye el 43 % de la producción mundial. Existen muchos tipos diferentes de banano para postre pero los frutos del subgrupo Cavendish son los más comunes. Los bananos para cocinar, más bien conocidos como plátano, constituyen el 57 % de la producción mundial, poseen alta cantidad de almidón cuando están maduros y se necesita cocinarlos para consumirlos.

La enfermedad más importante en este cultivo es la Sigatoka Negra (*M. fijiensis*) (21). Los costos de mantenimiento de una Ha. de banano sólo para el control de la Sigatoka Negra van alrededor de \$800 a \$1500 dólares anuales. Además se estiman pérdidas en un 50% en rendimiento (27).

1.1.2. Taxonomía.

El banano y el abacá pertenecen al género *Musa* y el Ensete al género *Ensete*. *Musa* y *Ensete* son los dos únicos géneros de la familia *Musaceae* del orden de las *Zingiberales*. Los *Musaceae* silvestres están distribuidos desde el Pacífico hasta el África Occidental, pero se

encuentran principalmente en la región del Sudeste de Asia-Nueva Guinea.

El género *Musa*, que posee cerca de 40 especies está dividido en cinco secciones:

- *Eumusa* y *Rhodochlamys*- Contiene especies que poseen 22 ($n=11$) cromosomas
- *Australimusa* y *Callimusa*-Contiene especies que poseen 20 ($n=10$) cromosomas
- *Ingentimusa*-Contiene una especie que posee 14 ($n=7$) cromosomas.

Eumusa es la más amplia y grande sección del género y contiene *Musa acuminata* Colla y *Musa balbisiana* Colla, que son los principales progenitores de la mayoría de los cultivares comestibles (21).

Musa acuminata Colla y *Musa balbisiana* Colla son especies silvestres que producen semillas, nativos del Sudeste de Asia. Esta clasificación, propuesta por Simmonds y Shepherd, está basada, primeramente, a la contribución de estas dos especies a la constitución de los cultivares, y también a la ploidía o número de cromosomas en los cultivares (29).

Simmonds postuló que la evolución de *Eumusa* comenzó con las subespecies silvestres de *M. acuminata* que se concentró principalmente en el Sudeste de Asia. Otro evento principal en la evolución se cree fue la hibridación con *M. balbisiana* cuando parcelas derivadas de *M. acuminata* comenzaron a ser cultivados en periferia. Esta hibridación con *M. balbisiana* permitió al banano comestible crecer en áreas donde la precipitación es en estación y no durante todo el año. La triploidia, otro importante paso adelante en la evolución, se piensa ocurrió cuando existió una fertilización de ovocigotos diploides, los cuales se formaron cuando la meiosis se paró antes de la segunda división meiótica, con un polen haploide. Cultivares triploides se encuentran en los grupos genómicos AAA, AAB y ABB. Los triploides son más grandes y con mayor tamaño del fruto que los diploides. Sólo pocos cultivares naturales se han desarrollados hasta alcanzar la tetraploidía: AAAA, AAAB, AABB y ABBB grupos genómicos. Estos tetraploides se cree que se originaron por la fertilización de un ovocigoto triploide y polen haploide (21).

El genoma de los bananos comestibles dentro de los cultivares de la serie *Eumusa* se deducen de análisis de caracteres morfológicos como el color del pseudotallo, forma del canal del pecíolo y características de las brácteas. Este método taxonómico se ha probado muchas veces

dando una buena aproximación de la composición genética y ploidía de los cultivares, generalmente está bien correlacionada con los resultados de métodos moleculares. Dentro de cada grupo genómico, caracteres morfológicos también son utilizados para identificar clones. Muchos clones han mutado a través del tiempo formando morfotipos diferentes en ciertos caracteres como morfología del fruto y racimo, pigmentación y altura. Los clones que se piensa vinieron originalmente de un clon base por mutación forman subgrupos.

1.1.2. Anatomía.

El banano es una planta herbácea grande que consiste en un tallo subterráneo ramificado (rizoma) denominado corno, con raíces y brotes vegetativos, con un pseudotallo erecto compuesto de bases de hojas empaquetadas estrechamente. El meristema apical que está localizado en el centro del pseudotallo a nivel del suelo dan sucesivos primordios foliares. Cada primordio emerge y se diferencia en la base de la hoja, en un pecíolo y en una lámina. Después de 25 a 50 hojas que se hayan producido, el meristema apical se diferencia generando la inflorescencia que emerge a través del tope (ápice) de la planta. (29).

Las flores aunque estructuralmente todas son completas, se distinguen por su funcionalidad en basales, las que son generalmente femeninas (pistilo funcional) y las flores distales son masculinas (estambres funcionales). Las flores y las brácteas están insertadas independientemente en el pedúnculo. Las brácteas son usualmente rojizas, púrpuras o violetas debido a las antocianinas. Los hijos crecen libres desde el rizoma que se encuentra debajo de la tierra. Los granos de polen aumentan de diámetro a medida que aumenta la ploidía (37) y la semilla posee en diámetro 7 mm o menos (21).

1.1.4 Variabilidad genética.

M. acuminata posee 8 subespecies las cuales son: *burmanica*, *burmanicoides*, *banksii*, *siamea*, *zebrina*, *microcarpa*, *errans* y *malaccensis* (21).

En la sección *Eumusa* del género *Musa* están divididos por dos principales especies: *M. acuminata* Colla y *M. balbisiana* Colla. Asimismo, existen varios niveles de ploidía: diploides, triploides y tetraploides, grupos que se encuentran en mayor proporción debido a sus ventajas sobre los heptaploides y pentaploides. Mientras más

número de ploidías existe, el tamaño de las plantas es mayor y por ende sus células también.

Existen varios grupos genómicos que se dan por las especies (acuminata, A; y balbisiana, B) y por el nivel de ploidía (diploide, triploide y tetraploide), así tenemos los grupos genómicos: AA, AB, AAA, AAB, ABB, BBB, AAAA, AAAB, AABB, ABBB. De igual forma, dentro de estos grupos están los subgrupos, como por ejemplo en el grupo genómico AAA se encuentran los subgrupos Gross Michel y Cavendish; que a su vez se dividen en diferentes clones. En el caso del subgrupo Cavendish encontramos los clones Gran enano, Cavendish gigantes, entre otros. Estos clones se dividen a su vez en cultivares como el Valery y el Williams que pertenecen al set de clon Cavendish Gigante. A medida que aumenta la ploidía suele disminuir la frecuencia estomática, es decir la densidad, mientras que las dimensiones de las células oclusivas son mayores (42).

La importancia de la variabilidad genética de *Musa* tiene relación con el criterio expuesto por Stover (27) quien dice que el éxito del mejoramiento genético de cualquier cultivo depende entre otros factores, de la amplitud de la variabilidad disponible para el fitomejorador.

CAPÍTULO 2

2. LA ENFERMEDAD.

La Sigatoka Negra, cuyo agente causal es el Ascomiceto conocido como *Mycosphaerella fijiensis*, es la enfermedad del banano y plátano más importante en el Ecuador y en el mundo. A parte de la Sigatoka Negra existe una gran variedad de enfermedades, que no sólo atacan al banano si no a una infinidad de cultivos y en las que se destacan los hongos. Un gran número de patógenos vegetales logra penetrar en el follaje ya sea vía estomática o como una vía de la penetración directa, estos patógenos comprenden bacterias parásitas, ciertas royas vellosas, ecidiosporas y uredosporas de *Puccinia* spp. (rojas) y varios hongos imperfectos. (42).

La entrada de los hongos patógenos a través de los estomas pueden dividirse en tres tipos. Uno es el observado cuando las hojas de los cereales resultan infectadas por las uredosporas de *Puccinia spp.* Al germinar, el tubo germinativo de una uredospora presenta un crecimiento direccional hacia un estoma. Al llegar a un estoma, se forma un apresorio dentro del poro estomático ahí crece una hifa hialina a través del poro. En el interior de la cavidad subestomática la hifa se hincha y absorbe el contenido del apresorio. En *Fulvia Fulvum* encontramos otro tipo de entrada del patógeno. En éste las esporas germinan sobre la superficie foliar en una película de agua o en el aire húmedo. El crecimiento del tubo germinativo es aparentemente fortuito y con frecuencia los tubos crecen por encima de los estomas. Cuando acaece la penetración en un estoma, se forma una hifa lateral que crece a través del poro dentro de la cavidad subestomática. Un ejemplo del tercer tipo de la penetración estomática por un patógeno fúngico es el observado en *Plasmorapa viticola*. Las zoosporas móviles nadan en una película de agua sobre la superficie de la hoja y, al aproximarse a un estoma, son atraídas por medio de algún estímulo. Las zoosporas se instalan luego encima de los estomas y se enquistan. Del quiste emerge una hifa y crece a través del poro estomático dentro de la cavidad subestomática. Posiblemente esta atracción se debe mediante gradientes químicos o de vapor de agua, y la

dirección del patógeno por la topografía de la superficie foliar (respuesta tigmotrópica) (42).

Royle (1976) estimó que son dos los estímulos que mueven las zoosporas de *Pseudoperonospora humili* a elegir los estomas abiertos. Un estímulo es la topografía superficial, puesto que en las réplicas de "pérsplex" que imitan la superficie foliar, las zoosporas prefieren instalarse sobre los estomas abiertos y no sobre los cerrados. El otro estímulo es químico y se pensó que "tenía que ver con la fotosíntesis". Por lo tanto, hay inclinación a pensar que un gradiente de CO₂ atrae las zoosporas hacia los estomas. Sin embargo, las evidencias que hacen suponer que la concentración de CO₂ regula el acceso a los estomas no son sólidas, aunque es cierto que se detectaron niveles de CO₂ elevados, por encima de los fisiológicos, para detener la penetración de algunos patógenos, incluyendo *Puccinia graminis*.

La topografía de la superficie foliar influye de la siguiente manera en la guía de los tubos germinativos: los tubos germinativos tienden a crecer entre hileras de cristales de cera que sobre algunas superficies foliares forman una red regular. Esto posiblemente explica por qué una espora de un parásito obligado que germina en una planta que no es su huésped

normal puede no desarrollar una estructura de infección propia. En otras palabras, el tubo germinativo es incapaz de adaptarse a las dimensiones diferentes de la red ordenada de los cristales de cera de la superficie foliar del huésped y pierde la orientación (42).

Es probable que la frecuencia y estructura estomática influyan sobre el ritmo y el número de infecciones patógenas. Algunos patógenos entran a través de los estomas abiertos mientras que otros pueden forzar la entrada aún a través de los estomas cerrados. En *Citrus nobilis*, la anatomía estomática controla la entrada de patógenos. Los labios cuticulares superiores de las células oclusivas son muy pronunciadas y, aparentemente, impiden la entrada de *Pseudomonas citri* y, en consecuencia, *C. nobilis* es resistente (42). El hongo de la S.Negra (*M. Fijiensis*) penetra a la hoja exclusivamente por los estomas (4).

2.1 Sigatoka Negra.

La Sigatoka Negra es la enfermedad foliar de banano y plátano económicamente más importante en Latinoamérica y el Caribe. La Sigatoka Negra destruye las hojas del banano, que conlleva a una reducción en el rendimiento y una prematura maduración del fruto. Desde que se reconoció por primera vez en el Sur del Pacífico, la S. Negra se ha



esparcido por la mayoría de las regiones bananeras en el mundo y continua esparciéndose (21).

La primera notificación de la S. Negra fue en febrero de 1963 en el distrito de Sigatoka de la isla de Viti Levu en Fiji. En 1986, fue detectada la enfermedad en el norte del Ecuador y en cuatro años se encontró en la zona bananera sur (21).

2.2 Síntomas.

El patrón de los primeros síntomas está determinado por el estadio en donde el desenrollado de la hoja es infectado. Como el desenrollado de la hoja es un constante y expandido embudo, nuevos tejidos son gradualmente expuesto al inóculo. Si el viento dispersa las esporas depositándolas en el envés del tercio apical de las hojas en el estadio de cigarro, se observará pequeñas líneas de manchas, que luego se volverán en rayas y manchas de mayor diámetro, aparecen a lo largo del filo izquierdo de la hoja, en dirección al ápice. En zonas de alta inoculación los síntomas aparecen desde la hoja 2 (JONES, 1999).

2.3 Infección.

Las esporas usualmente germinan dentro de 2 a 3 horas cuando caen en la superficie de la hoja húmeda. La temperatura óptima es de 25 a 28 °C; por otro lado el rango de la humedad relativa es mucho más amplio, ya que la conidia es más tolerante a baja humedad relativa. Esto explica por qué existen síntomas en las épocas de verano (19).

Los tubos germinativos de las conidias y de las ascosporas penetran a través de los estomas, aunque parece ser que todas las hojas son igualmente susceptibles a *M. fijiensis*, la mayoría de las infecciones ocurren en las hojas nuevas, entre emergencia y desarrollado (21).

2.4 Período de incubación.

Una vez que la infección se haya establecido, la esporodochia (conidióforos alineados dentro del estoma infectado) que se desarrolla en la cavidad subestomática, una o más hifas vegetativas de *M. fijiensis* emergen del estoma en el envés de las hojas, desarrollándose en conidióforos o creciendo a través de la superficie foliar paralelo a las venas por distancias hasta de 3 mm. Para infectar estomas adyacentes, las hifas desarrollan una especie de red ya que produce ramificaciones que terminan en apresorios encima de otros estomas. Movimientos de un

estoma a otro es más común verlo en *M. fijiensis* que en *M. musicola*, agente causal de la Sigatoka Amarilla, por eso es que la Sigatoka Negra infecta casi toda la hoja. Lo que hace que tenga un crecimiento epifítico. Se observó que la producción de conidia era mucho mayor en plantas antes de floración que después. Cuando se forma el apresorio encima del estoma, el hongo penetra mediante una hifa. Las infecciones ocurren en mayor proporción en el envés que en el haz. Luego, la hifa crece saliendo del estoma y se extiende por la superficie foliar para formar otro apresorio encima de otro estoma (21).

