

T
634.772
ZAM



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
INSTITUTO DE TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS
INFORME DE PRACTICAS
PROFESIONALES

PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
TECNOLOGO EN ALIMENTOS

REALIZADO EN:
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLOGICAS DEL ECUADOR
(CIBE)

AUTOR :
Srta. Maritza Zambrano

PROFESOR GUIA
Ing. Angela Naupay

PROFESOR SEGUNDA REVISION :
Ing. Fabiola Cornejo



AÑO LECTIVO
2000 - 2001
GUAYAQUIL - ECUADOR



D-24570



Prácticas Profesionales

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

INSTITUTO DE TECNOLOGIAS

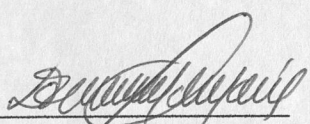
PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

INFORME DE PRACTICAS PROFESIONALES

**Previo a la obtención del Título de
Tecnóloga en Alimentos.**

Realizado en:

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLOGICAS DEL ECUADOR (CIBE)


Ing. Angela Naupay
Profesor Guía


Ing. Fabiola Cornejo
Profesor de Segunda Revisión.

**Autor:
Srta. Maritza Zambrano**

AÑO LECTIVO

2000-2001

Guayaquil- Ecuador

*Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.*

Guayaquil, 7 de Julio del 2000.

Ing. Angela Naupay.

COORDINADORA DE PROTAL.

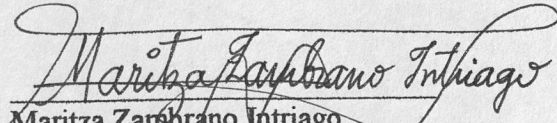
En su despacho.-

De mis consideraciones:

Saludándole cordialmente, me dirijo a Usted respetuosamente para poner a su disposición y conocimiento mi informe de **PRACTICAS PROFESIONALES**, realizadas en el proyecto "*Mejoramiento Genético en Musa, sustentable, para la resistencia a Sigatoka Negra*" dirigido por el DR. Rodolfo Maribona, durante el tiempo comprendido entre 1ro de Febrero del 2000 a Junio del presente año.

Esperando que este informe sea de su agrado, me suscribo a Usted.

Atentamente.


Maritza Zambrano Intriago.



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

"Ciencia, Tecnología y Educación al servicio del País"

CERTIFICADO.

Por medio de la presente certifico que la Srta. **MARITZA ZAMBRANO INTRIAGO**, ha realizado sus Prácticas Profesionales en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador – **CIBE**, durante el período de Febrero del 2000 a Junio del 2000.

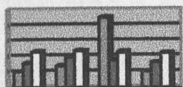
Durante su trabajo en el proyecto se ha destacado por su buen desempeño, cumplimiento y responsabilidad en las labores encomendadas.

La Srta. Maritza Zambrano Intriago, puede dar uso al presente documento cuando estime conveniente.

Atentamente,

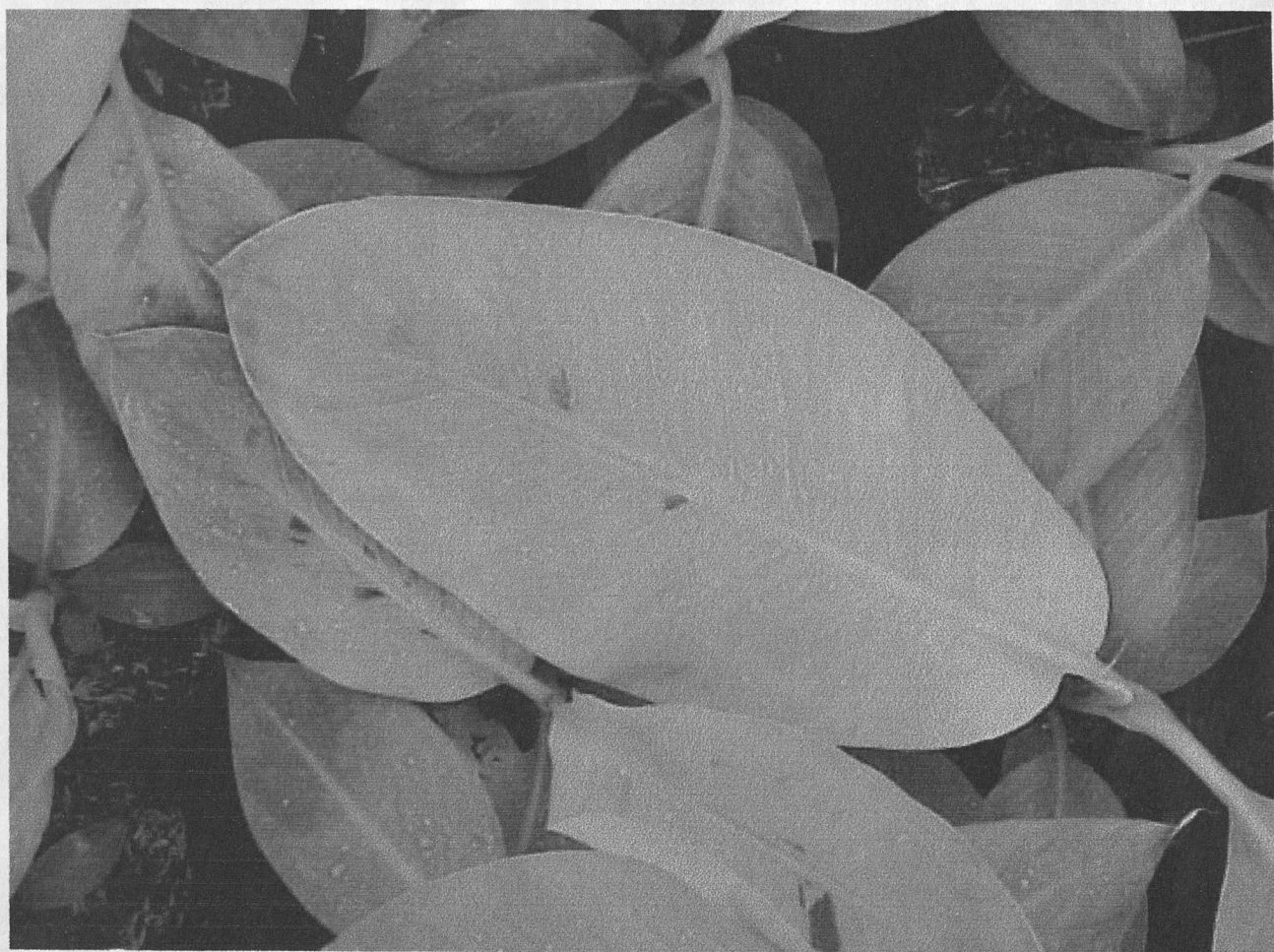
Dr.
Rodolfo Maribona
Promotor del Componente # 3
Proyecto VLIR-ESPOL (C.I.B.E)

BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



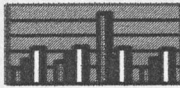
Prácticas Profesionales

**CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLOGICAS
C . I . B . E .**



Plantas de Banano traídas de INIBAP.

*Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.*



INDICE

Carátula

Resumen

Introducción

Objetivos generales y específicos _____ **1**

Labores realizadas _____ **2**

Diagrama de flujo (Conductimetría) _____ **3**

GENERALIDADES

Capítulo # 1:

GENERALIDADES EN EL CULTIVO DE BANANO, ENFERMEDADES Y APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS PARA EL ESTUDIO DE LA SIGATOKA NEGRA.

1.1 Importancia económica y social del cultivo de banano en el Ecuador _____ **4**

1.2 Enfermedades del cultivo de banano

1.2.1 El nemátodo barrenador del banano

1.2.2 La mancha rojiza del Pseudotallo _____ **5**

1.2.3 Enfermedad del cogollo racemoso

1.2.4 Fusarium wilt de banano _____ **6**

1.2.5 Enfermedad "Bugtok" en banano

1.2.6 Enfermedad de la Sigatoka negra

1.2.7 Síntomas _____ **7**

1.2.8 Distribución de la Sigatoka negra _____ **8**

1.3 Agente causal de la Sigatoka negra _____ **8-9**

1.4 Métodos biotecnológicos para el estudio de la Sigatoka negra _____ **9**

1.5 Aplicación de la bioestadística como una herramienta fundamental

1.5.1 Propósito de la Estadística

1.5.2 Concepto de Estadística _____ **10**

Capítulo # 2 :

CONDUCTIMETRÍA

2.1 Concepto de conductividad _____ **11**

2.2 Características de la membrana citoplasmática

2.2.1 Concepto

2.2.2 Función _____ **12-13**

2.2.3 Procesos de Transporte

• Transporte pasivo

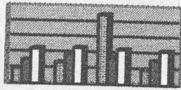
• Difusión

• Difusión facilitada _____ **13-14**

Srta. Maritza Zambrano

Area de Estadística-Membranas

C.I.B.E.



Capítulo # 3 :

METODOLOGIA PARA MEDIR CONDUCTIVIDAD.

3.1 Materiales	14
3.2 Reactivos	
3.3 Equipos	15
3.4 Métodos	
• Procedimiento del experimento para estandarizar la toma de datos de conductividad	15
3.5 Lavado de la cristalería	
• Preparación de la mezcla sulfocrómica	16-17
• Preparación de la mezcla acetilalcohólica	17-18
3.6 Antecedentes bibliográficos	
3.7 Bioensayo conductimétrico # 2	
• Metodología para medir la interacción Hongo – Membrana	18
3.7.1 Determinación del tamaño muestral	
○ Muestras probadas	
○ Resultados de un pequeño ensayo	
○ Procedimiento	18
○ Determinación del tamaño muestral	19
3.8 Reactivos	
3.9 Equipos	19
3.10 Procedimiento	20

Capítulo # 4 :

RESULTADOS

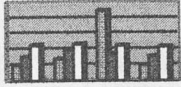
4.1 Análisis estadístico de los ensayos	19
• Estadística descriptiva	20
• ANOVA # 1	21
• ANOVA # 2	22
• Segundo ensayo, estadística descriptiva	24
• ANOVA y test de Homogeneidad de varianzas	25
• Gráfica de la muestra después de cuatro horas y estadística descriptiva	26-27
• ANOVA # 3	28-29
• Test de comparación de las muestras en diferentes horas	30
• Conclusiones respecto al análisis estadístico	31

CONCLUSIONES GENERALES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS



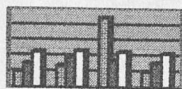
RESUMEN

El presente informe, pone a su consideración, el detalle particular de las tareas de análisis estadísticos, aplicado a los estudios de conductimetría llevados a cabo en el C.I.B.E.(Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador), con el propósito de cumplir con los objetivos específicos del área de Estudio de Membranas y la interacción Hongo-membrana.

El contenido del presente informe hace referencia a los objetivos generales y específicos que me planteé al momento de iniciar el desarrollo del mismo. A más de ello consta con el detalle del trabajo investigativo realizado, describe los tratamientos estadísticos aplicados al estudio agronómico, y la determinación del tamaño muestral para utilizar un diseño experimental de fácil manipulación para el técnico responsable de la toma de datos, así como la rápida obtención de resultados, que revelen resultados probables.

El informe, contiene un diagrama de flujo de la metodología aplicada para el estudio conductimétrico, así como una descripción general de las principales enfermedades que atacan al cultivo de banano, de las cuales la más grave es Sigatoka negra por causar pérdidas en producción de más del 50%. También constan los métodos biotecnológicos aplicados en este centro para el estudio de la enfermedad, descripción de las metodologías aplicadas para el estudio de la interacción Hongo- membrana mediante la toma de datos conductimétricos.

Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.



INTRODUCCIÓN

Mis prácticas profesionales, presentadas en este informe fueron tomadas como parte de la labor del C.I.B.E. (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador), con fines investigativos en línea directa con la Biotecnología, para contribuir al desarrollo de la investigación científica en el Ecuador, y en la búsqueda de soluciones a los graves problemas que afectan a la economía global del sector agrícola y alimentario, especialmente del producto de mayor exportación de nuestro País, el **banano**, cuya producción actualmente decrece; a causa de la Sigatoka negra, cuyo agente causal es el hongo, *Micosphaerella fijiensis*, que provoca severos daños en el área foliar de las plantas de banano.

El área específica donde me desempeño, consta de dos partes :

- Bioestadística, encargada del soporte estadístico a las diferentes áreas.
- Estudio de membranas, mediante la medición cambios en la conductimetría por la acción provocada por el hongo *Micosphaerella fijiensis* en las hojas de banano sanas y enfermas.

Estas áreas en el Proyecto poseen una importancia fundamental. La primera está dirigida al procesamiento y análisis de los datos experimentales, obtenidos de las diferentes áreas como Fitopatología, Inmunquímica, Germoplasma, Cultivo de tejidos y Genética. Cada una de ellas coordina sus actividades con el área de Estadística antes de su ejecución, para determinar las condiciones y el diseño experimental, para su posterior evaluación.

El estudio de Membranas, está dirigido a evaluar los cambios conductimétricos que se producen al nivel de la membrana celular de las hojas de banano, de las sanas hacia las enfermas, puesto que la agresión de la enfermedad conduce al cambio intracelular en la concentración de electrolitos Además, el agente causal de la Sigatoka negra, mediante mecanismos desconocidos, provoca daños en la membrana lo que impide el transporte de agua y nutrientes a las células de las hojas, provocando marchitamiento y necrosis al área foliar.

Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.



OBJETIVOS GENERALES

- Obtención de conocimientos, y dicha capacitación me permitirá formar parte de un equipo capacitado en Biotecnología, dirigidos al cumplimiento de los objetivos del C.I.B.E.-ESPOL.
- Capacitación en las áreas de Bioestadística y Estudio de membrana celular, efectuadas en el Componente 3 del Proyecto VLIR-ESPOL.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aprender a analizar estadísticamente los datos de ensayos experimentales de las diferentes áreas del C.I.B.E.
- Estandarizar la metodología y condiciones necesarias para realizar el estudio de la conductimetría en hojas sanas y tratadas.
- Aplicación del Estudio de conductimetría, para evaluar los daños provocados en las hojas de banano por *Micosphaerella fijiensis* en los diferentes estadios.



LABORES REALIZADAS

Dentro del Proyecto, mis labores estuvieron asignadas para el área de Bioestadística y Estudio de Membranas, las cuales detallo a continuación.

- Asesoramiento y aprendizaje de Bioestadística bajo la tutela de la Dra. Julia Saad.
- Manejo del Programa SPSS, herramienta computacional para la manipulación de datos estadísticos, proveniente de los diferentes departamentos.
- Organización del material didáctico y funcionamiento de equipos a utilizar en las conferencias y seminarios que se dictaron con auspicio del Proyecto.
- Estudio de análisis estadístico, para buscar aplicación práctica a los trabajos experimentales que propusieron los jefes de áreas.
- Ayudante de laboratorio en el área de Estudio de membranas, mediante la toma de datos conductimétricos, en diferentes condiciones.
- Ayudante en la estandarización de las condiciones experimentales para medir la conductimera en las hojas de banano sanas.
- Medición de Conductimetría en diferentes ensayos a partir de hojas sanas y enfermas en diferentes estadios de la enfermedad.
- Evaluación de los datos de conductimetría.
- Medición de la conductividad en diferentes condiciones experimentales, como herramienta para el estudio de la toxina que provoca la enfermedad de la Sigatoka negra en banano.
- Aprendizaje en el manejo de los principales equipos utilizados en los Laboratorios de Fitopatología, Inmunoquímica, Cultivo de tejidos, y Genética. (Anexo 1 y 2)

Las condiciones en las que me desempeñé laborando fueron:

- Horario de ocho horas diarias (08H00-16H00)
- Colaboración con cualquier actividad asignada extraordinariamente por el Promotor del Proyecto.

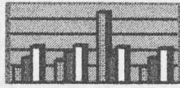
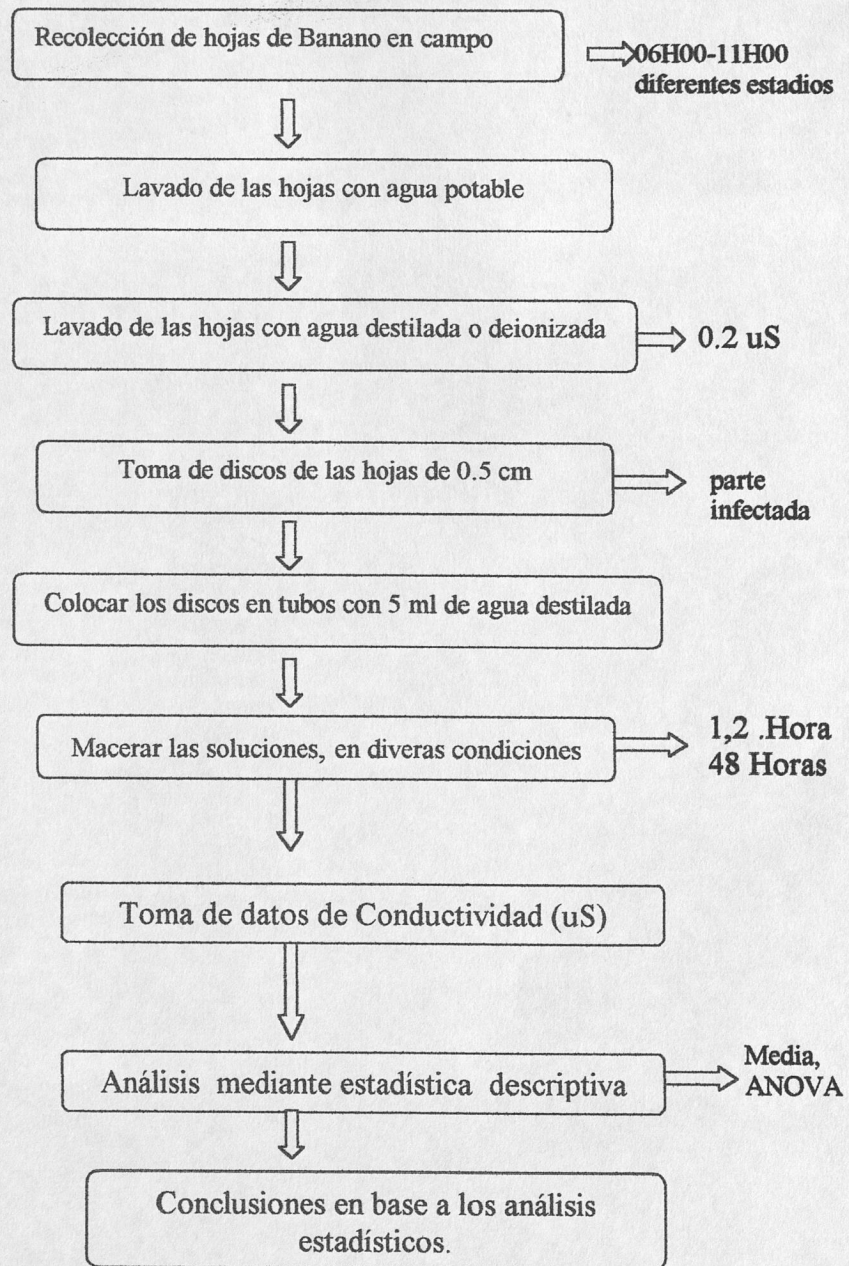
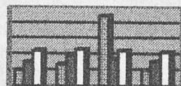


DIAGRAMA DE FLUJO (CONDUCTIMETRIA)





GENERALIDADES

CAPÍTULO # 1:

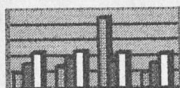
APLICACIÓN DE LA BIOTECNOLOGÍA EN EL CULTIVO DEL BANANO EN LA LUCHA CONTRA LA SIGATOKA NEGRA.

1.1 Importancia económica y social del cultivo de banano en el Ecuador.

El año de 1986, que es cuando se dispone de estadísticas más recientes (Programa Nacional del Banano, 1992), el Ecuador exportó 75, 8 millones de cajas de banano para un ingreso total de 454 millones de sucres. Fue seguido por Costa Rica con casi 300 millones, Colombia con 287 millones, Honduras con 266 millones, Panamá con 195 millones, y Guatemala con 110 millones de sucres. Estos seis países son los principales productores de banano en el Hemisferio Occidental. Excluyendo Asia y con la producción de otros países, existe un total de producción mundial de banano que alcanza 2452 millones de dólares. Esto es la producción total y no la exportación. Los gobiernos de los países bananeros donde se origina esta producción derivan sustanciales ingresos por impuesto a la exportación. En el Ecuador, concretamente, la producción bananera, según datos entregados por el centro de Documentación de la UPEB, emplea a 300.000 mil personas directa o indirectamente; es decir, que una gran proporción de la población de 8, 5 millones en 1980 fueron activas en la producción y comercialización del banano. Estas llegan a constituir el 30% de la fuerza laboral agrícola económicamente activa. En el Ecuador la producción de banano es la principal actividad agrícola del país.

En otros países la proporción de la fuerza laboral agrícola económicamente empleada en banano es menor que en el Ecuador (Anexo 3), lo que indica que un gran número de familias ecuatorianas dependen de la producción de banano y plátano, y que la reducción de la producción por efecto de la Sigatoka negra, trae consecuencias graves para la situación social del país.

El Ecuador se encuentra como uno de los principales países exportadores de América Latina. Sus exportaciones generan el 2,8% del Producto Interno Bruto, y en cuanto al porcentaje de exportaciones totales, en el Ecuador es del 12,7%; esto indica que el banano hace un aporte más importante a la economía nacional que ninguno de los productos agrícolas de exportación en estos países bananeros.



1.2 Enfermedades del cultivo de banano.

En este subcapítulo se encuentran detalladas cada una de las enfermedades que afectan de forma agresiva a las plantaciones del Ecuador, y que inciden en la economía global del país:

1.2.1 El nemátodo barrenador del banano (*Radophulus similis cobb*)

El nematodo barrenador (*Radophulus similis*) es uno de los patógenos más importantes que ataca a la raíz y el rizoma (cormo) en bananos en las zonas de producción inter-tropicales.

Radophulus similis es un nematodo endoparásito migratorio que completa su ciclo de vida en 20-25 días en los tejidos de la raíz y el rizoma, este nematodo puede invadir cualquier porción de la raíz. Al migrar ínter e intracelularmente, se alimenta del citoplasma y células del parénquima cortical, destruyendo paredes celulares y causando cavidades y túneles que se necrosan y pueden extenderse a toda la región parenquimatosas.