Los cultivares se clasifican de acuerdo a la resistencia o susceptibilidad a la Sigatoka Negra. De esta manera encontramos cuatro niveles: susceptible (S), tolerante (T), altamente resistente (HR), altamente resistente por hipersensibilidad. Ésta clasificación se debe a interacciones entre el hongo y el hospedero. Existen interacciones compatibles en el cual se encuentran las susceptibles lo cual implica un desarrollo total de la enfermedad que implica necrosis y esporulación. Dentro de este fenotipo se observa un gradiente. Ciertos bananos presentan una reacción de sensibilidad a la Sigatoka Negra comparable a la del cultivar Grande Naine (AAA, Cavendish). El desarrollo de la enfermedad desde la fase 1 a la necrosis es rápido, dependiendo de la presión de inóculo. La tasa de esporulación puede alcanzar un nivel alto

si las condiciones climáticas son propicias para un desarrollo rápido de la enfermedad. En el momento de la cosecha, en la planta tan sólo quedan (a veces ni eso) una o dos hojas funcionales. En el caso de existir una alta presión de inóculo, es decir, alta humedad relativa y temperatura y con la ayuda del viento, la enfermedad se puede esparcir en pocas semanas en toda la plantación, inclusive puede ocasionar la muerte de la planta. Otros bananos presentan una resistencia parcial que puede ser moderada (Pisang Berlin, Pisang Mas) o muy pronunciada y comparable, en este caso, a la del cv. Pisang Ceylan (AAB, subgrupo Mysore) o del cv. Fougamou (ABB, subgrupo Pisang Awak). Cuando la resistencia parcial es pronunciada, el desarrollo de la enfermedad de la fase 1 a la necrosis es lento y la esporulación es débil. La planta conserva una importante superficie foliar funcional en el momento de la cosecha. Los banano que presentan una interacción incompatible con *M. fijiensis* muestran una resistencia muy pronunciada comparable a la de Yangambi km5 (HR HS) (AAA, subgrupo Ibota). Dentro de este fenotipo, el desarrollo de los síntomas está bloqueado y no hay esporulación sexual o asexual. El comportamiento de los bananos clasificados en esta categoría parece muy similar a las reacciones de hipersensibilidad observadas en otros sistemas huésped-patógeno. Las reacciones de algunas variedades de banano altamente resistentes inoculadas artificialmente con aislados de *M.fijiensis* sugieren la existencia de interacciones específicas. Ya se ha

observado la ruptura de este tipo de resistencia (ejemplo: variedad de banano Paka) en una isla del Pacífico (Ratoronga), lo que indica que el agente patógeno supera con más facilidad esta resistencia y que, por consiguiente, no es duradera (26).

CAPÍTULO 3

3. ESTOMAS

3.1 Anatomía

La epidermis, como órgano de protección de las plantas en el banano, impide la pérdida excesiva e incontrolable de agua de la hoja, reduce la infección fungosa y bacteriana minimizando el deterioro mecánico de la hoja. La epidermis tiene diversos tipos de células, entre ellas las células subsidiarias y las oclusivas o guardas (42).

Los estomas son aberturas naturales en la epidermis, presentes con mayor densidad en el envés de las hojas, que regula el intercambio de gases de la planta. Está formado por dos células especializadas de la

epidermis llamadas células guardas, que regulan el diámetro del poro. Los estomas se encuentran distribuidos en diferentes configuraciones de acuerdo a las especies de las plantas (1).

Los estomas controlan el 95% o más del intercambio del CO_2 y el vapor de agua entre la hoja y la atmósfera; más del 90 % de la pérdida de agua se debe a los estomas. Los estomas se mantienen abiertos mientras las presiones dentro de la célula permiten la salida de humedad de la planta (15).

En consecuencia, controlan la velocidad de la fotosíntesis y de transpiración de las plantas, por lo tanto los estomas son de primerísima importancia en toda consideración de los factores que regulan el rendimiento de las cosechas (36).

Aparte del CO_2 , los estomas pueden intercambiar gases como O_2 , SO_2 , NH_3 , NO_2 , H_2S , además existe una correlación positiva del número de estomas y la intensidad de asimilación de nutrientes mediante aplicaciones foliares (3).

Se puede decir que a mayor estomas por unidad de área, más CO_2 puede ser asimilado y más agua puede ser liberada. Cuando existe demasiada temperatura, los citocromos, pigmentos y membranas necesarias para la fosforilación y la fijación de CO_2 se desnaturalizan rápidamente. Para evitar ésto, la planta debe abrir sus estomas para evaporar agua y así reducir la temperatura de la hoja (16).

Los estomas por lo común dispersos en aparente desorden se distribuyen en la epidermis aunque en la mayoría de las monocotiledóneas y en las gimnospermas, los estomas están emplazados en hileras. En el género *Musa*, se encuentran dispuestos en hileras paralelas a las nervaduras secundarias. El fitocromo interviene en la formación de las células madres. Esto se debe a que las hojas en presencia de la luz roja lejana se conduce una rápida maduración de los estomas. En la morfogénesis de los estomas intervienen también factores ambientales y genéticos. Se comprobó que la disponibilidad del agua, la intensidad de la luz, la temperatura y la concentración de CO_2 en conjunto influyen sobre la cantidad de los estomas. En las plantas que crecen a plena luz solar la cantidad de estomas es normalmente mayor que en las plantas que crecen en suelo seco y con poca humedad ambiental. En general, tienen más estomas las que crecen en suelo húmedo y con mucha humedad ambiental (36).

La cantidad de estomas puede variar por unidad de área foliar, dado que los factores ambientales también pueden cambiar las áreas foliares, la cantidad de estomas por hoja puede permanecer invariable. La frecuencia estomática varía también en una misma planta de tal modo que la máxima cantidad se encuentra a menudo en la parte superior. Por lo general, cuanto más pequeño los estomas tanto mayor es la frecuencia (42).

El número de estomas varía de acuerdo a la especie, así tenemos que las plantas anuales poseen alrededor de 100-200 estomas por mm^2 y las especies arbóreas poseen 800 (3). En las hojas del género *Musa* los estomas se encuentran en ambos lados de la hoja, pero la densidad en el lado abaxial (140 por mm^2) es cerca de tres veces más que el lado adaxial (29). Por tener estomas en ambos lados de la hoja, el banano es una planta afistomática, aunque el mayor número de estomas se encuentran en el envés de las hojas (2).

Las células subsidiarias (accesorias) son células epidérmicas especializadas contiguas a las células oclusivas. Su estructura y función son más complejos que el de las células epidérmicas. Por lo común son

más pequeñas que las células epidérmicas y encierran un contenido citoplasmático más denso y una mayor frecuencia de organelos celulares. No contienen cloroplastos, antocianinas ni inclusiones cristalinas (42).

Poseen un juego especializado de vías metabólicas diseñado para dar cambios rápidos en el potencial osmótico dentro de las células cuando son estimuladas por cambios relativamente débiles en el ambiente exterior. Estas células guardas se encuentran al lado de un par de células de la epidermis diferenciadas llamadas células subsidiarias, que ayudan a las células guardas en el control del poro estomático. Las células guardas, las subsidiarias y el poro, en colectivo, se denomina el complejo o aparato estomático. El grosor de la pared de las células guardas es mucho mayor en comparación con las otras células normales de la epidermis. Además se encuentran un patrón de grosor de la pared diferente con respecto a las diferentes caras de la célula guarda, en la cara dorsal (en contacto con células epidérmicas) la pared es más fina en comparación con la cara ventral (contigua al poro). Las porciones de la pared que se encuentra dando hacia la atmósfera le da forma al poro. La característica de poseer la pared celular gruesa es esencial en la mecánica de las células guardas, asociada con la alineación de microfibrillas celulósicas. En las células guardas, en forma

de riñón, las microfibrillas de celulosa se encuentran en una disposición radial transversal hacia el poro (42).

La cutícula que cubre la epidermis de las hojas, también se encuentra en las superficies de las células dentro de la cavidad estomática, pero ésta es más fina aquí que en otros lugares, de esta manera el intercambio de gases a través de los estomas es rápido (3).

La deposición cuticular se va acumulando a medida que la hoja envejece, así que el intercambio de gases y asimilación de nutrientes mediante aplicaciones foliares es más efectiva en hojas jóvenes que en hojas viejas (3).

Las células guardas funcionan como válvulas hidráulicas multisensoriales. Factores ambientales como intensidad de luz, temperatura, humedad relativa y concentraciones de CO_2 intracelular son sentidas por las células guardas y estas señales son integradas en respuestas estomáticas bien definidas. Si las hojas se mantienen en oscuridad y de repente se las pone en luz, las células guardas la perciben como una señal de abertura del poro estomático. Cuando el potencial osmótico disminuye, el potencial del agua disminuye y el agua

consecuentemente se mueve hacia las células guardas. Como el agua entra a la célula, la presión de turgencia incrementa y compensa el bajo potencial osmótico (ψ_s). Debido a las propiedades elásticas de la pared celular de las células guardas, éstas pueden incrementar su volumen reversiblemente en un 40 hasta 100%, dependiendo de las especies. La deformación de la pared celular de las células guardas impuesta por el incremento del volumen es el principal aspecto en los movimientos estomáticos. Los movimientos estomáticos se asocian grandes y rápidos flujos de K^+ y H^+ y, por lo general en menor grado, de Cl^- entre las células oclusivas y las vecinas. Posee muchas mitocondrias y mecanismos de síntesis de proteína (42).

Las dimensiones de los límites externos de las paredes pueden variar, según las especies desde menos de 10μ hasta casi 80μ en longitud y desde unos pocos micrómetros hasta alrededor de 50μ de ancho (varía de acuerdo a la abertura estomática) (42).

En las hojas de banano, los estomas se encuentran ordenados en hileras. Muchas veces se utiliza la densidad y tamaño de estomas para evaluar niveles de ploidía, entre diploides y tetraploides (28). Sin embargo, la densidad y tamaño dependen de muchos factores

climáticos. Los estomas siempre son menos frecuentes en la superficie adaxial que en la abaxial, aunque algunos clones como el "Gran Enano" presentan un número muy elevado por área en ambas superficies. Investigaciones preliminares, muestran que cada clon tiene una densidad estomática diferente a la de los otros clones; también varía de una a otra superficie dentro de un mismo clon (35).

Una hoja de banano "Valery" o "Gran Enano" puede tener de 150 a 300 millones de estomas, siendo el número muy variable como en la mayoría de las hojas. Hay diferencias estomáticas debidas a factores genéticos y climatológicos. Se han encontrado en Jamaica en el clon "Gros Michel", densidades estomáticas en la superficie inferior que alcanzan 280 estomas por mm^2 ; en Honduras se observó una densidad de 200 estomas por mm^2 en el mismo clon. También se reporta un máximo de 200 estomas por mm^2 para el clon "Valery" en Guinea, y se observan variaciones de densidad en plantas irrigadas y no irrigadas. En Camerún, se encontró 120 estomas por mm^2 en la superficie abaxial de las hojas de "Gran Enano", aunque este clon es muy semejante al "Valery" en cuanto a número de estomas; este hecho podría deberse a un efecto altitudinal más que a uno genético y la baja luminosidad (1200 horas/año) podría también tener influencia (35).

En el clon "Petite Naine" ("Dwarf Cavendish"), se notó que en la cara superior del semi-limbo envolvente en la hoja III, habían diferencias en cuanto al número de estomas de 22 por mm^2 en zonas nubladas a 70 estomas por mm^2 para las zonas muy soleadas (35).

El tamaño y la densidad de los estomas son proporcionalmente al nivel de ploidía en los bananos (34) (9). Más del 35% de la variación total de la densidad y tamaño de estomas en distintas variedades de *Musa* no está determinada por el nivel de ploidía, sino por un significativo efecto del genotipo dentro del mismo (40).

La densidad y tamaño de estomas en la epidermis de los frutos de plátano varían de acuerdo al cultivar (10), sin embargo, la pérdida de peso y de agua en los frutos no se debe a dichos caracteres (11).

La densidad de estomas en plantas normales de Williams es el doble en comparación con variantes somaclonales aneuploides del mismo clon (32). El número de estomas se ve alterado cuando existe exceso de sombra (18).

3.2 Fisiología

En los estomas se encuentran las células de la planta con la fisiología más compleja, por ende influyen en muchos factores esenciales para el normal funcionamiento de la planta. Los estomas de las hojas se mantienen abiertos cuando existe humedad e iluminación suficiente para un buen desarrollo de la planta, permitiendo así la salida de agua y la entrada de bióxido de carbono necesario para la formación de azúcares. Los estomas se cierran bajo condiciones de baja humedad del suelo y oscuridad (24).

Al comienzo del siglo XX, los fisiólogos de plantas interesados en los estomas estaban intrigados sobre la osmorregulación de las células guardas. El botánico H. Von Mohl propuso en 1856 los cambios en la turgencia de las células guardas provee la fuerza para los movimientos estomáticos de abertura, y el fisiólogo F. E. Lloyd en 1908 lanzó la hipótesis de que los cambios en la turgencia se debía a interconversiones de almidón-azúcar. Los cloroplastos de las células guardas contienen grandes cantidades de granos de almidón que disminuyen cuando se abren los estomas y aumentan cuando se cierran. El almidón, una molécula insoluble, polímero de alto peso molecular de la glucosa, no contribuye al potencial osmótico de las células, pero su hidrólisis en azúcares solubles causa un incremento en el potencial osmótico de las

células guardas. En el proceso contrario, la síntesis de almidón disminuye la concentración de azúcares solubles disminuyendo también el potencial osmótico de las células guardas. Sin embargo, esta hipótesis se vino abajo cuando S. Imamura en 1943 descubrió los flujos de la bomba de potasio. Por otro lado, esta hipótesis se ha retomado ya que se ha probado que la apertura de los estomas en las mañanas está asociado a la asimilación de K^+ y el cerrado de los mismos está asociado con la disminución de sacarosa en las células guardas (36).

El potasio controla en parte la hidratación de las células de los estomas. Cuando el potasio es deficiente, se produce un desajuste en el control de los estomas y estos no se abren y cierran como debieran, provocando un mayor gasto de agua y menor eficiencia en la asimilación (24).

El ingreso de iones y la acumulación de solutos orgánicos en las células guardas ocasionan un incremento en el potencial osmótico y turgencia que es mecánicamente traducido en un incremento en la apertura estomática. La respuesta de los estomas a la luz azul es rápida y reversible, y es localizada en un tipo de célula, la célula guarda. La respuesta de los estomas a la luz azul regula los movimientos a lo largo de la vida de la planta. Ésto se debe a que existe un cromóforo putativo

para la fotorrecepción de la luz azul en las células guardas y existe una correlación de la apertura de los estomas debido a la percepción de la luz azul. Esta respuesta a la luz es la expresión integrada de dos distintos sistemas de fotorrecepción, una depende en la fotosíntesis de las células guardas (fijación de carbón fotosintético) y otra debido a una respuesta específica a la luz azul. Estudios de protoplastos en las células guardas han demostrado que se hinchan en respuesta a la luz azul, indicando que la luz azul es percibido dentro de las células guardas, esto ilustra también el funcionamiento de las células guardas como válvulas de turgencia. La luz azul afecta la osmorregulación de las células guardas a través de la bomba de protones que es activada, y en la síntesis de solutos orgánicos (36).

El potasio, el malato y el cloruro se incrementan en las células guardas cuando el estoma está abierto y disminuyen cuando está cerrado. Las concentraciones de potasio se pueden incrementar drásticamente dentro de las células guardas, desde 100mM cuando están cerrados hasta 400 a 800 mM en el estadio abierto, dependiendo de las especie de planta y de su estadio. Estos cambios drásticos en la cargas debido a los iones de potasio (+) están eléctricamente balanceada por los aniones Cl^- y malato²⁻. El cloruro es introducido a las células guardas durante la abertura estomática y sacado cuando se cierran. Por otro lado, el malato es

sintetizado en el citosol de las células guardas, en una vía metabólica donde utiliza carbón de la hidrólisis de almidón. Asimismo, el malato se disminuye cuando se cierran los estomas, pero no se sabe con certeza si es utilizado como sustrato para la respiración en la mitocondria o sacada hacia el apoplasto. Dependiendo de la especie, se puede encontrar más cloruro que malato o viceversa. Los flujos de potasio y cloruro dependen de las bombas de protones, ésta produce una diferencia en el potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de las células guardas. Las bombas de protones generan un gradiente de cerca de 0.5 a 1 unidad de pH. El componente eléctrico de los protones provee una fuerza pasiva para el ingreso de iones de potasio mediante las vías reguladas de voltaje de potasio. El cloruro se piensa que ingresa a través de un simporte de cloruro⁻ H⁺. Las bombas de protones están influidos por la luz azul que regula las relaciones osmóticas en las células guardas (36). El cerrado de los estomas se debe a la reducción de la presión de turgencia causada por la extrucción masiva de K⁺ y aniones de la célula. Sin embargo, el primer cambio detectado después de una exposición a las células guardas ácido abscísico (ABA) es una despolarización temporal de la membrana debido al continuo flujo de carga positiva hacia el interior y un temporal incremento en el calcio citosólico es detectada. Esto sugiere que la inducción de la despolarización por el ABA resulta en la activación de canales de calcio, y a la salida de calcio del interior de organelos de las

células guardas, como la vacuola, al citosol. El ABA inhibe la estimulación de la bomba de protones por la luz azul gracias al incremento de calcio. Durante periodos de estrés hídrico, los niveles de ABA suben dramáticamente para controlar la pérdida de agua de la planta, y regresa a niveles normales cuando los niveles hídricos en el suelo están normales (25).

Fusicoccin (*Fusicoccum amygdali*) es una fitotoxina que causa la abertura de los estomas por activación de la H^+ -ATPasa en la membrana plasmática, que es responsable de la extrusión de protones. Induce una hiperpolarización de la membrana plasmática de las células guardas, acompañada de una acidificación de la pared celular que causa una abertura de los estomas irreversible, la marchites de las hojas y la posterior muerte de la planta (36).

Debido a la cubierta de cutícula de la hoja, ésta se vuelve impermeable al agua, la mayoría de la transpiración de la hoja es debido a la pérdida de agua en forma de vapor por difusión a través del poro estomático. El poro estomático decrece la resistencia estomática. Los cambios en la resistencia estomática, que es lo inverso a la conductividad (13) son importantes en regular la pérdida de agua por la planta y controlar el

porcentaje de dióxido de carbono asimilado necesario para sustentar la fijación de CO_2 durante la fotosíntesis. Los incrementos en la apertura estomática bajo ciertas condiciones poseen un pequeño efecto en el porcentaje de transpiración (aunque cuando los estomas se encuentran bien cerrados existirá una reducción en la transpiración). La resistencia estomática posee el mayor control de la pérdida de agua en las hojas. La resistencia estomática se incrementa cuando existen épocas de sequía y la temperatura de la hoja es de $3\text{-}4^\circ\text{C}$ más que la temperatura del aire (29).

El control de la apertura estomática por las células guardas juega el papel crucial en la regulación de la transpiración de la hoja. Los estomas pueden ser muy sensitivos a las concentraciones de CO_2 en el ambiente y poseen un rol principal en la regulación en el intercambio de gases en las hojas. Las plantas no pueden prevenir la difusión externa del agua sin excluir simultáneamente el CO_2 de la hoja. Esto se debe a que el gradiente de concentración de CO_2 que se obtiene es mucho menor que el gradiente de concentración que lleva el agua que sale. La solución funcional de este problema es la regulación temporal de las aperturas estomáticas. Por las noches, cuando no existe fotosíntesis y por lo tanto, no existe demanda por CO_2 dentro de la hoja, las aperturas estomáticas permanecen pequeñas, previniendo la pérdida innecesaria de agua. En

una mañana soleada cuando el suplemento de agua es abundante y la incidencia de la radiación solar en las hojas favorece alta actividad fotosintética, la demanda de CO_2 dentro de la hoja es grande, y los poros estomáticos están bien abiertos, disminuyendo la resistencia estomática a la difusión de CO_2 . Por otro lado, en otra mañana soleada cuando el agua en el suelo es muy deficiente, los estomas se abrirán menos o inclusive se quedarán cerrados. Manteniendo los estomas cerrados en condiciones de sequía, la planta evita una potencial deshidratación letal. La resistencia estomática es el factor que controla la transpiración de la hoja y es regulada por la abertura o no del poro estomático. Este control biológico es desarrollado por las células guardas (36).

Una alta conductividad estomática incrementa la difusión de CO_2 en la hoja y favorece un alto rendimiento de fotosíntesis. Altos porcentajes de fotosíntesis favorecen altos rendimientos en las cosechas. Sin embargo, la alta conductividad favorece altos rendimientos mediante un mecanismo que no está directamente relacionado a la fotosíntesis. La evapotranspiración en la superficie de la hoja disminuye la temperatura de la hoja, y una alta conductividad estomática ayuda al enfriamiento de la hoja. El enfriamiento por evaporación en las hojas reduce el vacío entre la temperatura de crecimiento óptimo y la temperatura del aire y provee resistencia térmica. Estos estudios indican que la selección para altos

rendimientos en cultivos irrigados que crecen en altas temperaturas, con una alta conductividad estomática origina una disminución en la temperatura de la hoja que conduce a reducir los daños por efecto del estrés térmico en estadíos críticos como la floración y la fructificación, resultando en un incremento en los rendimientos (36).

Los mayores picos en la conductividad estomática durante el día preceden a los picos de transpiración (29). Existen varios factores que afectan a los estomas. Unos cortos períodos de sequía afectan al cerrado de los estomas y a la conductividad (14). períodos de sequía reduce la fotosíntesis en un 22% y la conductividad estomática en un 48% en bananos (AAA) cultivados en Israel (23); la fotosíntesis, la tasa de transpiración y la conductividad estomática se redujeron en un 27, 38 y 40 % respectivamente en condiciones de sombreo y vientos fuertes que dañaban las hojas (12).

Por otro lado, el plátano Dominico Harton (AAB) no presenta una disminución en la conductividad estomática y transpiración, lo cual lo hace más tolerante a épocas de sequía.

La contaminación de gases y el polvo inhiben los movimientos estomáticos. El polvo disminuye la conductividad estomática al CO_2 , simultáneamente interfiere en el fotosistema II. Gases como el SO_2 y NO_x entran a través de los estomas siguiendo el mismo camino que el CO_2 . Particularmente, el SO_2 causa el cerrado de los estomas para evitar una mayor contaminación (36).

El contenido de agua en la hoja está fuertemente correlacionado con una disminución en el intercambio de gases en la hoja (38). En banano, las hojas 2 al 5 presentan mayor índice de fotosíntesis, tasa de transpiración, conductividad estomática comparado con las hojas 6 al 9. Además, se demuestra que los efectos del clima influyen substancialmente en regiones subtropicales (12).



FIGURA 3.1. ESTOMAS DEL ENVÉS DE LA HOJA 6 DE LA ACCESIÓN FHIA-02 OBSERVADOS AL MICROSCOPIO DE LUZ ÓPTICA CON UN AUMENTO DE 400X, ESPOL 2001

CAPÍTULO 4

4. MÉTODOS DE EVALUACIÓN.

Este estudio se llevó a cabo en el Campus Gustavo Galindo de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL).

El clima es típico de las zonas del trópico, es decir consta de dos estaciones climáticas bien definidas. El invierno es lluvioso y caluroso. El verano es seco y templado. El invierno va de los meses desde diciembre hasta abril, el verano va desde mayo hasta noviembre. Los datos evaluados se tomaron en verano: octubre del 2000 y junio del 2001.

Las observaciones microscópicas y el análisis se realizaron en los laboratorios del CIBE (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador) ubicada en el Campus Gustavo Galindo de la ESPOL.

La ubicación de la plantación evaluada se encuentra en el Campus Gustavo Galindo de la ESPOL, en la periferia de la ciudad de Guayaquil, en las coordenadas 9763420N 615415E usando la proyección de UTM (Universal Transversal Mercator) y P-SAD 56 (Provisional Sud America Datun, 1956), a una altitud de 65 msnm. El tipo de suelo es franco arcillo arenoso. La fertilización fue convencional con urea, superfosfato triple, nitrato de amonio, nitrato de azufre y muriato de potasio en dosificaciones mensuales y de acuerdo a los requerimientos del análisis de suelo. La densidad de siembra inicial fue de 2000 plantas por Ha. No se deshijaron las plantas.

Se realizaron muestreos de la estructura estomática en lámina foliar en la colección de germoplasma existente en la ESPOL. Esta colección consta de 22 accesiones que fueron importadas desde Bélgica, provenientes del Banco de Germoplasma de *Musa*, del Centro Internacional de Tránsito (ITC). Estas accesiones, clasificadas por la Red Internacional para el

Mejoramiento de Banano y Plátano (INIBAP) con diferente expresión para la resistencia o tolerancia a la Sigatoka Negra y su nivel de ploidía, fueron recomendadas por el INIBAP para realizar estudios sobre Sigatoka Negra en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas (CIBE) con sede en la ESPOL.

4.1. Lista de accesiones a evaluar.

La Tabla 1 muestra la lista de 22 accesiones del género *Musa* que fueron clasificadas de acuerdo a su nivel de ploidía y resistencia a la Sigatoka Negra por el INIBAP y recomendadas para realizar estudios para el mejoramiento de *Musa* para Sigatoka Negra.

TABLA 1

NOMBRE, NIVEL DE RESISTENCIA Y NIVEL DE PLOIDÍA DE LAS ACCESIONES DE ACUERDO AL INIBAP.

Numeración CIBE	Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Nivel de ploidía
1	ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	AA
2	ITC.0269	Niyarma Yik	S	AA
3	ITC.0395	Lidi	T	AA
4	ITC.0504	FHIA-01	T	AAAB
5	ITC.0505	FHIA-02	T	AAAB
6	ITC.0506	FHIA-03	T	AABB
7	ITC.0610	Tuu Gia	HR	AA
8	ITC.0611	Pisang Berlin	S	AA
9	ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	AAA
10	ITC.1247	T6	HR	AAAA
11	ITC.1256	Gran Enano	S	AAA
12	ITC.1264	FHIA-17	T	AAAA
13	ITC.1265	FHIA-23	T	AAAA
14	ITC.1267	IRFA 905	T	AA
15	ITC.1268	IRFA 908	T	AAAB
16	ITC.1271	GCTCV-215	S	AAA
17	ITC.1282	GCTCV-119	S	AAA
18	ITC.1297	TMPx 5295-1	T	AABB?
19	ITC.1307	SH-3640	T	AAAA
20	ITC.1320	B 7925	T	AAA
21	ITC.1344	CRBP 39	T	AAAB
22	ITC.1412	FHIA 18	T	AAAB

HR (HS): altamente resistente por hipersensibilidad
 HR: altamente resistente
 T: tolerante
 S: susceptible
 AA: diploide acuminata
 AAA: triploide acuminata
 AAAA: tetraploide acuminata
 AAAB: tetraploide 3/4acuminata 1/4balbiana
 AABB: tetraploide 1/2acuminata 1/2balbiana
 AABB?: tetraploide acuminata balbiana (sin confirmar la especie)

Los materiales de laboratorio que se utilizaron para este estudio fueron los siguientes:

Portaobjetos

Cubreobjetos

Microscopio de Luz Óptica

Esmalte de uña transparente

Ácido láctico

Agua destilada

Pinzas

Otros Materiales:

Cámara digital

Diskettes

Programa computarizado de análisis estadístico (SPSS student ver 8.0)

Escalera

Cuchillo

4.2 Determinación de densidad y tamaño de estomas.

Las plantas a evaluar se encuentran sembradas en bloque completamente azar con una densidad de 2000 plantas por hectárea.

El material vegetal en estudio o accesiones fueron recibidas por la ESPOL en forma de plántulas enraizadas desde el ITC del INIBAP. Se procedió a plantarlas en substrato especialmente preparado, en lo que se denomina fase I, por seis semanas, y luego a fase II, por 5 semanas, en invernadero con la finalidad de que la planta crezca y se fortalezca, para finalmente realizar el último trasplante en el campo definitivo. Estas fueron sembradas en líneas situadas en tresbolillo. Las accesiones se distribuyeron al azar en número de tres plantas por accesión. La siembra se la realizó el 13 de junio del 2000.

El muestreo se lo realizó en dos épocas: al cuarto mes de sembrado las accesiones (octubre del 2000) y a la época de floración (junio del 2000). En el primer muestreo se evaluaron las hojas número 1 y número 6 por planta por accesión. En la segunda época de muestreo, a la floración, se evaluó la hoja número tres de dos plantas por cada accesión. Se realizó un estudio preliminar para determinar el lugar de la hoja en donde se evaluó el comportamiento de los estomas.

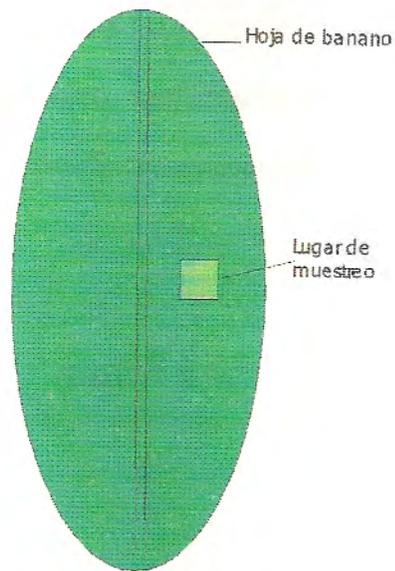


FIGURA 4.1 LUGAR DE MUESTREO EN HOJA DE BANANO

El lugar escogido de la hoja fue en la parte central, longitudinal y transversalmente, de la lámina derecha (Figura 4.1). De esta manera se evita el borde de la hoja la cual posee densidades y tamaños de estomas distintos. Con el propósito de sacar una huella de la superficie foliar se aplicó esmalte de uñas transparente en el envés y en el haz de las hojas de banano in situ. El área de impresión fue de 1 cm^2 . Se dejó gelificar (enfriar) el esmalte para luego extraer con pinzas (fórceps) y ubicarlos en vidrios portaobjetos. Situada la lámina de esmalte en un vidrio portaobjetos, para que exista adherencia y continuidad óptica se aplicó ácido láctico y luego se le puso el cubreobjeto.