La destrucción de los tejidos de la raíz y del rizoma limitan la absorción de agua y nutrientes, lo cual resulta en la reducción del desarrollo y crecimiento de la planta. Esto conlleva a pérdidas en el peso del racimo e incrementa significativamente el periodo entre dos cosechas sucesivas; mas aún, la destrucción de las raíces resulta en una tendencia de las plantas a desraizarse o volcarse durante vientos y lluvias fuertes, lo que causa severas pérdidas económicas. (INIBAP - Hoja Divulgativa N°. 1, Diciembre 1996)

1.2.2 Mancha rojiza del Pseudotallo del banano o Blood Disease

La enfermedad de la mancha rojiza del pseudotallo del banano se observa comúnmente en el cultivar de Pisang Kepok (ABB/BBB. 'SABA') aunque también otros grupos son susceptibles a la infección. Los síntomas de esta enfermedad son similares a los producidos por la enfermedad conocida como 'Moco' en América Latina y varían con la capacidad de crecimiento de la planta y con la ruta de la infección.

Existe evidencia convincente de que la infección se origina a través de las inflorescencias y de que esta enfermedad es transmitida por insectos, al igual que la enfermedad del 'Moko', en América Latina. El ennegrecimiento y el marchitamiento de las flores masculinas, se observa frecuentemente en plantas maduras, y la decoloración vascular puede detectarse dentro del pedúnculo y a través del raquis. Este ennegrecimiento algunas veces se extiende a los frutos localizados en la parte baja del racimo, que en su exterior se ve saludable. Internamente, los frutos de todos los racimos adquieren un color café – rojizo y luego se pudren.



1.2.3 Enfermedad del cogollo racemoso del banano

El cogollo racemoso del banano (BBTD) es la enfermedad viral más importante que ataca al banano y al plátano en todo el mundo. Esta enfermedad representa el principal problema que afecta a la productividad del género *Musa* en muchas áreas del Sureste de Asia y en el Pacífico.

El BBTD es transmitido localmente, en forma persistente y circulatoria por el áfido del banano (*Pentalonia nigronervosa*). Su distribución a lo largo de las grandes distancias se presenta por el movimiento del material vegetativo infectado; por ejemplo, corno de hijuelos y plántulas de cultivo de tejidos.

El BBTD no está presente en el suelo y es poco probable que las herramientas que utilizan para el manejo del cultivo transmitan la enfermedad.

Las plantas afectadas por el BBTD muestran una variedad de síntomas. Las que tienen síntomas avanzados presentan una apariencia de roseta, con hojas angostas, verticales y progresivamente más cortas, lo cual da origen "cogollo racemoso" (bunchy top). Los bordes de las hojas generalmente se enrollan hacia arriba y muestran un amarillento marginal. Usualmente se encuentran rayas de color verde oscuro en la nervadura central y en el peciolo, las cuales se extienden hacia abajo hasta el seudotallo. Las plantas infectadas en etapas iniciales raramente producen racimo, aunque en infecciones tardías podrían formar un racimo distorsionado. En infecciones muy tardías, el único síntoma que se presenta son rayas de color verde oscuro en las puntas de las brácteas florales de la bellota.

1.2.4 Fusarium wilt of banana.

La enfermedad provocada por *Fusarium*, llamada enfermedad de Panamá, está ampliamente reconocida en todo el mundo como una de las enfermedades más destructivas de la historia. Esta enfermedad es causada por el hongo *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense* (E. F. Smith) que no habita en el suelo.

La enfermedad de Panamá es un serio problema al encontrarse en algunos cultivos de banano en crecimiento de pequeños productores para consumo local. El síntoma externo clásico de *Fusarium* en banana inicialmente aparece como una mancha amarilla alrededor de las hojas más viejas. Este síntoma es inicialmente confundido con la deficiencia de potasio especialmente bajo condiciones de sequedad y frío. No han sido observados síntomas de la enfermedad en la fruta.

La infección ocurre cuando el patógeno entra en las raíces de la planta de banano. El hongo invade el xilema, y no es bloqueado por las respuestas oclusivas del hospedero, y avanza hasta el corno. Los síntomas internos son caracterizados por una decoloración vascular que empieza con el amarillamiento de los tejidos vasculares en las raíces y el corno, y se continúan hasta formar una coloración amarilla continua, roja o café perdiendo el color sus partes vasculares, en el seudotallo y algunas veces aparece en el peciolo del racimo.



1.2.5 Enfermedad "BUGTOK" en banano.

El bugtok es una enfermedad bacteriana endémica y ampliamente distribuida en los cultivares de banano para cocción en Filipinas. "Bugtok" es un término local que se utiliza en la parte Sur de Filipinas, para describir a la fruta infectada, la cual se descolora y se endurece aún madura. Esta enfermedad es producida por la bacteria *Pseudomonas sonalacearum* E.F. Smith, la cual se puede aislar de la sustancia lechosa que exudan las brácteas desprendidas de las inflorescencias masculinas infectadas.

La bacteria es un bastoncillo Gram-negativo, aeróbio, positivo a la catalasa, el cual produce sulfuro de hidrógeno de la cisteína y origina una respuesta hipersensitiva sobre el tabaco "White Burley".

Los síntomas externos de la enfermedad de bugtok se observan únicamente en las plantas teniendo todavía una inflorescencia masculina. En las plantas infectadas, las brácteas masculinas viejas no son dehiscentes, dando así una apariencia seca y floja.

1.2.6 Enfermedad de la Sigatoka negra.

La Raya Negra o Sigatoka Negra es considerada desde el punto de vista económico como la enfermedad foliar más importante del banano (*Musa AAA*) y el plátano (*Musa AAB*). Estos renglones agrícolas básicos en la alimentación humana como fuentes de carbohidratos, vitaminas y minerales, ocupan el 4° puesto a nivel mundial en volúmenes de producción y consumo después del arroz, el trigo y la leche.

El impacto de la Sigatoka negra ha sido devastador en las regiones plataneras de diversos países americanos. Cuando ocurre la primera epidemia de la enfermedad, se pueden presentar pérdidas de producción de fruta que oscilan entre un 50-100%, junto con una marcada reducción en la superficie dedicada al cultivo de este frutal.

1.2.7 SINTOMAS

En las hojas, la Sigatoka negra presenta diferentes fases de desarrollo de síntomas a través del tiempo. Los primeros inicios de la enfermedad se observan como pequeñas decoloraciones visibles en el envés de la hoja, que incluye un pequeño punto de color café rojizo dentro del área decolorada.

Posteriormente, estas decoloraciones se convierten en pizcas de color café rojizo y son visibles tanto en el haz como en el envés. Con el tiempo, las pizcas se convierten en estrías, las cuales aumentan su grosor y longitud, pero mantienen su color café rojizo. El primer síntoma en estado de mancha se presenta cuando la lesión cambia a un color café oscuro o negro, la cual después es rodeada de un halo amarillento. Finalmente, la mancha se deprime y se torna de color gris-blanco, observándose en ellas una gran cantidad de pequeños puntos que corresponden a los cuerpos fructíferos llamados peritecios. En ataques severos, estas manchas se unen y forman grandes áreas de tejido foliar afectado, llegando a necrosar completamente las hojas, lo cual ocasiona una reducción en el área foliar funcional. En huertos de plátano sin control químico, la Sigatoka negra causa una defoliación total de las plantas, ocasionando que la fruta madure prematuramente y el racimo sea abortado, lo que representa pérdidas en rendimiento entre un 50-100%.



Los síntomas de la Sigatoka negra varían en función del estado de desarrollo de la planta, de la variedad del hospedero y de la severidad del ataque. En plantas jóvenes las lesiones son anormalmente grandes, ovales a circulares. En condiciones desfavorables los síntomas pueden confundirse con los de la Sigatoka Común o amarilla por presentar manchas relativamente aisladas.

En variedades susceptibles, la Sigatoka Negra se reconoce por la gran cantidad de rayas o estrías y manchas definidas de color café negro que pueden cubrir el área foliar desde la tercera hoja más joven hacia abajo. Normalmente la enfermedad evoluciona a través de seis estados con las siguientes características:

Estado 1. Pequeñas decoloraciones menores de 1 mm de longitud de color blanco-amarillento, visibles sólo en el envés de la hoja. (Anexo 4)

Estado 2. Rayas de 2-3 mm de longitud de color café rojizo, visibles primero en el envés y luego en el haz donde varían de color amarillo a café y negro. Conservan el color café rojizo sólo en el envés. En este estado se inicia la formación de conidios, cuya producción se prolonga hasta la iniciación del estado seis. (Anexo 5)

Estado 3. Las rayas o estrías se alargan y amplían dando la impresión de haber sido pintadas con pincel. En ocasiones desfavorables pueden alcanzar de 2 a 3 cm de longitud. (Anexo 6)

Estado 4. Manchas ovales de color café en el envés y negro en el haz. (Anexo 7)

Estado 5. Manchas negras rodeadas de un halo amarillento y centro semihundido. (Anexo 8)

Estado 6. (Anexo 9 y 10)

1.2.8 Distribución de la Sigatoka negra

En el Continente americano la enfermedad se registró por primera vez en Honduras en 1972. En los años siguientes de la década del 70 alcanzó proporciones epidémicas en los restantes países centroamericanos. En Colombia se conoce desde 1981 cuando se detectó por primera vez en la zona de Urabá. Desde entonces se ha venido diseminando a lo largo y ancho de la geografía nacional.

1.3 AGENTE CAUSAL DE LA SIGATOKA NEGRA.

La Sigatoka negra es causada por el hongo patógeno *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, la cual se propaga a través de dos clases de semillas o esporas de tamaño microscópico conocidas como conidios y ascosporas. A estas semillas causantes de la enfermedad también se les da el nombre de inóculo. Los conidios o esporas asexuales se forman en el ápice de los talos (conidióforos) del hongo que se producen en las manchas o lesiones



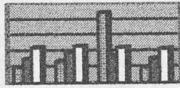
jóvenes típicas de la enfermedad. Los conidios se desprenden de los conidióforos por acción del agua y/o viento. (Anexo 11)

Las ascosporas o esporas sexuales se forman más tarde en las manchas adultas de color blanco grisáceo especialmente en las hojas muertas o necrosadas. Estas semillas antes de ser expulsadas a la atmósfera permanecen dentro de unos sacos llamados ascas, en el interior de una especie de frascos conocidos como peritecios, los cuales se pueden observar en las manchas como puntos negros apenas visibles a simple vista.

1.4 MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DE LA SIGATOKA NEGRA.

Entre los diferentes métodos biotecnológicos que el C.I.B.E. utiliza para combatir la enfermedad de la Sigatoka negra en el cultivo de banano, tenemos los siguientes:

- Estudio Inmunoquímico del origen proteico de las toxinas de *Micosphaerella fijiensis*, para su diferenciación, identificación; mediante la aplicación de técnicas electroforéticas de SDS-PAGE y otras que resulten de la experimentación
- Estudio del genoma de *Micosphaerella fijiensis*, mediante la extracción de su DNA.
- Estudio y caracterización del genoma Celular: Nuclear, Cloroplasto y Mitocondrias.
- Micropropagación *in vitro* a partir de callos o suspensiones celulares.
- Estudio fisiológico del hongo *Micosphaerella fijiensis*, mediante estudio fitopatológico.
- Bioestadística aplicada para el diseño de experimentos, y ensayos a realizarse en las diferentes áreas de investigación, así como el procesamiento de datos, interpretación de los resultados.



1.5 APLICACIÓN DE LA BIOESTADÍSTICA COMO UNA HERRAMIENTA FUNDAMENTAL.

El término estadística no es nuevo. La Estadística debió comenzar como una aritmética estatal para asistir al gobernante que deseaba conocer la riqueza y el número de sus súbditos con el objeto de recaudar impuestos o presupuestar la guerra. Es de presumir que todas las culturas que intencionalmente registraron su historia, también registraron sus estadísticas.