En el laboratorio, los preparados fueron observados con un aumento de 400X en un microscopio de luz óptica. El número de observaciones en el microscopio se determinó mediante la siguiente fórmula, dando como resultado un número de 35 observaciones:

$$n = \frac{(t\alpha/2)^2 \times S^2}{E^2}$$

$t\alpha/2 =$	1.96
$E =$	1.37
$S^2 =$	16.9988506
$n =$	34.79 ~35

en donde:

$t\alpha/2 =$	Valor t
$E =$	Error
$S^2 =$	Varianza
$n =$	Número de muestra

Para determinar la densidad de estomas se procedió a contar los estomas por accesión, por hoja y por lado (envés y haz). La densidad se midió en número de estomas en campo de 400X.

Para la medición del tamaño se utilizó un ocular de 10 X con escala micrométrica. Se estableció las equivalencias de la regleta del micrómetro del ocular mediante un micrómetro graduado en escalas de 10 micras en portaobjeto. Se midió el largo y el ancho de los estomas solamente en el envés de las hojas.

Para interpretar la comparación de la densidad y tamaño de estomas se realizaron diferentes análisis estadísticos.

Para la determinación de la densidad de estomas se efectuó el ANOVA (análisis de varianza) de una vía: hoja 1/envés; hoja 6/envés, hoja 3/envés aplicándole la prueba de Duncan a cada una. Se aplicó una correlación de Pearson de densidad y tamaño de estomas en el envés de la hoja 1, hoja 6 y en la hoja 3 a la floración de las plantas para las 22 accesiones, con el nivel de resistencia a la Sigatoka Negra y el nivel de ploidía de acuerdo a la clasificación del INIBAP. Se realizaron comparaciones de las densidades de estomas entre las 22 accesiones por cada hoja evaluada. Se comparó las densidades entre los 3 diferentes muestreos.

Para determinar el tamaño de los estomas se aplicó el ANOVA de una vía: hoja 1/envés, hoja 6/envés, hoja 3/envés más la prueba de Duncan. Se aplicó una correlación de Pearson en la hoja 1/envés y hoja 6/envés de las 22 accesiones de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra y al nivel de ploidía clasificadas por el INIBAP. Se comparó el tamaño entre los tres diferentes muestreos.

Se utilizó el análisis estadístico ANOVA de una vía aplicándole la prueba de Duncan para determinar si existe diferencia entre los tratamientos. El nivel de confianza de los análisis de varianza y prueba de Duncan es del 95%, para los resultados de densidad y tamaño de estomas.

CAPÍTULO 5

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Del registro de datos, producto de las observaciones experimentales se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 2

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² ORDENADOS DE MANERA DESCENDENTE, DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 6 DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ESPOL-005	FHIA-02	T	1052,4	a
ESPOL-010	T6	HR	965,6	b
ESPOL-013	FHIA-23	T	947,3	b
ESPOL-021	CRBP 39	T	939,3	b
ESPOL-022	FHIA 18	T	879,6	c
ESPOL-004	FHIA-01	T	876,6	c
ESPOL-011	Gran Enano	S	872,2	c
ESPOL-006	FHIA-03	T	864,9	c
ESPOL-019	SH-3640	T	861,1	c
ESPOL-012	FHIA-17	T	843,7	c
ESPOL-018	TMBx 5295-1	T	839,0	c
ESPOL-017	GCTCV-119	S	769,9	d
ESPOL-015	IRFA 908	T	741,6	d
ESPOL-016	GCTCV-215	S	681,1	e
ESPOL-020	B 7925	T	680,8	e
ESPOL-014	IRFA 905	T	614,3	f
ESPOL-009	Yangambi km5	HR (HS)	581,3	fg
ESPOL-007	Tuu Gia	HR	547,5	g
ESPOL-001	Calcutta 4	HR (HS)	460,5	h
ESPOL-003	Lidi	T	429,6	hi
ESPOL-002	Niyarma Yik	S	407,8	hi
ESPOL-008	Pisang Berlin	S	379,0	i

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 2 muestra el tamaño de los estomas en orden descendente y clasificadas de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra. Basados en la información de los descriptores de pasaporte, la accesión susceptible Niyarma Yik , comparte con la tolerante Lidi y la hipersensible Calcutta 4 uno de los menores tamaños de estomas; no así la altamente resistente Tuu Gia el cual comparte el tamaño de estomas con la hipersensible Yangambi km5. Entre las accesiones que presenta las de mayor tamaño se encuentran la FHIA-02 con un valor promedio de $1052.4\mu^2$. La altamente resistente T6 comparte con las tolerante FHIA-23 y CRBP 39 entre las de mayor tamaño de estomas en un rango de 939.3 y $965.6\mu^2$. Los resultados demuestran que no existe un patrón determinado entre los niveles de resistencia a la S. Negra y tamaño de estomas. Existen accesiones tolerantes con diversos tamaños de estomas en donde comparten con accesiones de otro nivel de resistencia como las susceptibles y las resistentes.

El análisis estadístico expresa que la correlación¹ a esta edad de la planta en la hoja 6 es muy baja, con un valor de 0.061 afirmando que no existe relación entre el tamaño de estomas y la resistencia a la Sigatoka Negra.

¹ Mide la relación lineal entre dos variables, $-1 < \rho < 1$

TABLA 3

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 1, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ITC.1256	Gran Enano	S	906,92	a
ITC.1247	T6	HR	896,47	a
ITC.1265	FHIA-23	T	891,21	a
ITC.1344	CRBP 39	T	837,85	b
ITC.1264	FHIA-17	T	814,88	bc
ITC.0504	FHIA-01	T	796,11	bcd
ITC.0505	FHIA-02	T	785,91	bcde
ITC.1268	IRFA 908	T	766,68	cdef
ITC.1412	FHIA 18	T	750,31	def
ITC.0506	FHIA-03	T	739,77	ef
ITC.1271	GCTCV-215	S	727,35	f
ITC.1320	B 7925	T	726,45	f
ITC.1297	SH-3640	T	714,62	f
ITC.1307	TMBx 5295-1	T	711,00	f
ITC.1282	GCTCV-119	S	637,09	g
ITC.1267	IRFA 905	T	629,73	g
ITC.0610	Tuu Gia	HR	572,33	h
ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	519,79	i
ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	470,92	i
ITC.0269	Niyarma Yik	S	417,37	j
ITC.0395	Lidi	T	412,38	j
ITC.0611	Pisang Berlin	S	356,67	k

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 3 muestra el tamaño de los estomas de las 22 accesiones en orden descendente y de acuerdo al nivel de resistencia a la S. Negra. La

accesión de menor tamaño de estoma es la susceptible Pisang Berlin, indicando que el hongo puede penetrar, físicamente, los estomas de mayor tamaño, en donde se encuentran accesiones con diferente nivel de resistencia a la S. Negra. La tolerante Lidi comparte el rango de estomas con la susceptible Niyarma Yik con valores de 412.38 y 417.37. Asimismo, se observa que la susceptible GCTCV-119 comparte el rango de tamaño de estomas con la tolerante IRFA 905 con valores de 637.09 y 629.73 μ^2 respectivamente. La susceptible GCYCV-215 comparte el rango de tamaño de estomas con 6 accesiones tolerantes. Entre las de mayor tamaño de estomas se encuentran la accesión susceptible Gran Enano, la altamente resistente T6 y la tolerante FHIA-23 en un rango de 891.21 y 906.92 μ^2 .

El análisis estadístico expresa una correlación muy baja con un valor de 0.081 indicando que no existe relación entre el tamaño de los estomas y el nivel de resistencia a la S. Negra.

TABLA 4

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVES DE LA HOJA 3, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ITC.1265	FHIA-23	T	724,73	a
ITC.0504	FHIA-01	T	721,47	a
ITC.0506	FHIA-03	T	666,73	b
ITC.0505	FHIA-02	T	660,64	b
ITC.1247	T6	HR	639,66	b
ITC.1412	FHIA 18	T	622,22	bc
ITC.1264	FHIA-17	T	614,61	bc
ITC.1307	SH-3640	T	580,96	cd
ITC.1344	CRBP 39	T	553,7	de
ITC.1256	Gran Enano	S	538,26	de
ITC.1297	TMPx 5295-1	T	527,25	de
ITC.1320	B 7925	T	522,59	e
ITC.1268	IRFA 908	T	505,22	ef
ITC.1267	IRFA 905	T	460,73	fg
ITC.0610	Tuu Gia	HR	446,43	g
ITC.1271	GCTCV-215	S	432,2	gh
ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	424,96	gh
ITC.1282	GCTCV-119	S	388,43	hi
ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	366,39	ij
ITC.0611	Pisang Berlin	S	328,66	j
ITC.0269	Niyarma Yik	S	322,87	j
ITC.0395	Lidi	T	313,36	j

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 4 muestra el tamaño de los estomas en el envés de la hoja 3 a la floración, en orden descendente clasificadas de acuerdo al nivel de resistencia a la S. Negra. La hipersensible Calcutta 4 comparte el rango de tamaño de estomas comprendido entre 313.36 y $388.43\mu^2$ con las accesión tolerante Lidi, accesiones susceptibles Pisang Berlin, Niyarma Yik y GCTCV-119. Asimismo, la hipersensible Yangambi km5 comparte tamaño de estomas con dos accesiones susceptibles. La accesión altamente resistente posee tamaño de estomas similares a los de accesiones tolerantes, susceptibles e hipersensibles. La susceptible gran Enano comparte tamaño de estomas con 5 accesiones tolerantes. La accesión altamente resistente T6 comparte un rango de tamaño de estomas con 4 accesiones tolerantes desde 614.61 hasta $666.73\mu^2$.

El análisis estadístico indica una correlación muy baja con un valor de -0.057 indicando que no existe relación alguna entre tamaño de estomas y la resistencia a la S. Negra.

Las Tablas 2, 3 y 4 indican que las accesiones susceptibles comparten tamaños de estomas con accesiones tolerantes e hipersensibles. No existe un patrón determinado en lo referente a tamaño y resistencia a la S. Negra ya que las accesiones del mismo nivel de resistencia se

encuentran dispersas entre sí. Asimismo, la accesión con menor tamaño de estomas tomados al cuarto mes de trasplante es una susceptible indicando que el hongo puede penetrar, físicamente, las accesiones con mayor tamaño de estomas en donde se encuentran accesiones de diversos niveles de resistencia.

En este caso, el estudio comprueba de que el tamaño de estomas no va correlacionado al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra.

TABLA 5

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (# ESTO/400X) DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 6, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Densidad promedio estomas/400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	46,89	a
ITC.0611	Pisang Berlin	S	43,57	b
ITC.0395	Lidi	T	42,77	b
ITC.0610	Tuu Gia	HR	34,89	c
ITC.0269	Niyarma Yik	S	34,69	c
ITC.1267	IRFA 905	T	29,51	d
ITC.1268	IRFA 908	T	28,6	d
ITC.1320	B 7925	T	28,2	d
ITC.1297	TMPx 5295-1	T	25,89	e
ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	25,34	ef
ITC.1344	CRBP 39	T	24,06	fg
ITC.1271	GCTCV-215	S	23,97	fgh
ITC.1264	FHIA-17	T	22,66	ghi
ITC.1256	Gran Enano	S	22,54	hi
ITC.0506	FHIA-03	T	22,23	ij
ITC.1282	GCTCV-119	S	21,57	ijk
ITC.1307	SH-3640	T	21,31	ijk
ITC.1412	FHIA 18	T	21,2	ijkl
ITC.1265	FHIA-23	T	20,77	ijkl
ITC.0504	FHIA-01	T	20,6	kl
ITC.0505	FHIA-02	T	20,23	kl
ITC.1247	T6	HR	19,71	l

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 5 muestra la comparación de densidad de estomas en orden descendente en el envés de la hoja 6 de las 22 accesiones clasificadas

de acuerdo a la resistencia a la Sigatoka Negra citado por el INIBAP. La altamente resistente T6 comparte el rango de densidad de estomas con 4 accesiones tolerantes entre 19.71 hasta 21.20 estomas por campo de 400X. La susceptible GCTCV-119 comparte el rango de densidades con ocho accesiones tolerantes. La accesión hipersensible Yangambi km5 comparte el rango de densidad de estomas con 2 accesiones tolerantes (CRBP 39 y TMPx 5295-1) y con la susceptible GCTCV-215. Entre las accesiones de mayor densidad de estomas se encuentran la accesión susceptible Pisang Berlin y la tolerante Lidi con un rango de 42.53 y 47.57 estomas por campo de 400X. La accesión con mayor densidad de estomas es la hipersensible Calcutta 4.

Las densidades de estomas no llevan un patrón determinado de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra. El análisis estadístico indica una correlación baja de -0.165 .

TABLA 6

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (# ESTO/400X) DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 1, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Densidad promedio estomas/400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	49,46	a
ITC.0395	Lidi	T	48,00	b
ITC.0611	Pisang Berlin	S	41,54	c
ITC.0610	Tuu Gia	HR	35,63	d
ITC.0269	Niyarma Yik	S	31,63	e
ITC.1267	IRFA 905	T	30,06	f
ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	29,46	f
ITC.1268	IRFA 908	T	29,43	f
ITC.1297	TMBx 5295-1	T	27,11	g
ITC.1320	B 7925	T	26,29	g h
ITC.1344	CRBP 39	T	26,03	g h
ITC.1282	GCTCV-119	S	25,57	h
ITC.0505	FHIA-02	T	25,37	h
ITC.1271	GCTCV-215	S	25,11	h i
ITC.0506	FHIA-03	T	24,77	h i
ITC.0504	FHIA-01	T	23,80	i
ITC.1307	SH-3640	T	23,71	i
ITC.1264	FHIA-17	T	22,23	j
ITC.1412	FHIA 18	T	22,09	j
ITC.1265	FHIA-23	T	21,89	j
ITC.1247	T6	HR	20,86	j
ITC.1256	Gran Enano	S	18,31	k

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 6 muestra la densidad de estomas en orden descendente en el envés de la hoja 1 de las 22 accesiones clasificadas de acuerdo a la

resistencia a la Sigatoka Negra por el INIBAP. Entre las de mayor densidad de estomas se encuentran de manera descendente la hipersensible Calcutta 4, la tolerante Lidi, la susceptible Pisang Berlin, la altamente resistente Tuu Gia y la susceptible Niyarma Yik las cuales no comparten rango de densidades homogéneas. La hipersensible Yangambi km5 comparte densidades de estomas con dos tolerantes. La accesión susceptible GCTCV-119 comparte densidades de estomas con 4 tolerantes y una susceptible; en cambio la GCTCV-215 comparte rango de densidades de estomas con 6 accesiones tolerantes y una susceptible. La altamente resistente T6 comparte densidad de estomas con 3 accesiones tolerantes. La susceptible Gran Enano se encuentran con la menor densidad de estomas de todas las accesiones.

El análisis estadístico indica una correlación entre densidad y resistencia a la enfermedad de -0.279 .

TABLA 7

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (\neq ESTO/400X), DE ACUERDO AL NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 3, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Código ITC	Nombre de accesión	Resistencia a Sigatoka Negra	Densidad promedio estomas/400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	HR (HS)	49,3	a
ITC.0611	Pisang Berlin	S	44,6	b
ITC.0269	Niyarma Yik	S	43,2	bc
ITC.0395	Lidi	T	42,3	c
ITC.0610	Tuu Gia	HR	38,15	d
ITC.1267	IRFA 905	T	37,2	d
ITC.1268	IRFA 908	T	33,15	e
ITC.1344	CRBP 39	T	32,95	e
ITC.0506	FHIA-03	T	29,3	f
ITC.1297	TMPx 5295-1	T	25,7	g
ITC.1307	SH-3640	T	24,45	gh
ITC.1271	GCTCV-215	S	24	ghi
ITC.1256	Gran Enano	S	22,85	hij
ITC.1412	FHIA 18	T	22,85	hij
ITC.1320	B 7925	T	22,75	hij
ITC.1282	GCTCV-119	S	22,4	ij
ITC.1264	FHIA-17	T	22,35	ij
ITC.0504	FHIA-01	T	21,9	j
ITC.1123	Yangambi km5	HR (HS)	21,1	j
ITC.0505	FHIA-02	T	16,25	k
ITC.1265	FHIA-23	T	16,95	kl
ITC.1247	T6	HR	14,65	l

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 7 muestra la comparación de la densidad de estomas en orden descendente en el envés de la hoja 3 de las 22 accesiones clasificadas

de acuerdo al nivel de resistencia a la Sigatoka Negra. Las accesiones de menor densidad de estomas son la FHIA-02 (T), T6 (HR) y FHIA-23(T) las cuales poseen densidades de estomas similares. La accesión hipersensible Yangambi km5 posee densidades similares a las susceptibles GCTCV-119 y al Gran Enano, y a cuatro accesiones tolerantes. Entre las accesiones que poseen de mayor densidad de estomas se encuentran la altamente resistente Tuu Gia que posee densidad homogénea de estomas a la tolerante IRFA 905. La accesión tolerante Lidi posee densidad homogénea de estomas a la susceptible Niyarma Yik, la cual le sigue con una mayor densidad la susceptible Pisang Berlin. Por último la accesión con mayor densidad de estomas es la resistente por hipersensibilidad Calcutta 4.

Las accesiones tolerantes se encuentran entre las de mayor, intermedio y menor densidad de estomas, asimismo se encuentran las susceptibles. El análisis estadístico indica una correlación no significativa con un valor de -0.044 indicando que la densidad de estomas no está determinada por el nivel de resistencia a la Sigatoka Negra.

En las Tablas 5, 6 y 7 se observa que las accesiones con distintos niveles de resistencia a la S. Negra se encuentran dispersas entre las de menor y

mayor densidad estomática, indicando que, en este caso, no existe relación alguna entre densidad de estomas y resistencia a la enfermedad fúngica.

Al existir una mayor densidad de estomas implicaría que el hongo puede invadir físicamente el tejido de las plantas; sin embargo existen accesiones resistentes y tolerantes con altas densidades de estomas indicando que la resistencia a la Sigatoka Negra no es mecánica que coincide por lo descrito por Ekanayake y colaboradores (14). Se sugiere que la resistencia más bien se debe a otros factores como lo descrito por Mourichon y colaboradores (26) en donde concluye que la resistencia se debe a interacciones compatibles e incompatibles a nivel bioquímico entre el hospedero y el patógeno. Así mismo Jiménez (20) y Beveraggi y colaboradores (8) sugiere que la resistencia y tolerancia a la S. Negra se debe a la naturaleza y cantidad de compuestos fenólicos secretados por la hoja.

TABLA 8

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² EN EL ENVES DE LA HOJA 6 DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	379,0	a
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	407,8	a b
ITC.0395	Lidi	AA	429,6	a b
ITC.0249	Calcutta 4	AA	460,5	b
ITC.0610	Tuu Gia	AA	547,5	c
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	581,3	c d
ITC.1267	IRFA 905	AA	614,3	d
ITC.1320	B 7925	AAA	680,8	e
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	681,1	e
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	741,6	f
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	769,9	f
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	839	g
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	843,7	g
ITC.1307	SH-3640	AAAA	861,1	g
ITC.0506	FHIA-03	AABB	864,9	g
ITC.1256	Gran Enano	AAA	872,2	g
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	876,6	g
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	879,6	g
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	939,3	h
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	947,3	h
ITC.1247	T6	AAAA	965,6	h
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	1052,4	i

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 8 muestra la comparación del tamaño de estomas de las 22 accesiones en orden ascendente. La Yangambi km5, triploide, posee tamaño de estomas homogéneo con un valor de $581.3\mu^2$ a la IRFA 905, un diploide que posee un valor promedio de $614.3\mu^2$. Sin embargo en el 64% de los casos se cumple un patrón que va de acuerdo al nivel de ploidía, es decir de que a mayor ploidía, mayor tamaño de estomas. Los diploides se encuentran entre los de menor tamaño de estomas, siendo el diploide Pisang Berlin con un valor promedio de $379.0\mu^2$ el de menor tamaño de todas las accesiones; la accesión con mayor tamaño de estomas es la tetraploide FHIA-02 con un valor de $1052.4\mu^2$. El diploide con mayor tamaño es la IRFA 908 con un valor de $614.3\mu^2$ y el tetraploide con menor tamaño es la IRFA 908 con un valor de $741.6\mu^2$.

El análisis estadístico indica una correlación directamente proporcional con un valor de 0.785 y una significancia del 99%, indicando que a mayor nivel de ploidía, mayor tamaño de estomas.

TABLA 9

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 1, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	356,67	a
ITC.0395	Lidi	AA	412,38	b
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	417,37	b
ITC.0249	Calcutta 4	AA	470,91	c
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	519,79	c
ITC.0610	Tuu Gia	AA	572,33	d
ITC.1267	IRFA 905	AA	629,73	e
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	637,09	e
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	711,00	f
ITC.1307	SH-3640	AAAA	714,62	f
ITC.1320	B 7925	AAA	726,45	f
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	727,35	f
ITC.0506	FHIA-03	AABB	739,77	fg
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	750,31	fgh
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	766,68	fgni
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	785,91	ghij
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	796,11	hij
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	814,88	ij
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	837,85	j
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	891,21	k
ITC.1247	T6	AAAA	896,48	k
ITC.1256	Gran Enano	AAA	906,92	k

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 9 muestra la comparación del tamaño de estomas en relación al nivel de ploidía en el envés de la hoja 1 ordenados de manera

ascendente. Se demuestra el comportamiento de que a mayor ploidía, mayor tamaño de estomas; sin embargo, no siempre se lleva un orden ascendente de tamaño de estomas desde menor ploidía a mayor ploidía. Se observa que los triploides B 7925, GCTCV-215 son de mayor tamaño que dos tetraploides, además poseen tamaños de estomas homogéneos con los tetraploides TMPx 5295-1, SH-3640, FHIA-03, FHIA-18 e IRFA 908. En cambio, el triploide Gran Enano es el de mayor tamaño de todas las 22 accesiones, el cual posee tamaños homogéneos de estomas a los de los tetraploides FHIA-23 y a la T6. Por ésta razón, no siempre los de mayor ploidía son los que tienen el mayor tamaño. Aunque los diploides si se diferencian bien de los triploides y tetraploides exceptuando al triploide *Yangambi km5* que tiene menor tamaño que dos diploides y posee un tamaño homogéneo con el diploide Calcutta 4.

El análisis estadístico indica una correlación de 0.676 lo cual demuestra que a mayor ploidía, mayor tamaño de estomas con una significancia del 99%.

TABLA 10

COMPARACIÓN DEL TAMAÑO DE ESTOMAS MICRAS² DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 3, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Promedio tamaño de estomas (μ^2)	Significancia *
ITC.0395	Lidi	AA	313,36	a
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	322,87	a
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	328,66	a
ITC.0249	Calcutta 4	AA	366,39	a b
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	388,43	b c
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	424,96	c d
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	432,2	c d
ITC.0610	Tuu Gia	AA	446,43	d
ITC.1267	IRFA 905	AA	460,73	d e
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	505,22	e f
ITC.1320	B 7925	AAA	522,59	f
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	527,25	f g
ITC.1256	Gran Enano	AAA	538,26	f g
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	553,7	f g
ITC.1307	SH-3640	AAAA	580,96	g h
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	614,61	h i
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	622,22	h i
ITC.1247	T6	AAAA	639,66	i
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	660,64	i
ITC.0506	FHIA-03	AABB	666,73	i
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	721,47	j
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	724,73	j

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 10 muestra la comparación de los tamaños de los estomas en el envés de la hoja 3, ordenados de manera ascendente, de acuerdo al nivel

de ploidía de las 22 accesiones del INIBAP. Se puede observar que las diploides se encuentran entre las de menor tamaño, les siguen las triploides y las de mayor tamaño son las tetraploides. Las triploides se encuentran mezcladas entre las diploides, como es el caso de las triploide GCTCV-119 ($388.43\mu^2$), Yangambi km5 ($424.96\mu^2$) y la GCTCV-215 ($432.20\mu^2$) con tamaños homogéneos de estomas. Los triploides Yangambi km5 y GCTCV-215 poseen tamaños homogéneos de estomas que los diploides Tuu Gia e IRFA 905. Asimismo, las triploides se mezclan con las tetraploides como es el caso del triploide B 7925 ($527.25\mu^2$) y Gran Enano ($538.26\mu^2$) que poseen tamaños homogéneos de estomas con los tetraploides IRFA 908, TMPx 5295-1 y CRBP 39. La diploide IRFA 905 posee tamaño de estomas homogéneos con el tetraploide IRFA 908.

El análisis estadístico muestra una correlación alta: 0.776 con una significancia del 99% indicando que a mayor nivel de ploidía, mayor tamaño de estomas.

TABLA 11

PROMEDIO DE LOS TAMAÑO DE ESTOMAS EN DOS ÉPOCAS DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA, DE LAS ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Nivel de Ploidía	Cuarto mes trasplante				Floración	
	Hoja 6	Sig. *	Hoja 1	Sig. *	Hoja 3	Sig. *
Diploide	473,93	a	476,57	a	373,07	a
Triploide	718,00	b	703,52	b	461,29	b
Tetraploide	892,93	c	791,34	c	619,75	c

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

El promedio del tamaño de los estomas de acuerdo al nivel de ploidía en dos épocas se encuentra descrito en la Tabla 11. El promedio de los diploides, triploides y tetraploides son diferentes y van en forma ascendente. En el cuarto mes de trasplante, la hoja 6, los diploides poseen un promedio de $473.93\mu^2$, los triploides $718.00\mu^2$ y los tetraploides $892.93\mu^2$. Las accesiones tetraploides poseen 1.9 veces más tamaño que las diploides.

Asimismo, en el promedio del tamaño de los estomas en el envés de la hoja 1 al cuarto mes de trasplante, se puede observar que se cumple el comportamiento de que a mayor ploidía mayor tamaño de estomas. Se puede apreciar que la diferencia entre el tamaño de los diploides ($476.57\mu^2$) con los triploides y tetraploides es mucho mayor que entre

triploides ($703.52\mu^2$) y tetraploides ($791.35\mu^2$). Las accesiones tetraploides poseen 1.7 veces más tamaño que las accesiones diploides.

Por otro lado, el tamaño de estomas a la época de floración, se observa que el tamaño promedio de los triploides, $461.29\mu^2$, se encuentra cerca del promedio de los diploides ($373.07\mu^2$). En cambio, en la primera época al cuarto mes de transplante el promedio del tamaño de estomas de los triploides se acerca más al de los tetraploides, lo que sugiere que los triploides se comportan de forma diversa que los diploides y tetraploides en el tiempo, posiblemente a factores climatológicos y de manejo cultural. El tamaño de estomas promedio a la época de floración de los tetraploides es de 1.7 veces más que los diploides ya que poseen doble juego de cromosomas.

En el estudio realizado, se observa que existe un patrón en donde el tamaño de estomas va aumentando con el nivel de ploidía, concordando con Vandenhout y colaboradores (39).

Debido a que existe mayor número de cromosomas en el núcleo al aumentar el nivel de ploidía, se sugiere que el tamaño de estomas

también aumenta con la finalidad de poder albergar los juegos cromosómicos.

Según las Tablas 8, 9 y 10 los triploides no se encuentran muy bien agrupados, más bien se mezclan entre los tetraploides. Las accesiones diploides no poseen, todos, grupos homogéneos de tamaño entre sí, ni así los triploides ni tetraploides. Por otro lado, existen triploides con igual o menor tamaño homogéneo de estomas que algunos diploides; asimismo, existen triploides con mayor o igual tamaño homogéneo de estomas que algunos tetraploides. Todo esto nos indica que existe además del nivel de ploidía, un factor que determina también el tamaño de estomas, en este caso podría ser lo descrito por Vandenhout y colaboradores (40) en donde concluye que, además del nivel de ploidía, el tamaño de estomas es influenciado por un significativo efecto del genotipo dentro del mismo.

TABLA 12

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (# ESTO/400X) DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA EN EL ENVES DE LA HOJA 6, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Densidad promedio estomas/ 400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	AA	46,89	a
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	43,57	b
ITC.0395	Lidi	AA	42,77	b
ITC.0610	Tuu Gia	AA	34,89	c
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	34,69	c
ITC.1267	IRFA 905	AA	29,51	d
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	28,6	d
ITC.1320	B 7925	AAA	28,2	d
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	25,89	e
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	25,34	ef
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	24,06	fg
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	23,97	fgh
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	22,66	ghi
ITC.1256	Gran Enano	AAA	22,54	hi
ITC.0506	FHIA-03	AABB	22,23	ij
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	21,57	ijk
ITC.1307	SH-3640	AAAA	21,31	ijk
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	21,2	ijkl
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	20,77	jkl
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	20,6	kl
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	20,23	kl
ITC.1247	T6	AAAA	19,71	l

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

En la Tabla 12 se observa el número de estomas contados en un campo de aumento de 400X de las 22 accesiones de acuerdo al nivel de ploidía

en el envés de la hoja 6 ordenados de manera descendente. Los triploides GCTCV-119 y Gran Enano poseen densidad de estomas homogénea que los tetraploides FHIA-18, SH-3640, FHIA-03 y FHIA-17. Los triploides GCTCV-215 y Yangambi km5 poseen densidad de estomas homogénea que el tetraploide CRBP 39. El Triploide B 7925 posee densidad de estomas homogénea que el tetraploide IRFA 908 y el diploide IRFA 905.