DEFINICIÓN.- la Estadística es la ciencia de la recopilación, clasificación, presentación e interpretación de los datos.

A continuación una definición más específica:

La Estadística es la ciencia pura y aplicada que crea, desarrolla y aplica técnicas de modo que pueda evaluarse la incertidumbre de inferencias inductivas.

Para la mayoría de los científicos, la estadística es lógica ó sentido común con un fuerte ingrediente de procedimientos aritméticos.

La lógica proporciona el método mediante el cual se deben recolectar los datos y determinar cuánto se debe abarcar; la aritmética junto con ciertas tablas numéricas; produce el material sobre el cual se basa la inferencia y se mide la incertidumbre (Steel-Torrie, 1988).

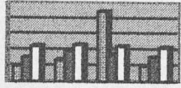
La aplicación del razonamiento inductivo, en principio nos indica ir “de lo particular a lo general”. El siguiente ejemplo, requiere del razonamiento inductivo:

Dados diversos tipos de una especie de mala hierba no descrita, ¿Cómo podríamos describir a la especie como un todo y expresar su relación con otras especies en una clave?. Por regla general, las observaciones se realizan bajo condiciones controladas. Los factores objeto de estudio se hacen variar en alguna forma sistemática, mediante la aplicación de tratamientos.

1.5.1 PROPÓSITO DE LA ESTADÍSTICA

Suministrar una base objetiva para el análisis de problemas en los que los datos se apartan de las leyes de la causalidad.

Utilizar el razonamiento inductivo en la investigación científica, comprendiendo sus principios, que sean aplicables en las ciencias de investigación agrícolas, sociales, científicas, biológicas entre otras



1.5.2 CONCEPTOS BÁSICOS

Estadístico.- describe aspectos de la muestra, es variable puesto que depende de los elementos de la muestra que se toma.

Parámetro .- describe aspectos de la población, es constante.

Variable .- son características que presentan variabilidad ó variación.

Las variables se dividen en :

Variables cuantitativas .- son aquellas que son medibles y se subdividen en :

Variables discretas.- toman valores enteros., por ejemplo el número de personas en un lugar.

Variables continuas.- se encuentran dentro de rangos muy distantes y pueden ser números enteros y fraccionarios, por ejemplo el peso, la temperatura, el tamaño de una planta.

Variables cualitativas .- denotan características no medibles, por ejemplo el color del tallo ó pseudotallo de una determinada especie de planta, en este caso se deberá establecer una escala con los colores que se presentan, asignándoles números para codificarlos y de esta manera obtener datos numéricos para su evaluación.

CAPITULO # 2:

CONDUCTIMETRÍA

2.1 ¿ QUÉ ES LA CONDUCTIVIDAD?

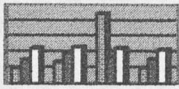
La conductividad es definida como la habilidad de una sustancia para conducir la corriente eléctrica.

- Es el recíproco del término **Resistividad**.
- Todas las sustancias poseen conductividad en algún grado.

2.2 UNIDADES DE CONDUCTIVIDAD

- La unidad básica de la resistencia es el **ohm**.
- Conductancia es el recíproco de la Resistencia, y su unidad básica es el **siemens** formalmente llamado **mho**.
- Conductancia específica es equivalente a la conductividad

BIB
ESQUE



2.3 CONVERSIONES

CONDUCTIVIDAD / RESISTIVIDAD

CONDUCTIVIDAD(micromhos-cm)	RESISTIVIDAD	SOLIDOS DISUELTOS(PPM)
0,56	18.000.000,00	0,03
0,08	12.000.000,00	0,04
0,17	6.000.000,00	0,08
1,00	1.000.000,00	0,50
2,50	400.000,00	1,25
20,00	50.000,00	10,00
200,00	5.000,00	100,00

2.4 REACCIONES DE ELECTRODO

En la superficie de un electrodo finaliza la conducción iónica y empieza la conducción electrónica. Cuando los electrones fluyen hacia el exterior desde la superficie, deben producirse en una reacción química, y cuando llegan a la superficie desde el exterior, deben consumirse.

2.5 TRANSPORTE

Aunque los iones positivos y negativos se descargan en cantidades equivalentes en los electrodos, no es necesario que estos iones se muevan con velocidades idénticas hacia el ánodo y el cátodo, bajo la influencia de la fuerza electromotriz aplicada.

En 1853, el alemán HITTORF encontró que la velocidad relativa de los iones durante la electrólisis, se determina por los cambios de concentración que se producen alrededor de los electrodos.

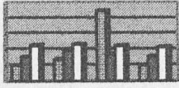
La conductividad eléctrica de una solución de un determinado soluto, depende de los factores: el número de iones y las velocidades de los iones.

Cuando una corriente atraviesa una solución, los cationes se mueven hacia el cátodo y los aniones hacia el ánodo.

En la superficie de cada electrodo tienen lugar reacciones que consumen ciertos iones y producen otros.

Por tanto, el electrolito se concentra cerca de un electrodo y se diluye en las proximidades del otro.

Decimos entonces que tiene lugar un transporte o transferencia de electrolito.



2.6 CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA CITOPLASMÁTICA.

2.6.1 CONCEPTO:

La membrana plasmática es la barrera con permeabilidad selectiva que envuelve al citoplasma y lo separa del entorno, tiene una estructura elástica, flexible, muy fina con un espesor de alrededor de 70 a 100 Angstroms, presentando una permeabilidad selectiva.

Su estructura básica está constituida por una capa lipídica, que forma una fina película donde se encuentran grandes moléculas de proteínas.

Las proteínas atraviesan totalmente la capa bimolecular de lípidos, los cuales se constituyen en pasantes a través de los cuales se puede difundir agua y otras sustancias hidrosolubles, para dentro o para fuera de la célula. Esos pasantes por presentar carga eléctrica posibilitan también el paso de iones.

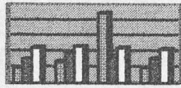
2.6.2 FUNCIÓN

La membrana tiene doble función

1. Regular la entrada y salida de sustancias e iones de la célula
2. Proteger el contenido celular, estableciendo una barrera entre el medio externo e interno, que permite al medio interno, presentar una constitución propia.

2.6.3 PROCESOS DE TRANSPORTE

- **TRANSPORTE PASIVO:** Envuelve los procesos de difusión, difusión facilitada y osmosis. Estos procesos que se desenvuelven sin gasto de energía.
- **DIFUSIÓN:** Las moléculas y/o iones de una solución están en constante movimiento y el choque constante entre ellas posibilita la dispersión de las mismas, de regiones de mayor concentración a regiones de menor concentración, hasta que las concentraciones se igualen. Así, cuando una célula es colocada en un medio rico de determinado soluto, al cual la membrana plasmática es permeable, luego aparecerá en el interior de ella moléculas de ese soluto. Esta difusión puede ser por dos formas: solubilización de la matriz lipídica y difusión a través de poros que atraviesan la membrana.



En el primer caso, las moléculas son sustancias liposolubles y su difusión es rápida a través de la capa de lípidos. Entre las sustancias están el O₂ o CO₂ y los ácidos grasos. De la misma forma, sustancias liposolubles como el alcohol, éter o cloroformo pasan rápidamente a través de la membrana.

En el segundo caso, cuanto menor es el tamaño de la partícula, más rápido será la difusión a través de los poros. Aquí también se presenta la influencia de presencia de carga eléctrica. Actualmente se acredita que los "poros" son probablemente, espacios de la propia estructura de moléculas proteicas entre moléculas que atraviesan la membrana, con cerca de 8 Angstroms de diámetro. Los diferentes poros de la membrana plasmática son revestidos por cargas positivas o negativas, que impediría o facilitaría el paso de los iones. Poros negativos permiten el paso de iones positivos (cationes), e impedirían el de los negativos (aniones). Lo mismo pasará con los poros positivos. Las sustancias sin carga eléctrica y diámetro inferior al de los poros pasarán con relativa facilidad a través de los espacios de proteínas que constituyen las membranas.

Es importante resaltar que el aumento de temperatura, aumenta la energía cinética de las moléculas, aumentando su movimiento y por tanto la difusión.

• DIFUSIÓN FACILITADA

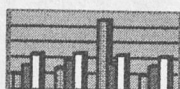
Algunas sustancias tienen tamaño superior a los 8 Angstroms, lo cual impide el paso a través de los poros. Son sustancias no solubles en lípidos. Estas sustancias a través de la membrana, por transporte pasivo, contando para esto, con el trabajo de las proteínas transportadoras.

CAPITULO # 3:

METODOLOGÍA PARA MEDIR CONDUCTIMETRÍA

3.1 Materiales

- 14 muestras de tercera hojas de banano, variedad Williams.
- 60 tubos de ensayo (vidrio), capacidad 15 ml
- 2 pipetas
- 1 pinza pequeña
- 1 perforadora
- 2 soportes de tubos, 30 u.
- Mandil



3.2 Reactivos

- 2 Lt de agua deionizada
- K Cl 0.1 N

3.3 Equipos

- Conductímetro
- Peachímetro

3.4 Métodos

Bioensayo #1

PROCEDIMIENTO DEL EXPERIMENTO PARA ESTANDARIZAR LA TOMA DE DATOS DE CONDUCTIVIDAD.

1. Crear una línea de base. Tomar tercera o cuarta hojas de 14 plantas jóvenes sanas, de la misma variedad (Williams) y cortar discos.
2. Tomar un tamaño de muestra de 60 (pequeños discos), trabajando con un nivel de confianza de 0,99 y un error máximo permisible de 4 %.
3. Colocar los discos de las hojas en 10 ml de agua desionizada o bidestilada en cada tubo de ensayo, y medir el ph y la conductividad cada 30 minutos, 1h, 2h,3h,4h.
4. Enjuagar los discos tres veces y cambiar el medio acuoso por agua fresca desionizada y medir el valor del ph y la conductividad a los 30 minutos, 1h y 1,5h
5. Este procedimiento debe ser realizado para plantas altamente resistentes, medianamente resistentes y susceptibles.
6. Utilizaremos este procedimiento como una de las herramientas en el estudio de los tipos de enlace hongo-membrana, toxina-membrana.

Los resultados de análisis de conductividad biológica se correlacionará tantos los obtenidos en los experimentos bajo condiciones de campo y condiciones de laboratorio.



3.5 Lavado de la cristalería

PREPARACIÓN DE LA MEZCLA SULFOCRÓMICA

FUNDAMENTO:

La mezcla sulfocrómica, al hacer contacto con las paredes de la cristalería nueva, que contiene restos de sílice, los elimina, por acción removedora fuerte del ácido sulfúrico y del Dicromato de potasio, sobre la superficie rugosa y alcalina producida por los restos de sílice en las paredes.

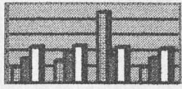
METODOLOGÍA:

Preparación para 1 L de mezcla.

- Pesar 30 g de dicromato de potasio.
- Diluir en 200 mL de agua destilada. Disolver el Dicromato de potasio, y agitar con calor hasta que no existan partículas suspendidas (traslúcido).
- Enrazar a 1 L, vertiendo el ácido sulfúrico concentrado (97%) lentamente, enfriar en chorro de agua

MATERIALES:

- 1 fiola de capacidad 1000 ml
- 1 fiola de 100 ml
- 1 espátula
- 1 pera
- 2 pipetas de 10 ml
- 1 mascarilla de ojos
- mandil



REACTIVOS:

- Dicromato de potasio
- Acido sulfúrico concentrado al 97%
- Agua destilada

PREPARACIÓN DE REACTIVOS:

- Se pesa la cantidad requerida 30 g de Dicromato de potasio.
- El ácido sulfúrico debe verterlo con cuidado y con chorro de agua ligero, ya que al tener contacto con el agua provoca una reacción exotérmica por lo cual se debe realizar con extremo cuidado.