El análisis estadístico muestra una correlación de -0.767 con un nivel de significancia del 99%, lo que indica que a mayor ploidía, menor densidad de estomas.

TABLA 13

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (# ESTO/400X) DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 1, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2000

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Densidad promedio estomas/ 400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	AA	49,50	a
ITC.0395	Lidi	AA	48,00	b
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	41,50	c
ITC.0610	Tuu Gia	AA	35,60	d
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	31,60	e
ITC.1267	IRFA 905	AA	30,10	f
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	29,50	f
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	29,40	f
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	27,10	g
ITC.1320	B 7925	AAA	26,30	g h
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	26,00	g h
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	25,60	h
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	25,40	h
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	25,10	h i
ITC.0506	FHIA-03	AABB	24,80	h i
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	23,80	i
ITC.1307	SH-3640	AAAA	23,70	i
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	22,20	j
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	22,10	j
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	21,90	j
ITC.1247	T6	AAAA	20,90	j
ITC.1256	Gran Enano	AAA	18,30	k

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 13 muestra la densidad de los estomas en el envés de la hoja 1 ordenados de manera descendente y clasificados de acuerdo al nivel de

ploidía. Los triploides GCTCV-215, GCTCV -119 y B 7925 poseen densidades homogéneas a los tetraploides FHIA-03, FHIA-02 y CRBP 39. El triploide Yangambi km5 posee densidad de estomas homogéneas con el diploide IRFA 905 y con el tetraploide IRFA 908; esto indica que el IRFA 905 es el único diploide atípico en el referente al tamaño (tabla 10) y densidad de estomas. El triploide Gran Enano es la accesión con menor densidad de estomas (18.3 estomas/400X).

El análisis estadístico muestra una correlación inversa con valor de -0.696 y una significancia del 99% lo que indica que a mayor densidad de estomas menor nivel de ploidía.

TABLA 14

COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS (# ESTO/400X) EN ORDEN DESCENDENTE, DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA EN EL ENVÉS DE LA HOJA 3, DE LAS 22 ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Código ITC	Nombre de accesión	Nivel de Ploidía	Densidad promedio estomas/400X	Significancia *
ITC.0249	Calcutta 4	AA	49,30	a
ITC.0611	Pisang Berlin	AA	44,60	b
ITC.0269	Niyarma Yik	AA	43,20	b c
ITC.0395	Lidi	AA	42,30	c
ITC.0610	Tuu Gia	AA	38,15	d
ITC.1267	IRFA 905	AA	37,20	d
ITC.1268	IRFA 908	AAAB	33,15	e
ITC.1344	CRBP 39	AAAB	32,95	e
ITC.0506	FHIA-03	AABB	29,30	f
ITC.1297	TMPx 5295-1	AABB?	25,70	g
ITC.1307	SH-3640	AAAA	24,45	gh
ITC.1271	GCTCV-215	AAA	24,00	ghi
ITC.1256	Gran Enano	AAA	22,85	hij
ITC.1412	FHIA 18	AAAB	22,85	hij
ITC.1320	B 7925	AAA	22,75	hij
ITC.1282	GCTCV-119	AAA	22,40	ij
ITC.1264	FHIA-17	AAAA	22,35	ij
ITC.0504	FHIA-01	AAAB	21,90	j
ITC.1123	Yangambi km5	AAA	21,10	j
ITC.0505	FHIA-02	AAAB	16,25	k
ITC.1265	FHIA-23	AAAA	16,95	kl
ITC.1247	T6	AAAA	14,65	l

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 14 muestra las densidades de estomas ordenados de manera descendente y clasificados de acuerdo al nivel de ploidía en el envés de

la hoja 3 a la floración El triploide Yangambi km5, GCTCV-119, B7925, Gran Enano y GCTCV-215 poseen densidades de estomas homogéneas que los tetraploides FHIA-01, FHIA-17 y FHIA-18. En cambio, los diploides se encuentran con las mayores densidades de estomas pero en cuatro subgrupos de densidades de estomas homogéneas. Los diploides con menor densidad son IRFA 905 y Tuu Gia; pasando por Lidi, Niyarma Yik y Pisang Berlin para terminar con la de mayor densidad que es la Calcutta 4 con 49.3 estomas por campo de 400X. El análisis estadístico muestra que el coeficiente de correlación es de -0.738 con un nivel de significancia del 99% indicando que a mayor ploidía una menor densidad de estomas.

TABLA 15

PROMEDIO DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS EN DOS ÉPOCAS DE ACUERDO AL NIVEL DE PLOIDÍA, DE LAS ACCESIONES DEL INIBAP. ESPOL, 2001

Nivel de Ploidía	Cuarto mes trasplante				Floración	
	Hoja 6	Sig. *	Hoja 1	Sig. *	Hoja 3	Sig. *
Diploide	38,72a		39,39	a	42,46	a
Triploide	24,33b		24,95	b	22,62	b
Tetraploide	22,48c		24,30	b	23,68	b

* Prueba de Duncan con una significancia del 95%

La Tabla 15 muestra el promedio de las densidades de estomas observadas en el envés de la hojas en dos épocas distintas. Se observa que en la hoja 6 del primer muestreo se encuentran diferenciados los diploides, los triploides y los tetraploides, aunque los triploides poseen densidades muy cercanas a la de los tetraploides. En la hoja 1 y en el época de floración, las densidades de los triploides y de los tetraploides son homogéneamente iguales; en cambio, se observa que en los dos muestreos la densidad de estomas de los diploides es muy diferenciada de los triploides y tetraploides. Existen 1.6-1.8 mayor densidad de estomas en los diploides que en las accesiones tetraploides.

La densidad no es un buen indicativo para diferenciar triploides de tetraploides por su cercanía de valores de densidad. Asimismo, las densidades de las accesiones triploides se acercan más a las densidades de estomas tetraploides que a las diploides lo cual es una marcada

diferencia, lo que puede ser un indicativo para discriminar los diploides de los triploides, y con más certeza de los tetraploides, en este estudio.

Sin embargo la densidad de estomas no es un buen indicativo para discriminar los triploides de los tetraploides ya que poseen densidades de estomas homogéneos; aunque se observa un patrón de que a mayor nivel de ploidía, menor densidad estomática.

Según lo observado en este trabajo se evidencia que la densidad de los estomas esta ligado a la ploidía y a otro factor como lo aseverado por Vandenhout y colaboradores (40) en donde la densidad de estomas está determinada por el nivel de ploidía y por un significativo efecto del genotipo dentro del mismo.

En este caso, para determinar el nivel de ploidía es necesario realizar un método más confiable que las mediciones de los estomas. El método recomendado por Silayoui (33) es el de conteo de cromosomas.

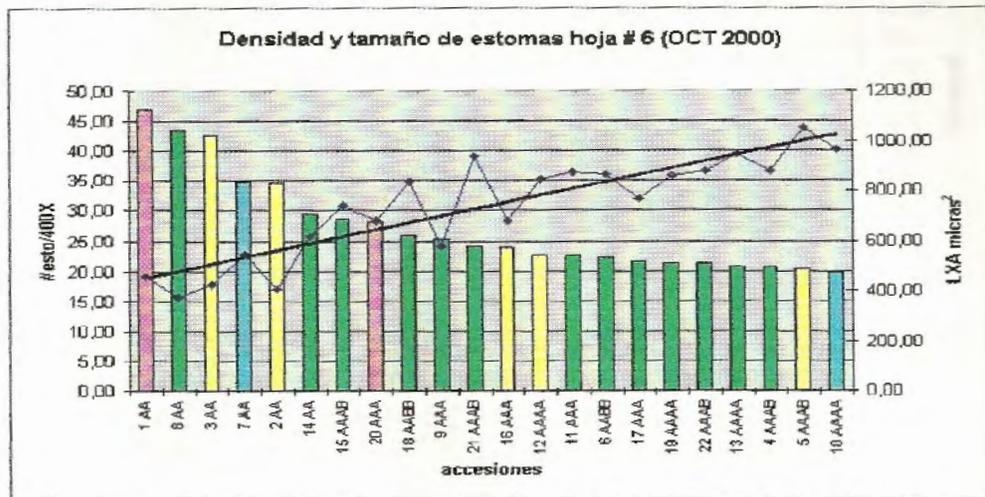


FIGURA 5.1. COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD Y EL TAMAÑO DE LOS ESTOMAS DE LAS 22 ACCESIONES EN EL ENVÉS DE LA HOJA 6. (LAS ACCESIONES HR (HS) SE ENCUENTRAN EN VIOLETA, LAS HR EN TURQUESA, LAS T EN VERDE Y LAS S EN AMARILLO).

La Figura 5.1 muestra la densidad y tamaño de estomas de las 22 accesiones, ordenados de manera descendente de acuerdo a la densidad estomática. A medida que aumenta el tamaño de los estomas, disminuye la densidad. El análisis estadístico muestra una correlación entre tamaño y densidad de estomas -0.719 , lo que indica que a mayor tamaño de estomas menor densidad estomática.

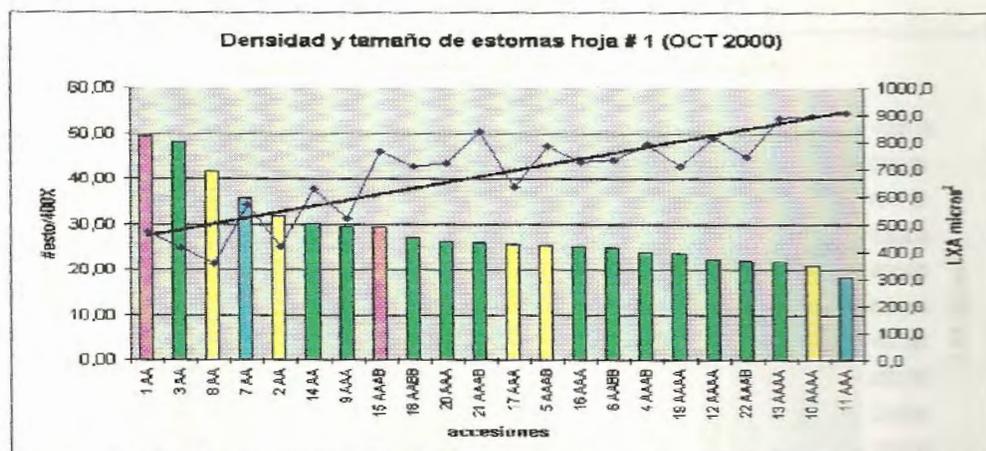


FIGURA 5.2. COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD Y EL TAMAÑO DE LOS ESTOMAS DE LAS 22 ACCESIONES EN EL ENVÉS DE LA HOJA 1. (LAS ACCESIONES HR (HS) SE ENCUENTRAN EN VIOLETA, LAS HR EN TURQUESA, LAS T EN VERDE Y LAS S EN AMARILLO).

La Figura 5.2 muestra la densidad y tamaño de estomas en el envés de la hoja 1 en las 22 accesiones ordenados de acuerdo a la densidad estomática de manera descendente. A mayor tamaño de estomas, menor densidad de estomas. El análisis estadístico muestra una correlación entre tamaño y densidad estomática de -0.675 indicando que a mayor tamaño de estomas, menor densidad estomática.

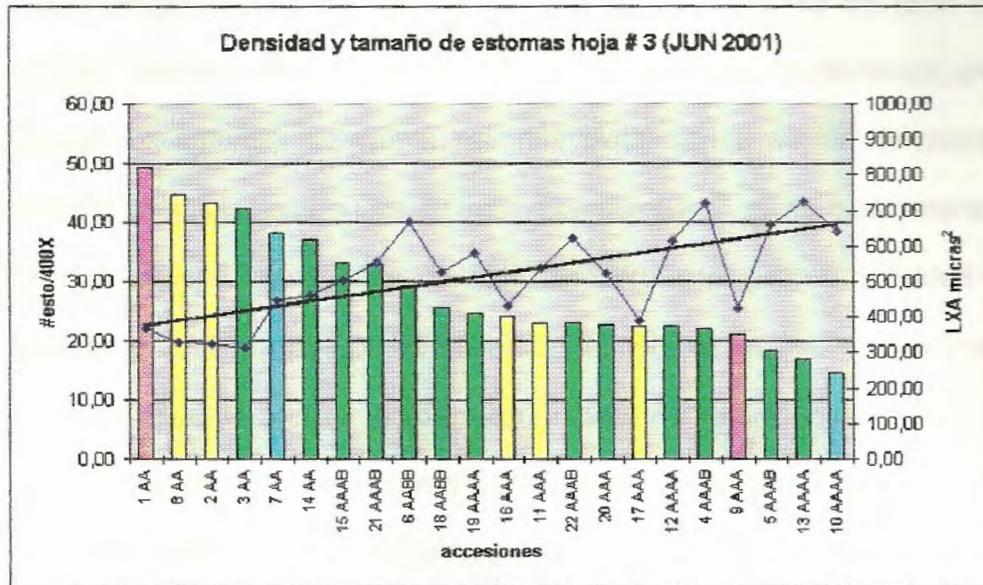


FIGURA 5.3. COMPARACIÓN DE LA DENSIDAD Y EL TAMAÑO DE LOS ESTOMAS DE LAS 22 ACCESIONES EN EL ENVÉS DE LA HOJA 3 A LA FLORACIÓN. (LAS ACCESIONES HR (HS) SE ENCUENTRAN EN VIOLETA, LAS HR EN TURQUESA, LAS T EN VERDE Y LAS S EN AMARILLO).

La figura 3 muestra la densidad y tamaño de estomas en el envés de la hoja 3 a la floración de las 22 accesiones ordenados de manera descendente por la densidad estomática. A medida que aumenta el tamaño de los estomas, disminuye la densidad. El análisis estadístico muestra una correlación de -0.662 indicando que a mayor tamaño de estomas, menor densidad estomática.

Al aumentar el tamaño de los estomas debido al aumento del nivel de ploidía, también existe un mayor tamaño de las células epidérmicas, por lo que los estomas se van a ser más distanciados en los de mayor tamaño de células que en los de menor. Sin embargo, existen accesiones con un tamaño homogéneo de estomas pero con distinta densidad y viceversa debido a que posiblemente el número de células epidérmicas varía de acuerdo a otros factores como clima o interacciones dentro del genotipo, aún así pertenezcan al mismo nivel de ploidía. Se obtuvo una densidad de estomas homogénea en el envés de la hoja 6 (Tabla 12) entre las accesiones FHIA-17 (4n), GCTCV-215 (3n) y CRBP 39 (4n) pero poseen tamaños distintos de estomas (Tabla 8). Sin embargo, existen accesiones con el mismo tamaño de estomas y con la misma densidad como por ejemplo, en el envés de la hoja 1 las accesiones: GCTCV-215 (3n), B 7925 (3n), TMPx 5295-1(4n) (Tablas 9 y 13). Las accesiones triploides son las que mayor diferencias tiene entre la correlación de tamaño y densidad de estomas en comparación con las demás ploidías. El estudio nos demuestra que el distanciamiento de los estomas difiere de acuerdo a las accesiones y las distancias no son homogéneas sólo por tener el mismo tamaño de estomas.

En las Figuras 5.1, 5.2, 5.3 se observa que existe una menor correlación entre tamaño y densidad de estomas a medida que la planta va

creciendo; sin embargo el comportamiento es de que a mayor tamaño de estomas, menor densidad estomática. Posiblemente, el manejo cultural aplicado en el ensayo, ocasionó la reducción de la correlación ya que la densidad de plantas llegó al doble en la segunda época de muestreo. Se sugiere que la intensidad lumínica pudo haber sido un factor importante en determinar valores de densidad y tamaño de estomas. Acordando con lo descrito por TAIZ y colaboradores (36) que en la morfogénesis de los estomas intervienen factores genéticos y ambientales como la disponibilidad del agua, la intensidad de la luz, la temperatura y la concentración de CO_2 , en las plantas que crecen a plena luz solar la cantidad de estomas es normalmente mayor. Asimismo, Soto (35) menciona que el número de estomas variaba en el cultivar Gran Enano, en una zona nublada y en una zona con alta luminosidad.

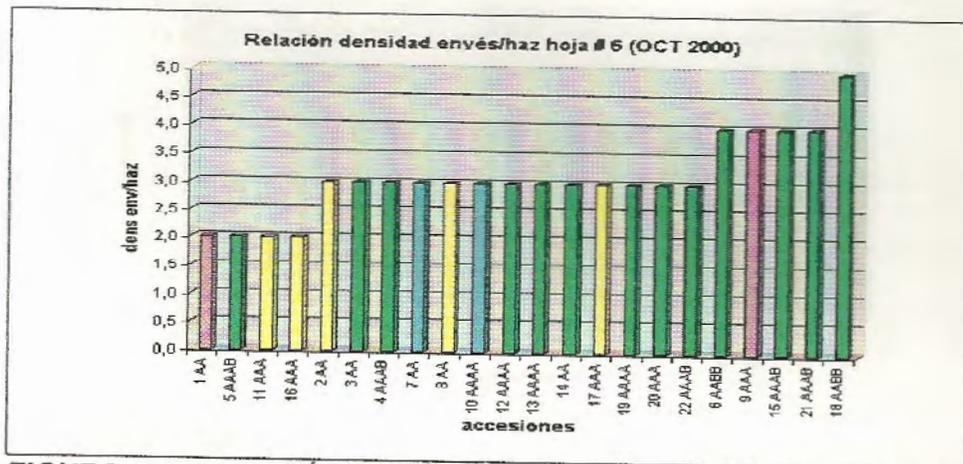


FIGURA 5.4. RELACIÓN ENVÉS/HAZ DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS EN LA HOJA 6. (LAS ACCESIONES HR (HS) SE ENCUENTRAN EN VIOLETA, LAS HR EN TURQUESA, LAS T EN VERDE Y LAS S EN AMARILLO).

La Figura 5.4 muestra las relaciones envés/haz de la densidad de estomas en la hoja 6. Podemos observar que en el 18% de las accesiones existe el doble de estomas en el envés que en el haz. En el 59% de las accesiones existe tres veces la cantidad de estomas en el envés que en el haz. En el 18% de las accesiones existe 4 veces más estomas en el envés que en el haz. En el 5% de los casos existe 5 veces más estomas en el envés que en el haz; aunque en la mayoría de las veces (60%) existen tres veces más estomas en el envés que en el haz.

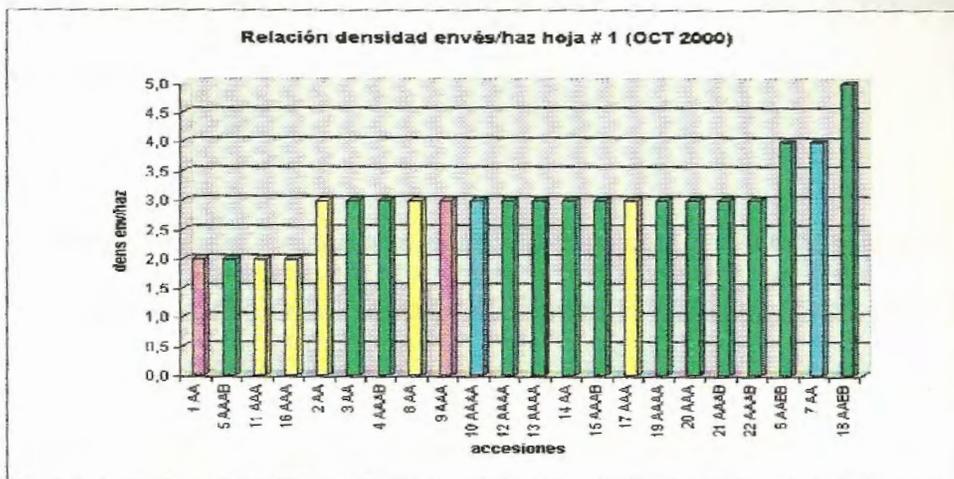


FIGURA 5.5. RELACIÓN ENVÉS/HAZ DE LA DENSIDAD DE ESTOMAS EN LA HOJA 1. (LAS ACCESIONES HR (HS) SE ENCUENTRAN EN VIOLETA, LAS HR EN TURQUESA, LAS T EN VERDE Y LAS S EN AMARILLO).

La Figura 5.5 muestra la relación envés/haz de la densidad de estomas de las accesiones de la hoja 1. En el 18 % de los casos existe dos veces más estomas en el envés que en el haz. En el 68% de los casos existe tres veces más estomas en el envés que en el haz. En el 9 % de los casos existe 4 veces más estomas en el envés que en el haz. En el 5% de los casos existe 5 veces más estomas en el envés que en el haz. Podemos observar que en la mayoría de las veces (68%) existe tres veces más estomas en el envés que en el haz.

La relación envés/haz no tiene alguna correlación con el nivel de ploidía ni el nivel de resistencia a la Sigatoka Negra, posiblemente se deba a otros

factores como interacciones del genotipo dentro del mismo y a respuestas climáticas.

Es verdad que el tamaño y más aún la densidad de estomas va a variar de acuerdo a diferentes climas, retomando lo dicho por Soto (35), Taiz (36) y Willmer (42). Este trabajo se evaluó en una sola localidad, se espera que las densidades y tamaños de estomas varíen en condiciones climatológicas y manejo cultural distintos al del estudio, pero se espera el mismo comportamiento de acuerdo al nivel de ploidía.

TABLA 16

CORRELACIONES DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS: TAMAÑO DE ESTOMA DENSIDAD DE ESTOMAS, NIVEL DE RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA Y NIVEL DE PLOIDÍA. ESPOL, 2001

Variables		Fecha evaluación	valor	Sig.
Ploidía	Tamaño hoja 6	Oct-00	0,785	***
Ploidía	Tamaño hoja 1	Oct-00	0,676	***
Ploidía	Tamaño hoja 3	Jun-01	0,776	***
Ploidía	Densidad hoja 6	Oct-00	-0,767	***
Ploidía	Densidad hoja 1	Oct-00	-0,696	***
Ploidía	Densidad hoja 3	Jun-01	-0,738	***
Resistencia SN	Tamaño hoja 6	Oct-00	0,061	-
Resistencia SN	Tamaño hoja 1	Oct-00	0,081	**
Resistencia SN	Tamaño hoja 3	Jun-01	-0,057	-
Resistencia SN	Densidad hoja 6	Oct-00	-0,164	**
Resistencia SN	Densidad hoja 1	Oct-00	-0,279	**
Resistencia SN	Densidad hoja 3	Jun-01	-0,044	-
Tamaño hoja 6	Densidad hoja 6	Oct-00	-0,719	***
Tamaño hoja 1	Densidad hoja 1	Oct-00	-0,675	***
Tamaño hoja 3	Densidad Hoja 3	Jun-01	-0,662	***

*** Significante al 99%

** Significante al 95%

- No es significativo

La Tabla 16 muestra las correlaciones de las variables estudiadas: Tamaño y densidad de estomas, nivel de ploidía y nivel de resistencia a la Sigatoka Negra.

Se puede observar que existe una alta correlación positiva y significativa al 99% de nivel de ploidía y tamaño de estomas; es decir a mayor nivel de

ploidía, mayor tamaño de estomas. Existe, asimismo una alta correlación negativa con una significancia del 99% sobre nivel de ploidía y densidad de estomas; es decir, que a mayor nivel de ploidía menor densidad estomática. La correlación de tamaño de estomas y resistencia a la Sigatoka Negra es muy baja y en las hojas 6 y 3 no es significativa. En la hoja 1 es significativa al 95% con un valor de 0.081, aún así, en este estudio, se descarta alguna relación entre el tamaño de estomas y la resistencia a la S. Negra.

La correlación entre densidad y resistencia a la S. Negra en las hojas 6 y 1 es significativa al 95 %; sin embargo, posee valores negativos muy bajos indicando que no existe correlación entre densidad de estomas y resistencia a la S. Negra. La correlación significativa se debe mayormente a que existen muchas accesiones que son tolerantes a la S. Negra y que se encuentran entre las de media y menor densidad; sin embargo, ésto se debe a que son accesiones producto de programas de mejoramiento genético en donde, para conseguir tolerancia a la enfermedad fúngica, se realizaron híbridos con parentales resistentes a la Sigatoka Negra y de calidad de fruto aceptable para el mercado. Estos híbridos son tetraploides los que en su mayoría presentan tolerancia a la S. Negra los cuales poseen densidades de estomas menores a diploides y parecidos a los triploides.

La correlación entre tamaño de estomas y densidad estomática es alta y negativa con una significancia del 99% indicando que a mayor tamaño de estoma, menor densidad estomática.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las conclusiones del estudio llevado a cabo en las condiciones experimentales de la ESPOL son las siguientes:

1. El tamaño y densidad de estomas no determina el nivel de resistencia a la S. Negra.
2. El tamaño y densidad de estomas está determinada por el nivel de ploidía e influenciada por algún otro factor climatológico o genético.
3. En el 65 % de los casos en este estudio indica que existen 3 veces más estomas en el envés que en la haz de las hojas.
4. Al aumentar el tamaño de estoma disminuye la densidad estomática.

5. Las accesiones diploides se pueden diferenciar claramente por el tamaño y densidad de estomas de las accesiones tetraploides

Las recomendaciones del estudio llevado a cabo en las condiciones experimentales de la ESPOL son las siguientes:

1. Determinar densidad y tamaño de estomas en localidades distintas con diferentes climas.
2. Determinar densidad y tamaño de estomas en diferentes épocas en una misma plantación.
3. Determinar y comparar el tamaño, densidad, anatomía y fisiología de estomas de las accesiones con los patotipos de la *M. Fijiensis* del Ecuador.

ANEXOS

Cationic

**PRUEBA DE DUNCAN: TAMAÑO DE ESTOMAS EN LA HOJA 6 AL CUARTO MES DE TRASPLANTE
VERSUS RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA CON UNA SIGNIFICANCIA DEL 95%**

Resistencia	SN	Accesiones	n	i	h	g	f	e	d	c	b	a
	S	Pisang Berlin	35	379,683								
	S	Niyarma Yik	35	408,192	408,192							
	T	Lidi	35	430,962	430,962							
	HR(HS)	Calcutta 4	35		460,784							
	HR	TuuGia	35			548,95						
	HR(HS)	Yangambi km5	35			582,398	582,398					
	T	IRFA 905	35				615,009					
	S	GCTCV-215	35					681,559				
	T	B 7925	35					682,714				
	T	IRFA908	35						742,345			
	S	GCTCV-119	35						771,719			
	T	TMPx 5295-1	35							838,563		
	T	FHIA-17	35							841,72		
	T	SH-3640	35							861,966		
	T	FHIA-03	35							865,873		
	S	Gran enano	35							871,596		
	T	FHIA-01	35							877,637		
	T	FHIA-18	35							880,953		
	T	CRBP 39	35								943,237	
	T	FHIA-23	35								948,309	
	HR	T6	35								970,061	
	T	FHIA-02	35									1051,57
Sig.				0,06791	0,06096	0,2089	0,22053	0,96541	0,26978	0,1761	0,34574	1

Medias de grupos en sets homogéneos

Tamaño de muestra para la media armónica=35,000



**PRUEBA DE DUNCAN: TAMAÑO DE ESTOMAS EN LA HOJA 1 AL CUARTO MES DE TRANSPLANTE
VERSUS RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA CON UNA SIGNIFICANCIA DEL 95%**

Resistencia													
S N	Accesiones	n	k	j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
S	Pisang Berlin	35	356,67										
T	Lidi	35		412,38									
S	Niyarma Yik	35		417,37									
HR(HS)	Calcutta 4	35			470,92								
HR(HS)	Yangambi km5	35			519,79								
HR	TuuGia	35				572,33							
T	IRFA 905	35					629,73						
S	GCTCV-119	35					637,09						
T	TMPx 5295-1	35						711,00					
T	SH-3640	35						714,62					
T	B 7925	35						726,45					
S	GCTCV-215	35						727,34					
T	FHIA-03	35						739,77	739,77				
T	FHIA-18	35						750,31	750,31	750,31			
T	IRFA908	35						766,68	766,68	766,68	766,68		
T	FHIA-02	35							785,91	785,91	785,91	785,91	
T	FHIA-01	35								796,11	796,11	796,11	
T	FHIA-17	35									814,88	814,88	
T	CRBP 39	35										837,85	
T	FHIA-23	35											891,21
HR	T6	35											896,47
S	Gran enano	35											906,92
Sig.			1,00	0,84	0,05	1,00	0,77	0,06	0,10	0,10	0,08	0,06	0,56

Medias de grupos en sets homogéneos

Tamaño de muestra para la media armónica=35,000

PRUEBA DE DUNCAN: TAMAÑO DE ESTOMAS EN LA HOJA 3 A LA FLORACIÓN VERSUS RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA CON UNA SIGNIFICANCIA DEL 95%