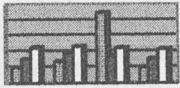
MEZCLA ACETOALCOHÓLICA

FUNDAMENTO:

Se utiliza para eliminar residuos de granulos de hidróxido, y nata blanquecina, que puede aparecer en las paredes de la cristalería. Se usa esta mezcla en lugar de la sulfocrómica cuando su uso se extralimita, debido a que los reactivos de esta última son extremadamente caros y no rentables para la Empresa.

PROCEDIMIENTO:

- Pesar 120 g de Na OH o de K OH
- Disolver en 880 ml de agua destilada
- Añadir 9 L de alcohol etílico de grado comercial.
- La mezcla se vierte, en la cristalería, durante 10 minutos de tal forma que toda la superficie del recipiente sea cubierta con la mezcla
- Luego se saca de los recipientes y se enjuaga con agua de la llave, bajo presión fuerte del agua (40 psi) y con la ayuda de los izopos se eliminan los granulos de hidróxido y de nata blanca.
- La cristalería se enjuaga con el agua de la llave, no menos de 10 veces, más 2 veces de enjuague con agua destilada.



MATERIALES:

- Espátula
- Fiola de 1000 ml u 800 ml
- Beaker de 100 ml
- Balanza gramera.

REACTIVOS :

- Hidróxido de sodio o hidróxido de potasio.
- Alcohol etílico de grado comercial.
- Agua destilada.

Preparación de reactivos:

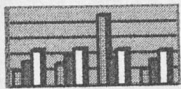
- Se pesan las sustancias como el Hidróxido de potasio o de sodio, en las cantidades requeridas.
- Se colocan en agua destilada para su disolución.
- Añade alcohol etílico de grado comercial.
- Obtención de una mezcla lista, para ser utilizada en el lavado de cristalería.

3.6 Antecedentes bibliográficos.

Bioensayo conductimétrico.-

Resistencia a la enfermedad del eyespot, fue evaluada por la examinación del efecto de la toxina DS fúngica sobre la permeabilidad celular, de acuerdo al método descrito por Ramos Leal et al. (1989). Las muestras de discos de hojas pesaban 50 mg, fueron cogidas muestras de hojas de distintas variedades de plantas y somaclonales, bajo condiciones de campo, e incubadas durante 2 horas con 0.3 ml de toxinas de difernetes aislados. Luego de la incubación, los discos fueron lavados 3 veces e incubados en 10 ml de agua deionizada. El ensayo de conductimetría basado en el daño causado por la toxona DS a la permeabilidad de la membrana celular, fue cuantificado luego de 6 horas, usando el método descrito por Rmos Leal et al. (1989).

Tomado como referencia del Bioensayo Conductimétrico del *Abstract Somaclonal variation as a source of resistance to eyespot disease of sugarcane por Ramos Leal et al. (1994).* (Anexo 12)



3.7 Bioensayo # 2:

METODOLOGÍA PARA MEDIR CONDUCTIMETRÍA: INTERACCIÓN HONGO-MEMBRANA

3.7.1 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL

Mediante la siguiente fórmula:

$$n = Z^2 * p * q / e^2$$

Donde :

Z (en función del nivel de confianza)= 0.908

e (error máximo permisible) = 7%

p (probabilidad de éxito) = 0.99

q (probabilidad de fracaso) = 0.01

$$n = 16 \text{ hojas}$$

Materiales:

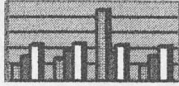
- 14 muestras de tercera hojas de banano, variedad Williams.
- 60 tubos de ensayo (vidrio), capacidad 15 ml
- 2 pisetas
- 1 pinza pequeña
- 1 perforadora
- 2 soportes de tubos, 30 u.
- Mandil

3.8 Reactivos

- 2 Lt de agua destilada
- K Cl 0.1 N

3.9 Equipos

- Conductímetro
- Peachímetro
- Zarandas
- Autoclave horizontal
- Incubadora de 37 °C



3.10 Procedimiento:

- Recolección de n tamaño de muestras de plantas de banano que posean todos los estadios de la enfermedad, en campo que provengan de la misma variedad.
- Lavado de las hojas en el envés y revés, con agua del grifo.
- Lavado de las hojas en el envés y el revés, con agua destilada o deionizada.
- Tomar discos de 0.5 cm de la hoja infectada con Sigatoka negra.
- Colocar los discos en tubos de ensayos con 5 ml de agua destilada.
- Macerar por una hora, los discos de las hojas, durante dos horas, cuatro horas, etc, dependiendo de los diseños experimentales.
- Manténgale en agitación por 48 horas (100 rpm)
- Filtrar por miliporo (0.22 um). Controles de hoja con agua, sin inoculación, hoja calentada por 20 minutos a 120 °C.
- Determinar la Conductividad total (Ct) a una muestra de hoja sana procesada como las anteriores y sometida a 120 °C por 15 minutos.

HOJA CALENTADA = Ct

I = Integridad

$$I = (1 - C/Ct) * 100$$

$$\text{Mortalidad} = 100 - I$$

- Calcular el porcentaje de afectación según;

Donde ;

Cm = muestra

Cb= blanco (tejido sano)

Ct= total

$$\% A = (Cm - Cb) / (Ct - Cb) * 100$$



3.10 RESULTADOS DE UN PEQUEÑO ENSAYO

n = 5 muestras

- Experimento realizado por idea de el Dr. Martínez (14 de Junio del 2000).
- Condiciones : Temperatura 24.3° C

3.10.1 MUESTRAS PROBADAS

- 1) HALO CLORÓTICO, MANCHA GRADO 4
- 2) CENTRO CLORÓTICO, MANCHA GRADO 4
- 3) MANCHA GRADO 6
- 4) BLANCO
- 5) MATERIAL APARENTEMENTE NO AFECTADO

- Las medidas de Conductividad fueron las siguientes:

1. 11.93 uS
2. 12.10 uS
3. 14.53 uS
4. 7.59 uS
5. 30.50 uS.

Estos resultados reflejan la diferencia significativa presente en las muestras anteriormente mencionadas. Mediante estos resultados se confirmó la idea del Dr. Martínez respecto a las diferentes estadios de la enfermedad, puesto que cada uno produce un efecto gradual de toda la enfermedad por tanto la conductividad aumenta, ha medida que el estadio es mas grande, debido a las lesiones provocadas por *Micosphaerella fijiensis* en los tejidos de las plantas de banano, especialmente actúan sobre los estomas.



CAPÍTULO # 4:

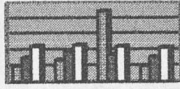
RESULTADOS

4.1 Análisis estadísticos de los ensayos.

Muestra blanco (agua deionizada) = 0.98 uS/cm

Muestra	1 hora	2 horas
1	3,06	4,62
1	3,93	7,28
1	4,11	7,43
1	3,29	5,35
2	2,78	4,14
2	3,61	5,36
2	2,81	4,04
2	3,88	4,89
3	2,29	3,91
3	2,03	2,69
3	3,86	4,93
3	4,43	5,89
4	2,5	3,69
4	3,06	4,7
4	4,09	5,23
4	3,6	4,97
5	4,63	6,09
5	2,34	3,28
5	2,93	3,54
5	3,64	4,43
6	3,82	4,78
6	4,01	4,74
6	4,21	5,32
6	2,91	3,61

7	2,38	3,52
7	2,84	3,47
7	5,52	6,58
7	2,12	2,84
8	2,31	3,54
8	2,72	3,72
8	2,23	3,77
8	3,06	4,36
9	6,84	8,27
9	2,69	4,53
9	2,77	3,91
9	3,8	6,42
10	5,09	6,61
10	2,38	3,22
10	5,16	8,27
10	1,61	2,55
11	3,48	5,1
11	3,25	5,15
11	3,38	4,18
11	3,37	4,15
12	4,36	5,64
12	2,88	3,86
12	4,49	5,88
12	2,81	3,63
12	2,79	3,9



Prácticas Profesionales

13	3,32	5,26	14	3,18	5,7
13	4,81	6,7	14	3,51	5,55
13	3,52	4,5	14	3,19	6,29
13	3,18	5,3	14	3,81	6,06
13	3,96	4,83			

Estadística Descriptiva

UNA HORA

Muestras	N	MEDIA	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media	Minimum	Maximum
					Límite inferior	Límite superior	
1,00	4	3,5975	,5022	,2511	2,7984	4,3966	3,06 4,11
2,00	4	3,2700	,5596	,2798	2,3796	4,1604	2,78 3,88
3,00	4	3,1525	1,1742	,5871	1,2840	5,0210	2,03 4,43
4,00	4	3,3125	,6858	,3429	2,2212	4,4038	2,50 4,09
5,00	4	3,3850	,9856	,4928	1,8167	4,9533	2,34 4,63
6,00	4	3,7375	,5742	,2871	2,8238	4,6512	2,91 4,21
7,00	4	3,2150	1,5652	,7826	,7244	5,7056	2,12 5,52
8,00	4	2,5800	,3853	,1927	1,9669	3,1931	2,23 3,06
9,00	4	4,0250	1,9435	,9718	,9324	7,1176	2,69 6,84
10,00	4	3,5600	1,8345	,9172	,6410	6,4790	1,61 5,16
11,00	4	3,3700	9,416E-02	4,708E-02	3,2202	3,5198	3,25 3,48
12,00	5	3,4660	,8773	,3923	2,3767	4,5553	2,79 4,49
13,00	5	3,7580	,6577	,2941	2,9414	4,5746	3,18 4,81
14,00	4	3,4225	,3004	,1502	2,9445	3,9005	3,18 3,81
Total	58	3,4247	,9510	,1249	3,1746	3,6747	1,61 6,84

Test de Homogeneidad de varianzas

UNAHORA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,415	13	44	,000

BIBLIOTECA DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



ANOVA

UNAHORA

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	6,080	13	,468	,453	,939
Dentro de los grupos	45,476	44	1,034		
Total	51,556	57			

Estadística Descriptiva

2horas

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Minimo	Maximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	4	6,1700	1,4017	,7009	3,9395	8,4005	4,62	7,43
2,00	4	4,6075	,6289	,3145	3,6067	5,6083	4,04	5,36
3,00	4	4,3550	1,3732	,6866	2,1699	6,5401	2,69	5,89
4,00	4	4,6475	,6740	,3370	3,5750	5,7200	3,69	5,23
5,00	4	4,3350	1,2694	,6347	2,3151	6,3549	3,28	6,09
6,00	4	4,6125	,7188	,3594	3,4688	5,7562	3,61	5,32
7,00	4	4,1025	1,6804	,8402	1,4286	6,7764	2,84	6,58
8,00	4	3,8475	,3557	,1778	3,2816	4,4134	3,54	4,36
9,00	4	5,7825	1,9722	,9861	2,6442	8,9208	3,91	8,27
10,00	4	5,1625	2,7295	1,3647	,8193	9,5057	2,55	8,27
11,00	4	4,6450	,5548	,2774	3,7622	5,5278	4,15	5,15
12,00	5	4,5820	1,0836	,4846	3,2365	5,9275	3,63	5,88
13,00	5	5,3180	,8398	,3756	4,2753	6,3607	4,50	6,70
14,00	4	5,9000	,3367	,1684	5,3642	6,4358	5,55	6,29
Total	58	4,8650	1,3107	,1721	4,5204	5,2096	2,55	8,27

Test of Homogeneity of Variances

2 horas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,880	13	44	,000



ANOVA

2horas

	Sum of Cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	25,779	13	1,983	1,210	,305
Dentro de los grupos	72,137	44	1,639		
Total	97,915	57			

SEGUNDO ENSAYO :

Estadística Descriptiva

UNAHORA

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Minimo	Maximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	4	3,4325	,5022	,2511	2,6335	4,2315	3,06	4,17
2,00	4	3,7600	,4031	,2015	3,1186	4,4014	3,49	4,36
3,00	4	5,7400	2,2892	1,1446	2,0973	9,3827	3,32	7,72
4,00	4	3,5400	4,243E-02	2,121E-02	3,4725	3,6075	3,50	3,59
5,00	4	4,0300	,3087	,1543	3,5389	4,5211	3,70	4,37
6,00	4	3,4875	,1315	6,575E-02	3,2783	3,6967	3,39	3,68
7,00	4	3,6950	,2181	,1090	3,3480	4,0420	3,51	4,01
8,00	4	3,3125	,1493	7,465E-02	3,0749	3,5501	3,21	3,53
9,00	4	3,8525	,2697	,1349	3,4233	4,2817	3,52	4,18
10,00	4	3,3100	,2232	,1116	2,9549	3,6651	3,03	3,57
11,00	4	3,6075	,1873	9,366E-02	3,3094	3,9056	3,42	3,85
12,00	5	4,2480	,4908	,2195	3,6385	4,8575	3,78	4,80
13,00	5	3,7400	,2347	,1050	3,4485	4,0315	3,51	4,11
14,00	4	3,4548	,2835	,1418	3,0036	3,9059	3,11	3,72
Total	58	3,8074	,8325	,1093	3,5885	4,0263	3,03	7,72

BIBLIOTECA DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



Test de Homogeneidad de varianzas

UNAHORA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
33,951	13	44	,000

ANOVA

UNAHORA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	20,083	13	1,545	3,501	,001
Dentro de los grupos	19,417	44	,441		
Total	39,500	57			

Descriptives

CUATROHO

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Minimo	Maximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	4	3,2350	,6983	,3491	2,1239	4,3461	2,77	4,27
2,00	4	4,0925	,8752	,4376	2,6998	5,4852	3,37	5,23
3,00	4	5,6250	2,3388	1,1694	1,9035	9,3465	3,90	9,08
4,00	4	3,5425	,1896	9,481E-02	3,2408	3,8442	3,39	3,80
5,00	4	4,9550	,6253	,3126	3,9601	5,9499	4,40	5,85
6,00	4	4,2225	1,0464	,5232	2,5574	5,8876	3,52	5,78
7,00	4	4,4500	,3909	,1954	3,8280	5,0720	3,93	4,83
8,00	4	3,3025	,1754	8,769E-02	3,0234	3,5816	3,15	3,53
9,00	4	3,9775	,4813	,2407	3,2116	4,7434	3,49	4,64
10,00	4	3,1325	,3603	,1802	2,5592	3,7058	2,62	3,44
11,00	4	3,6500	,1349	6,745E-02	3,4353	3,8647	3,51	3,83
12,00	5	4,7400	,6845	,3061	3,8901	5,5899	3,97	5,83
13,00	5	3,9900	,2956	,1322	3,6229	4,3571	3,61	4,30
14,00	4	3,4475	,5684	,2842	2,5430	4,3520	2,85	4,09
Total	58	4,0376	1,0033	,1317	3,7738	4,3014	2,62	9,08



Test de Homogeneidad

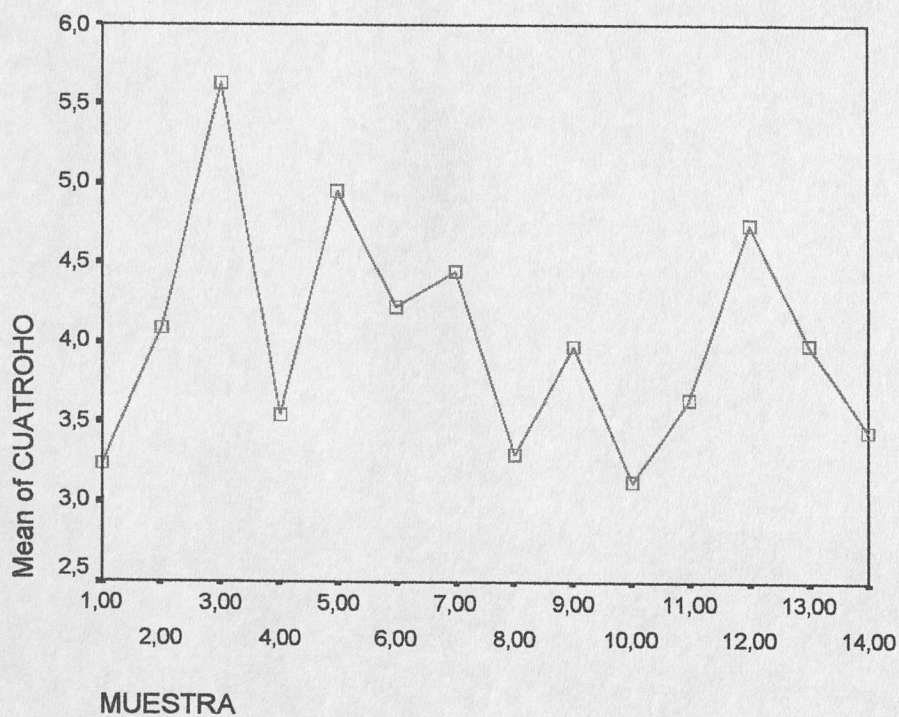
CUATROHO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,777	13	44	,000

ANOVA

CUATROHO

	Suma de cuadrados	df	Media de los cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	27,757	13	2,135	3,172	,002
Dentro de grupos	29,618	44	,673		
Total	57,375	57			



BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



Estadística descriptiva

VEINTEHO

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Minimo	Maximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	4	4,6900	1,8453	,9226	1,7538	7,6262	2,97	7,11
2,00	4	4,6525	,7506	,3753	3,4581	5,8469	4,02	5,64
3,00	4	6,6425	1,6931	,8465	3,9485	9,3365	5,70	9,18
4,00	4	4,6925	1,1394	,5697	2,8795	6,5055	3,60	6,02
5,00	4	7,6475	1,2577	,6288	5,6463	9,6487	5,97	8,78
6,00	4	5,8750	1,8880	,9440	2,8707	8,8793	4,44	8,65
7,00	4	5,4775	,5903	,2952	4,5382	6,4168	4,78	6,19
8,00	4	4,2600	,7219	,3609	3,1113	5,4087	3,82	5,33
9,00	4	4,4225	,4833	,2417	3,6534	5,1916	3,82	5,00
10,00	4	3,6425	,4687	,2344	2,8967	4,3883	2,98	4,07
11,00	4	4,4450	,8274	,4137	3,1284	5,7616	3,77	5,62
12,00	5	5,4920	,5001	,2237	4,8710	6,1130	5,02	6,22
13,00	5	5,5360	,5395	,2413	4,8662	6,2058	5,08	6,41
14,00	4	4,0475	,8940	,4470	2,6249	5,4701	3,05	4,88
Total	58	5,1228	1,4018	,1841	4,7542	5,4913	2,97	9,18

Test de Homogeneidad de varianzas

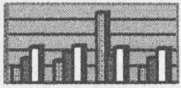
VEINTEHO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,372	13	44	,017

ANOVA

VEINTEHO

	Suma de cuadrados	df	Media de cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	61,578	13	4,737	4,133	,000
Dentro de los grupos	50,423	44	1,146		
Total	112,001	57			



Estadística descriptiva

	N	Minimo	Maximo	Media	Desviación estándar	Varianza
UNAHORA	58	3,03	7,72	3,8074	,8325	,693
Valid N	58					

Estadística descriptiva

	N	Minimo	Maximo	Media	Desviación estándar	Varianza
CUATROHO	58	2,62	9,08	4,0376	1,0033	1,007
Valid N	58					

Estadística descriptiva

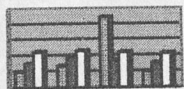
	N	Minimo	Maximo	Media	Desviación estándar	Varianza
VEINTEHO	58	2,97	9,18	5,1228	1,4018	1,965
Valid N	58					

Estadística de grupos

	VAR00002	N	Media	Desviación estándar	Error estándar
UNAHORA	1,00	57	3,8089	,8398	,1112
	2,00	58	4,0376	1,0033	,1317

Muestras estadísticas pareadas

		Media	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Par 1	CUATROHO	4,0376	58	1,0033	,1317
	VEINTEHO	5,1228	58	1,4018	,1841



Correlación de pares muestrales

		N	Correlacion	Sig.
Pair 1	CUATRO O & VEINTE O	58	,760	,000

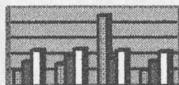
Test de pares muestrales

	Diferencias de pares					t	df	Sig. (2-tailed)
	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	95% Intervalo de confianza de la diferencia				
				Mas bajo	Mas bajo			
Par 1	-1,0852	,9133	,1199	-1,3253	-,8450	-9,049	57	,000

Muestras estadísticas pareadas

		Media	N	Desviación estándar	Error estándar de la media
Par 1	UNAHORA	3,8074	58	,8325	,1093
	CUATRO O	4,0376	58	1,0033	,1317

BIBLIOTECA
 DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



Test de las muestras pareadas

		Diferencias de las muestras pareadas					t	df	Sig. (2-tailed)
		Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	95% Intervalo de confianza de la diferencia				
					Mas bajo	Mas alto			
Par 1	UNAHOR A - CUATRO O	-,2302	,6773	8,893E-02	-,4083	-5,2104E-02	-2,588	57	,012

4.2 CONCLUSIONES RESPECTO A LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

ENSAYO # 1

Para realizar el análisis estadístico, es necesario tener en cuenta la distribución muestral del ensayo, por ello detallo a continuación:

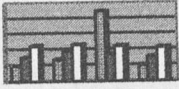
- Se procesaron 14 muestras de hojas de banano, y de cada una de las cuales se obtuvieron 4 unidades de discos (0,5cm) y en dos muestras 5 unidades muestrales.
- Todos los datos fueron procesados estadísticamente por un Programa computacional llamado SPSS.
- La variable a medir en este ensayo es la conductividad (uS/cm). Inicialmente se lo realiza por el lapso en horas (1 y 2 horas). El objetivo para el desarrollo de este ensayo es estandarizar el tiempo de maceración de las muestras, y que experimental y estadísticamente se pruebe que para el tiempo asignado las muestras posean la menor desviación estándar y la mayor homogeneidad de las medias intermuestralmente.
- Los principales análisis estadísticos que se aplicaron, fueron los de estadística descriptiva tales como el cálculo de media (medida de tendencia central), desviación estándar (medida de dispersión), el error estándar. Es importante señalar que las 14 muestras recolectadas siguen una Distribución normal, porque reúnen las mismas características en cuanto a la misma variedad (Williams), tercera hoja (funcional), hojas sanas.
- El intervalo de confianza aplicado es del 95%, porque se estima que el error típico disminuye cuando estandarizamos las condiciones para la recolección de las muestras, como se mencionó anteriormente.