Resistencia	SN	Accesiones	n	j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
	T	Lidi	35	313,37									
	S	Niyarma Yik	35	322,87									
	S	Pisang Berlin	35	328,66									
	HR(HS)	Calcutta 4	35	366,39	366,39								
	S	GCTCV-119	35		388,43	388,43							
	HR(HS)	Yangambi km5	35			424,96	424,96						
	S	GCTCV-215	35			432,20	432,20						
	HR	Tuu Gia	35				446,43						
	T	IRFA 905	35				460,73	460,73					
	T	IEFA 908	35					505,22	505,22				
	T	B 7925	35						522,59				
	T	TMPx 5295-1	35						527,25	527,25			
	S	Gran Enano	35						538,26	538,26			
	T	CRBP 39	35						553,71	553,71			
	T	SH-3640	35							580,96	580,96		
	T	FHIA-17	35								614,62	614,62	
	T	FHIA-18	35								622,22	622,22	
	HR	T6	35									639,66	
	T	FHIA-02	35									660,64	
	T	FHIA-03	35									666,73	
	T	FHIA-01	35										721,47
	T	FHIA-23	35										724,73
	Sig.			0,0664	0,4048	0,11844	0,22236	0,09255	0,10368	0,06282	0,14163	0,07909	0,90177

Medias de grupos en sets homogéneos

Tamaño de muestra para la media armónica=35,000

**PRUEBA DE DUNCAN:DENSIDAD DE ESTOMAS EN LA HOJA 6 AL CUARTO MES DE TRASNPLANTE
VERSUS RESISTENCIA A LA SIGATOKA NEGRA CON UNA SIGNIFICANCIA DEL 95%**

Resistencia	SN	Accesiones	n	l	k	j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
	HR	T6	35	19,71											
	T	FHIA-02	35	20,23	20,23										
	T	FHIA-01	35	20,60	20,60										
	T	FHIA-23	35	20,77	20,77	20,77									
	T	FHIA-18	35	21,20	21,20	21,20	21,20								
	T	SH-3640	35		21,31	21,31	21,31								
	S	GCTCV-119	35		21,57	21,57	21,57								
	T	FHIA-03	35			22,23	22,23								
	S	Gran enano	35				22,54	22,54							
	T	FHIA-17	35				22,66	22,66	22,66						
	S	GCTCV-215	35					23,97	23,97	23,97					
	T	CRBP 39	35						24,06	24,06					
	HR(HS)	Yangambi km5	35							25,34	25,34				
	T	TMPx 5295-1	35								25,89				
	T	B 7925	35									28,20			
	T	IRFA908	35									28,60			
	T	IRFA 905	35									29,51			
	S	Niyarma Yik	35										34,69		
	HR	TuuGia	35										34,89		
	T	Lidi	35											42,77	
	S	Pisang Berlin	35											43,57	
	HR(HS)	Calcutta 4	35												46,89
	Sig.			0,06	0,09	0,06	0,07	0,05	0,06	0,06	0,44	0,07	0,77	0,25	1,00

Medias de grupos en sets homogéneos

Tamaño de muestra para la media armónica=35,000

PRUEBA DE DUNCAN:DENSIDAD DE ESTOMAS EN LA HOJA 3 A LA FLORACIÓN VERSUS EL NIVEL DE PLOIDÍA CON UNA SIGNIFICANCIA DEL 95%

Ploidía	Accesiones	n	l	k	j	i	h	g	f	e	d	c	b	a
4n	T6	35	14,65											
4n	FHIA-02	35	16,25	16,25										
4n	FHIA-23	35		16,95										
3n	Yangambi km5	35			21,10									
4n	FHIA-01	35			21,90									
4n	FHIA-17	35			22,35	22,35								
3n	GCTCV-119	35			22,40	22,40								
3n	B 7925	35			22,75	22,75	22,75							
3n	Gran Enano	35			22,85	22,85	22,85							
4n	FHIA-18	35			22,85	22,85	22,85							
3n	GCTCV-215	35				24,00	24,00	24,00						
4n	SH-3640	35					24,45	24,45						
4n	TMPx 5295-1	35						25,70						
4n	FHIA-03	35							29,30					
4n	CRBP 39	35								32,95				
4n	IEFA 908	35								33,15				
2n	IRFA 905	35									37,20			
2n	Tuu Gia	35									38,15			
2n	Lidi	35										42,30		
2n	Niyarma Yik	35										43,20	43,20	
2n	Pisang Berlin	35											44,60	
2n	Calcutta 4	35												49,30
Sig.			0,07	0,42	0,09	0,10	0,08	0,07	1,00	0,82	0,28	0,30	0,11	1,00

Medias de grupos en sets homogéneos

Tamaño de muestra para la media armónica=35,000



BIBLIOGRAFÍA

1. ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON J, . . . MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL Third Edition, USA, 1994, pags:1293
2. ARAMBARRI, A. M., COLARES, M. L. corniculatus L. and L. tenuis Waldst. et Kit (Leguminosae) anatomy of the leaf. Lotus Newsletter, 1993, 24: 38-39
3. BALIGAR, V. C., DUNCAN R. R. Uptake and release of mineral elements by leaves and other aerial plant parts. Crops and enhancers of nutrient use. Chapter 8. Role of foliar nutrition. Academic Press, Inc. New York. 1991, P:12-15
4. BALINT-KURTI, P. J.; JIN, M.; CHURCHILL, A. C.; CLARDY, J.; MAY G. . . Analyses of pathogenicity by *Mycosphaerella* pathogens of bananas. Thompson Institute for Plant Research, Molecular Mycology Center, Ithaca, NY, USA. 2Cornell University, Chemistry/Chem. Biology, Ithaca, NY, USA. 1999
5. BEVERAGGI, A. Etude des interactions hôte-parasite chez des bananiers sensibles et résistants inoculés par *Cercospora fijiensis* responsable de la maladie des raies noires. USTL, Montpellier (FRA) 1992/11, 125 p. p.
6. BEVERAGGI, A.; FOURÉ, E.; ZAPATER, M.F.; MOURICHON, X. Analyse de la résistance des bananiers à la maladie des raies noires causée par *Mycosphaerella fijiensis* (*Cercospora fijiensis*). Analysis of the components of resistance in plants and application to varietal improvement. Proceedings of ATP/CIRAD. - Notteghem, J.L.; Peterschmitt, M 1995, - p. 6-11
7. BEVERAGGI, A.; MOURICHON, X.; SALLÉ, G. . . Study of host-parasite interactions in susceptible and resistant bananas inoculated with *Cercospora fijiensis*, pathogen of black leaf streak disease. International Symposium on Genetic Improvement of Bananas for Resistance to

Diseases and Pests, Montpellier (FRA), 1992/09/7-9. CIRAD-FLHOR, Montpellier (FRA). Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests. - Ganry, J. 1993, - p. 171-92

8. BEVERAGGI, A.; MOURICHON, X.; SALLÉ, G. Etude comparée des premières étapes de l'infection chez les bananiers sensibles et résistants infectés par le *Cercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis*) agent responsable de la maladie des raies noires. *Canadian Journal of Botany* (CAN), 1995, vol. 73, p. 1328-1337
9. BORGES, F., . Tamaño y densidad de estomas en clones cultivados y especies silvestres de *Musa*. *Agronomía Tropical* (Venezuela) 1971, 21: 139-143
10. BURDON, J.; MOORE, K.G.; WAINWRIGHT, H. . The peel of plantain and cooking banana fruits. *Annals of Applied Biology* (GBR), 1993, vol. 123, (2), p. 391-402
11. BURDON, J.; MOORE, K.G.; WAINWRIGHT, H. . An examination of the stomata of the fruits of plantains (*Musa* spp., AAB group) and cooking bananas (*Musa* spp., ABB group). *Journal of Horticultural Science* (GBR), 1994, vol. 69, (1), p. 81-88
12. ECKSTEIN, K.; ROBINSON, J.C. . Physiological response of banana (*Musa* AAA; Cavendish sub-group) in the subtropics. I. Influence of internal plant factors on gas exchange of banana leaves. *Journal of Horticultural Science* (GBR), 1995, vol. 70, (1), p. 147-156
13. EKANAYAKE, I.J.; ORTIZ, R.; VUYLSTEKE, D. . Influence of leaf age, soil moisture, VPD and time of day on leaf conductance of various *Musa* genotypes in a humid forest-moist savanna transition site. *Annals of Botany* (GBR), 1994, vol. 74, p. 173-178
14. EKANAYAKE, I.J.; ORTIZ, R.; VUYLSTEKE, D. . Leaf stomatal conductance and stomatal morphology of *Musa* germplasm. *Euphytica* (NLD), 1998, vol. 99, (3), p. 221-229
15. FRANSEN, S. C.; HACKETT, M. R. . HAYMAKING ON THE WESTSIDE Farming West of the Cascades. Washington DC 2001 2001,10: p. 10-14
16. GRANT, B. W., VATNIK, I. . Experiments to Teach Ecology – Environmental Correlates of Stomata Density Department of Biology Widener University, Chester, PA, USA , 2000, vol 2, p. 5-9

17. HERMOSO L, LINDORF H, TRUJILLO I AND GARCÍA E Caracterización estructural de un variante somaclonal de banano resistente a la Sigatoka amarilla. Memorias del II Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal, REDBIO'95. Puerto Iguazú, 1995, Argentina p. 4-6
18. ISRAELI, Y.; PLAUT, Z.; SCHWARTZ, A. . Effect of shade on banana morphology, growth and production. *Scientia Horticulturae (NLD)*, 1995, vol. 62, (1/2), p. 45-56
19. JACOME, L.H.; SCHUH, W.. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var *difformis*. *Phytopathology (USA)*, 1991, vol. 81, (12), p. 1480-1485
20. JIMENEZ, F.; VASQUEZ, N. . Estudio de la densidad y distribución estomatica en Musaceas de diferente ploidia. CATIE. Unidad de biotecnología. Informe bianual 1994-1995. 1996, - p. 4 p.
21. JONES D. R.. . DISEASES OF BANANA, ABACÁ AND ENSETE. UK, 1999, p. 6-160
22. KENNETH SHEPHERD, JORGE LUIS LOYOLA DANTAS, ELIO JOSE ALVES, ROBERT H. STOVER, IVAN W. BUDDENHANGEN. . Mejoramiento genético de banano y plátanos en Brasil y Honduras. 1986
23. LAHAV, E.; LOWENGARDT, A.; BAR ZOHAR, G.; ISRAELI, Y. . The effect of water reduction on bananas in Israel. : Proceedings: international symposium on recent developments in banana cultivation technology. - INIBAP-ASPNET, International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Asia and Pacific Network, Los Baños (PHL); TBRI, Taiwan Banana Research Institute, Pingtung (TWN) : International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology, Pingtung (TWN), 1992/12/14-18 ASPNET Book Series (PHL), 1993, p. 133-140
24. LAZCANO, F. . El Potasio... Escencial para un Buen Rendimiento en la Caña de Azúcar. Instituto de la Potasa y el Fósforo. Informaciones Agronómicas. Canadá, 1999, No 35 pág 2
25. LINDGREN, C. . Absicic Acid. A.G. Scientific, Inc. San Diego CA, 2001, www.agscientific.com
26. MOURICHON, X.; CARLIER, J.; FOURÉ, E. . Enfermedades de Sigatoka: Raya Negra de la Hoja (Sigatoka Negra), Enfermedad de Sigatoka (sigatoka Amarilla), PROMUSA, octubre 1997, http://www.inibap.org/publications/factsheets/factsheet_eng.htm
27. NAVARRO, W. . Mejoramiento Genético en Musa Spp. ESPOL SEBIOCA CEEA, 1998, Pág. 3, 4, 5

28. PLANT BREEDING UNIT OF THEFAO/IAEA AGRICULTURE AND BIOTECHNOLOGY LABORATORIES. Induction and verification of autotetraploids in diploid (*Musa acuminata*) by in vitro techniques. Plant Breeding and Genetics Newsletter n° 1 june,1998
29. ROBINSON J.C.; BANANAS AND PLANTAINS. UK. 1999,p. 10-114
30. ROBINSON, J.C.; BOWER, J.P. . Seasonal transpiration responses of banana in the subtropics. Banana Newsletter (AUS), 1988, (11), p. 3-4
31. ROBINSON, J.C.; BOWER, J.P. . Transpiration from banana leaves in the subtropics in response to diurnal and seasonal factors and high evaporative demand Scientia Horticulturae (NLD), 1988, vol. 37, (1-2), p. 129-143
32. REUVENI, O. Methods for detecting somaclonal variants in "Williams" bananas Identification of Genetic diversity in the genus *Musa* :Proceedings of an International Workshop - Jarret, R.L. (ed.) INIBAP, Montpellier (FRA) 1990, - p. 108-113
33. SILAYOI, B.; WANICHKUL, K.; KEAWSOMPONG, S.; SARADULDHAT, P.; SINGHABURAUDOM, N. Study on mutation breeding of banana, 'Kluai Khai' IAEA, Vienne (AUT) IAEA-TECDOC-800 (AUT), 1995/06 , p. 65-77
34. SIMMONDS, N.W., . Genetical and cytological studies of *Musa*. X. Stomatal size and plant vigour in relation to polyploidy. J. Genet. 1948^a,49: 57-68
35. SOTO, M. . Cultivo y Comercialización de Banano. Costa Rica, 1995,p 50-62
36. TAIZ L, ZEIGER E.. PLANT PHYSIOLOGY second edition, USA, 1998, p. 213-224, 544-623.
37. TENKOUANO, A.; CROUCH, J.H.; CROUCH, H.K.; VUYLSTEKE, D.. Ploidy determination in *Musa* germplasm using pollen and chloroplast characteristics. Hortscience (USA), 1998, vol. 33, (5), p. 889-890
38. TURNER, D.W.; THOMAS, D.S. . Measurements of plant and soil water status and their association with leaf gas exchange in banana (*Musa* spp.) : a laticiferous plant Scientia Horticulturae (NLD), vol. 77, (3/4), 1998, p. 177-193
39. VANDENHOUT, H. . Reliability of rapid methods to determine ploidy in *Musa*. Musafrika (NGA), 1993/12, vol. 1, (3), p. 6

40. VANDENHOUT H., ORTIZ R., VUYLSTEKE D., SWENNEN R BAI K.V. Effect of ploidy on stomatal and other quantitative traits in plantain and banana hybrids. 1995, *Euphytica* 83: 117-122
41. VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R. . Plantain-derived diploid hybrids (TMP2x) with black Sigatoka resistance. *HortScience* (USA), 1995, vol. 30, (1), p. 147-149
42. WILLMER C. . LOS ESTOMAS. Departamento de Biología, Universidad de Stirling. UK, 1986, 192 pág.