- En lo que respecta a los resultados de la Estadística descriptiva para el tratamiento de 1 hora, la media total de todas las muestras tratadas nos muestra que existe homogeneidad en cuanto a los datos conductimétricos tomados puesto que la media es de 3.42, la desviación de los datos respecto de la media es muy baja con 0.95, encontrándose los datos de esta manera en un rango muy limitado de 3.17 como mínimo y como máximo 3.67 respecto al 95% del nivel de confianza, sobre el cual la estimación del error se calcula que es del 0.13. Con estos resultados decimos que los datos siguen una distribución normal y que las muestras son homogéneas, por lo cual nos sirven para continuar con el trabajo propuesto a posterior, ya que se necesitan estándares para comparar con las hojas sanas.
- La Hipótesis nula planteada es que las muestras son iguales, y la Hipótesis alternativa es que las muestras no son iguales.
- La prueba de Homogeneidad de varianzas para 1 hora (Prueba de Levene), está basada en las medias, las cuales sirven para probar la igualdad de varianzas de grupos, siendo altamente significativa para un $F = 4.415$, le corresponde un valor $p < 0.0005$ (SPSS); por lo cual podemos decir que no existe diferencia significativa en cuanto a las fuentes de variación debidas al tratamiento y debidas al error.
- La aplicación de la ANOVA (one way) dio como resultado, que no existe una alta significancia ya que corresponde al valor de $F = 0.453$ el cual indica que no existe una diferencia entre las medias analizadas, ya que corresponde a valores de $p > 0.0005$ (0.93).
- En lo que respecta al tratamiento a las 2 horas: El análisis de Estadística Descriptiva revela que los datos están más dispersos que los de 1 hora, puesto que la media es de 4.87 con límite superior de 4.52 y con un límite inferior de 5.21 y la desviación estándar corresponde a 1.31; por lo cual el rango de distribución de las muestras es más amplio que el tratamiento de 1 hora.
- La prueba de Homogeneidad de las varianzas para las 2 horas nos dice que el $F = 4.880$ el cual muestra que no existe diferencia significativa respecto a las fuentes de variación debidas al tratamiento y debidas al error.
- La aplicación del ANOVA, revela que no existe alta significancia puesto que para valores de $F = 1.210$ no existe una diferencia entre las medias analizadas, ya que corresponde a valores de $p > 0.0005$ (0.305).

SEGUNDO ENSAYO

- El segundo ensayo, fue realizado por 1 hora, 4 horas, 20 horas. El análisis de estadística descriptiva nos dice que la desviación estándar de los datos a las diferentes horas aumentaba de una hora a otra por lo que los datos se dispersaban más rápidamente tanto es así que aumentó de 0.83 (1 hora) a 1.40 (20 horas). Si hay diferencias en cuanto a las medias de los distintos tratamientos, a pesar de haber demostrado que las muestras son de la misma

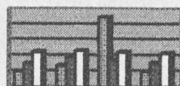


variedad y que no hay diferencia significativa entre las mediciones realizadas a 1 hora y las del día siguiente.

CONCLUSIONES ESTADISTICAS GENERALES

- Mediante el análisis de varianza para el primer y segundo ensayo quedo demostrado que las muestras son iguales en los distintos tratamientos .
- Por medio del análisis de varianza y comparación de medias quedó demostrado que las muestras de las hojas que permanecen varios días en el refrigerador, no nos sirven para medir la conductividad, porque varían en gran medida los datos conductimétricos.
- Se demuestra, que si hay diferencias entre las medias, a pesar de haber demostrado que las muestras son de la misma variedad y que no hay diferencia significativa entre 1 hora y el día siguiente por lo que se rechaza la Hipótesis nula la cual propone que las muestras son iguales en los distintos tiempos, esto es explicable puesto que todo el tejido citoplasmático se salió del medio intracelular de los discos de las hojas de banano.
- Para los posteriores ensayos no se podrá tomar este tipo de Procedimientos puesto que existe mucha variación de la conductimetría respecto al tiempo, ya que esto incrementa la dispersión de los datos y el error típico. Lo que se deberá tomar como referencia es la base del trabajo del pequeño ensayo descrito en la parte final del presente informe.

BIOTECNA
DE ESCUELAS TECNOLÓGICAS



CONCLUSIONES GENERALES

Mediante la realización de este informe, acerca de las Prácticas Profesionales, adquirí muchos conocimientos necesarios para establecer una base de aprendizaje para ser autocrítico de los ensayos experimentales realizados durante la labor de mis Prácticas en el C.I.B.E.; todo ello gracias a la enseñanza de quienes laboran en este centro investigativo, y que a más de ello tienen experiencia en el campo a desarrollarse.

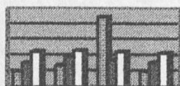
Las Prácticas Profesionales han sido un pilar fundamental para poner en práctica los conocimientos adquiridos durante los tres meses, de tal forma que se adquiere disciplina laboral, conocimientos, y se toman actitudes críticas con respecto a los trabajos realizados, e inclusive aprendí parte de los mecanismos de diferentes herramientas biotecnológicas aplicadas para combatir la Sigatoka negra en el cultivo de banano.

Durante estos tres meses de prácticas, aprendí a realizar toma de las muestras de hojas de banano en campo, tanto de sanas como de enfermas por Sigatoka negra con diferentes estadios; de tal forma que sean significativamente válidas para los objetivos investigativos que se persiguen; además de ello, adquirí hábitos de coordinación en la obtención de materiales, utensilios, equipos y demás cosas necesarias para comenzar un día de trabajo en el Laboratorio.

Como resultados generales en este estudio, el muestreo de las hojas de banano tanto sanas como enfermas se lo debe hacer el mismo día que se piensan procesar las muestras, puesto que la conductividad varía respecto al tiempo, lógicamente la célula elimina toda la máxima cantidad posible de electrolitos durante el tiempo de la maceración; por lo tanto antes de iniciar un experimento de este tipo se debe estandarizar la metodología mediante un pequeño ensayo en el Laboratorio antes de llevar a cabo la verdadera toma de datos experimentales.

Una experiencia muy grata, agitada e innovadora, ha sido la realización de mis Prácticas Profesionales, puesto que muchos conocimientos me fueron impartidos, sobre todo los estadísticos, aplicados para la determinación del tamaño muestral, con referencia a la toma de los datos conductimétricos de las hojas de banano; así como el procesamiento posterior de los mismos, mediante la utilización de un Programa computarizado especial llamado SPSS.

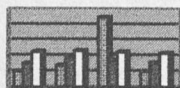
A mi consideración estas prácticas, constituyen un inicio del desarrollo profesional como tecnólogos, de lo que será a posterior nuestro trabajo, bien sea de Producción, Analista, Jefe de áreas, o Investigadores dedicados al servicio de nuestro País; mediante los conocimientos adquiridos durante los años de estudio en ESPOL-PROTAL (Programa de Tecnología de Alimentos).



RECOMENDACIONES

Las recomendaciones de mi informe están dirigidas a incentivar la búsqueda de mejoras en el nivel investigativo, así como la práctica, experimentación, inventiva, etc., que constituyen puntos clave para el desarrollo profesional.

- Durante mi estancia en el C.I.B.E., aprendí que el trabajo sin fundamentos no tienen justificación. Cada trabajo a realizar de forma experimental, requiere investigación, constancia e imaginación; estas dirigen las actividades para cumplir con los objetivos propuestos.
- Es recomendable antes de iniciar cualquier actividad experimental, establecer objetivos generales y específicos, luego estandarizar la metodología, materiales, equipos, reactivos necesarios, con el fin de que todo establecido con anticipación y no existan dificultades durante la práctica; solo así nos aseguraremos de obtener los resultados esperados.
- Es recomendable, trabajar con la segunda metodología utilizada para medir la conductimetría pues aplica principios y fundamentos comprobados mediante formulaciones; ya que la primera se utilizó para la estandarización de la toma de datos y las condiciones requeridas.
- Durante el tiempo que se trabaje en el Laboratorio, es recomendable la observación de las Buenas Prácticas de Laboratorio, puesto que la disciplina en el trabajo es de vital importancia para el cumplimiento de la labor trazada.
- Este tipo de Proyectos como lo es el Proyecto VLIR-ESPOL(Componente 3), nos comprometen al desarrollo del espíritu investigativo; por tanto yo recomiendo que los Dirigentes de los Programas busquen este tipo de convenios donde ofrezcan oportunidades a los estudiantes para contribuir con el desarrollo científico de nuestro País.



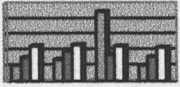
BIBLIOGRAFÍA

- Sarah, J. Pinochet y J. Stanton. Plagas de Musa - Hoja Divulgativa N° 1: El nemátodo Barrenador del banano *Radophulus similis* Cobb. Fuente INIBAP. Diciembre, 1996.
- Bridge Jhon, Roger Fogain, Paul Speijer. Hoja Divulgativa N° 2: Nemátodos lesionadores de los bananos. Fuente INIBAP. Noviembre 1997.
- Eden, J.S., Green. Enfermedades de Musa – Hoja Divulgativa N° 3: Mancha Rojiza del Pseudotallo del banano o “ Blood Disease”. Fuente INIBAP. Septiembre, 1994.
- Thomas, J.E., M-L. Iskra-Caruana y D.R. Jones. Enfermedades de Musa – Hoja Divulgativa N° 4: Enfermedad del Cogollo racemoso del banano. Fuente INIBAP. Diciembre, 1994.
- Moore. N.Y., S. Bentley, y K. G. Pegg, and D.R. Jones. *Musa* Disease Fact Sheet N° 5 : Fusarium Wilt of Banana. Fuente INIBAP. Junio, 1995.
- Soguilon. C.E., L.V. Magnaye y M.P. Natural. Hoja Divulgativa N° 6: Enfermedad “ Bugtok” en banano. Fuente INIBAP. Octubre, 1995.
- Velastegui, Ramiro. Jorge Chang. Grace de Cabanilla. Memoria del Seminario Internacional. Preparándonos para una lucha eficaz contra la Sigatoka negra en el Ecuador. Quito, Enero de 1992.
- Chang, Raymond. Química. Cuarta Edición. 1998.
- Babor, Joseph A. Química General y Moderna. Segunda Edición. 1994. Pág. 383-384.
- Gastón, Pons, Muzzo. FÍSQUIMICA. Tercera edición. 1975.
- G. H. Duffey. Química Física. Editorial Mc Graw Hill. 1965.
- Folleto del ICA – Instituto Colombiano Agropecuario. Sección Caldas. Diciembre 1996.
- Folleto del INIFAP – Instituto de investigaciones Forestales y Agropecuarias. Manejo integrado de la Sigatoka negra y el Plátano. 1998.
- Walpole, Myers. Probabilidad y Estadística para Ingenieros. Editorial Prentice Hall. Sexta edición. 1998.



ANEXOS

BI
BIBLIOTECA
ESCUELAS TECNOLÓGICAS



ANEXO 1



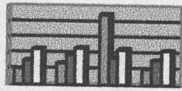
Laboratorio de Fitopatología (cajas petri con *Micosphaerella fijiensis*)

ANEXO 2



Laboratorio de Cultivo de Tejidos (zaranda con medios de cultivo in vitro)

Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.



ANEXO 3

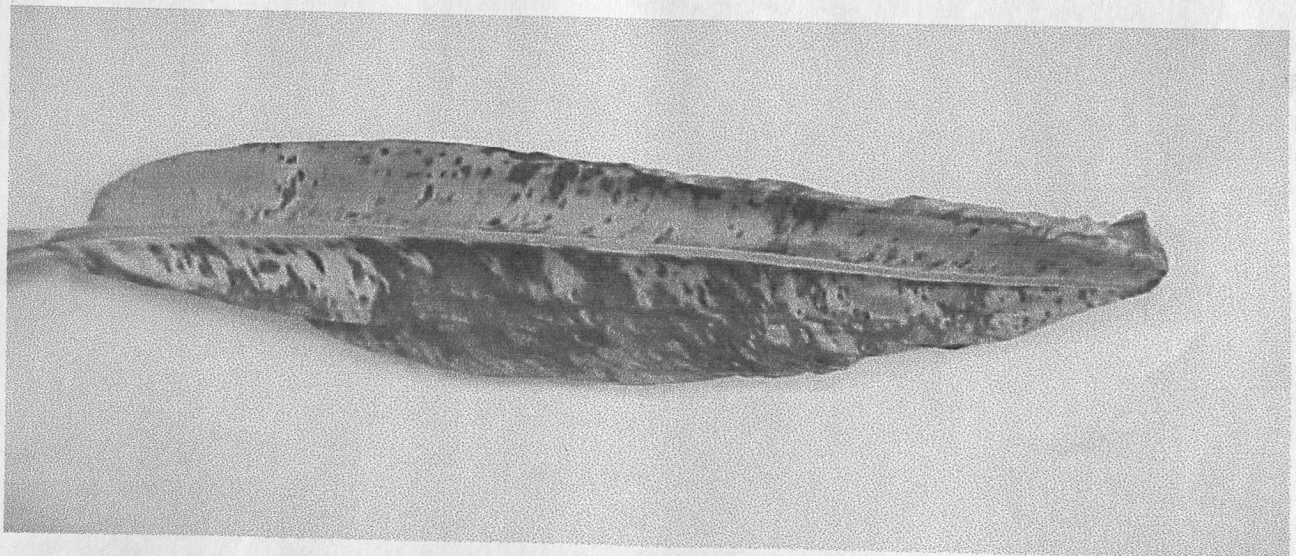
Table 2. Banana exports 1996 (FAO 1998)

Country	Total production (mT)	Total Export (mT)	Percentage of production exported	Percentage of world exports
Ecuador	6 596 416	4 088 845	61,99%	32,97%
Costa Rica	2 505 000	2 126 493	84,89%	17,15%
Colombia	5 362 397	1 476 523	27,53%	11,91%
Philippines	3 391 150	1 252 196	36,93%	10,10%
Panama	980 562	682 827	69,64%	5,51%
Guatemala	786 000	669 686	87,43%	5,40%
Honduras	1 132 466	575 255	50,80%	4,64%
Côte d'Ivoire	1 668 825	200 551	12,02%	1,62%
Mexico	2 209 550	162 914	7,37%	1,31%
Cameroon	1 985 990	160 192	8,07%	1,29%

Table 1. The 10 largest banana and plantain producers in 1998 (metric tonnes) (FAO 1998)

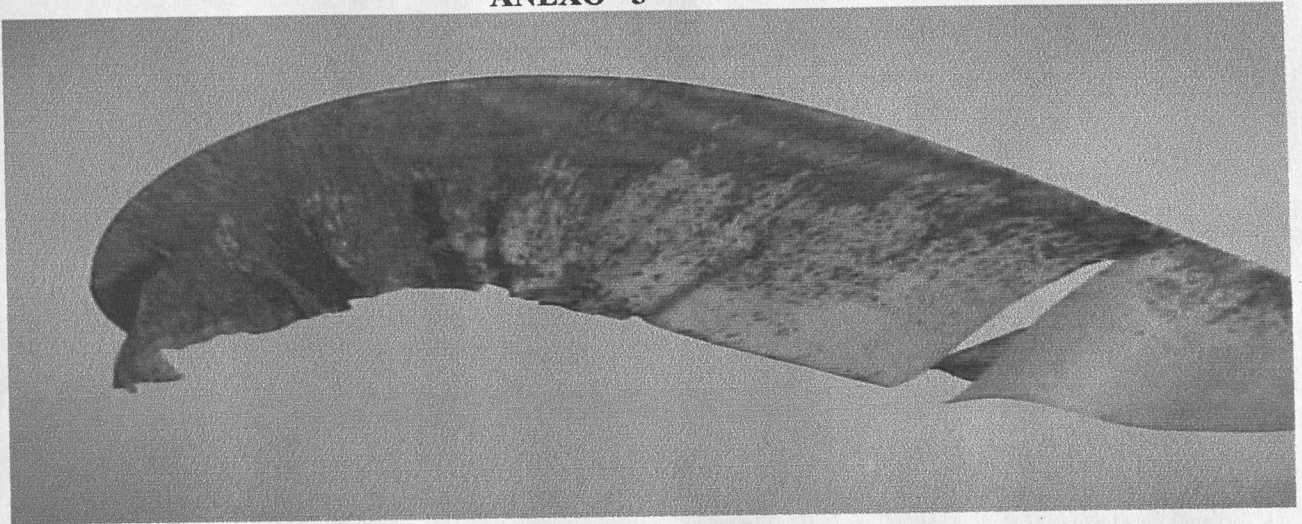
Country	Production (mT)
India	9 934 600
Uganda	9 835 000
Ecuador	8 388 210
Brazil	5 970 680
Colombia	4 797 300
Philippines	3 500 000
China	3 240 997
Indonesia	2 800 010
Democratic Republic of Congo	2 640 000
Costa Rica	2 300 000

ANEXO 4

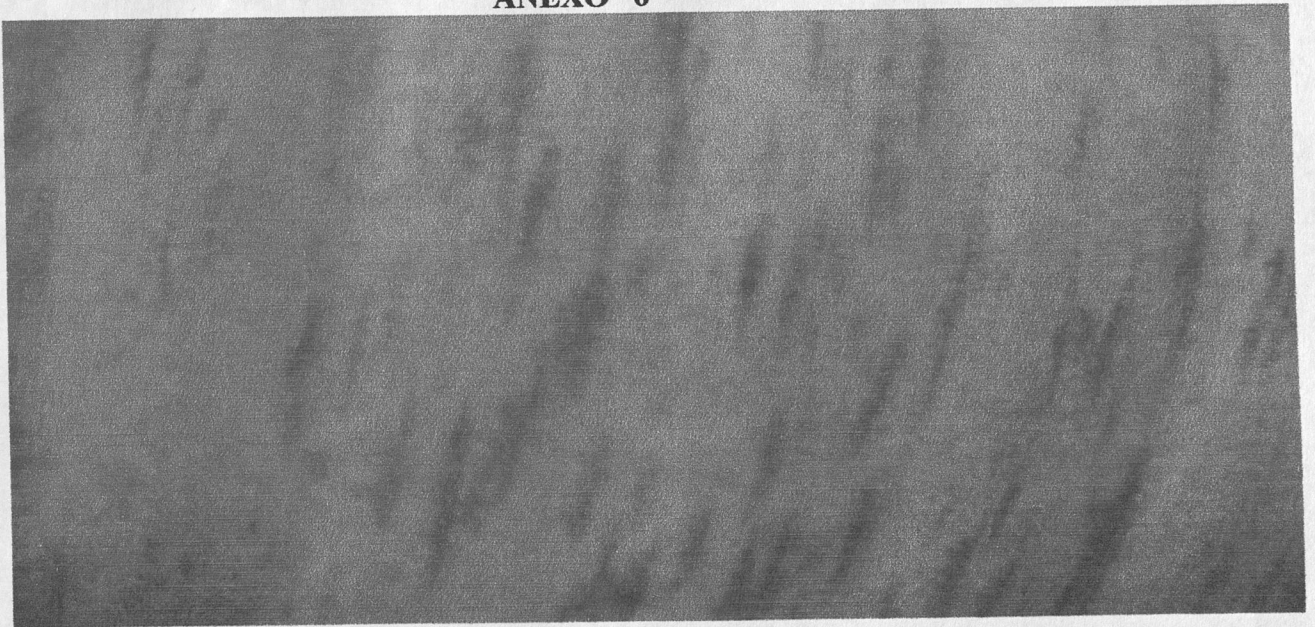


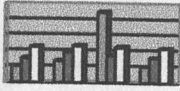


ANEXO 5

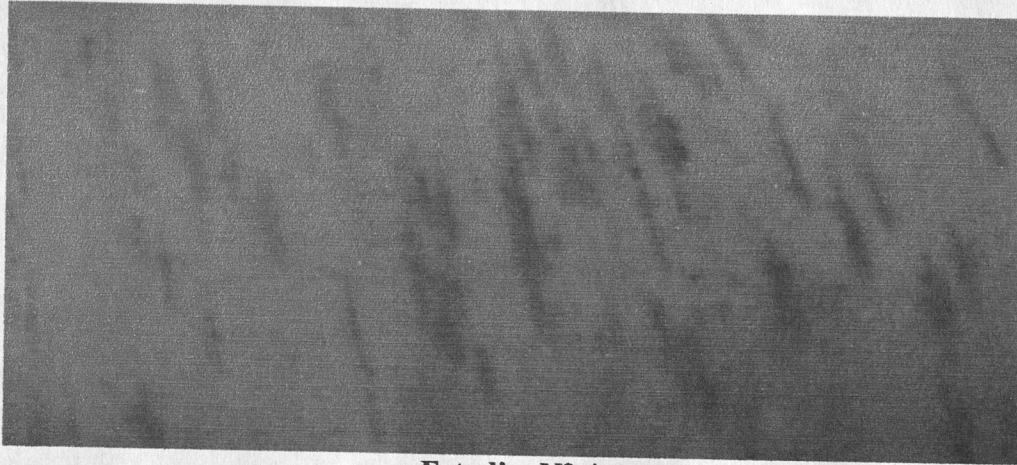


ANEXO 6



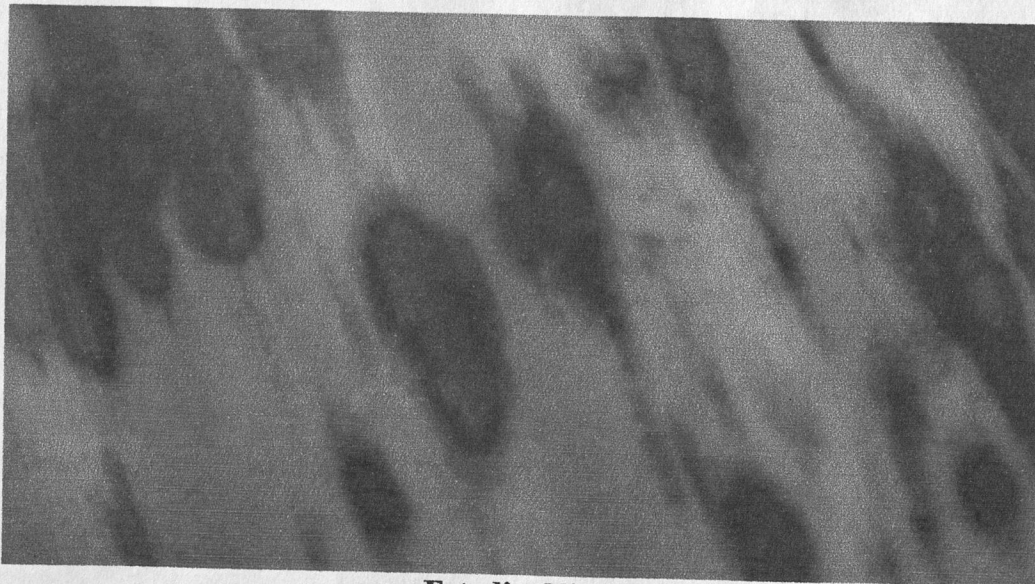


ANEXO 7



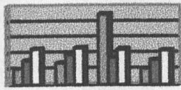
Estadio N° 4

ANEXO 8

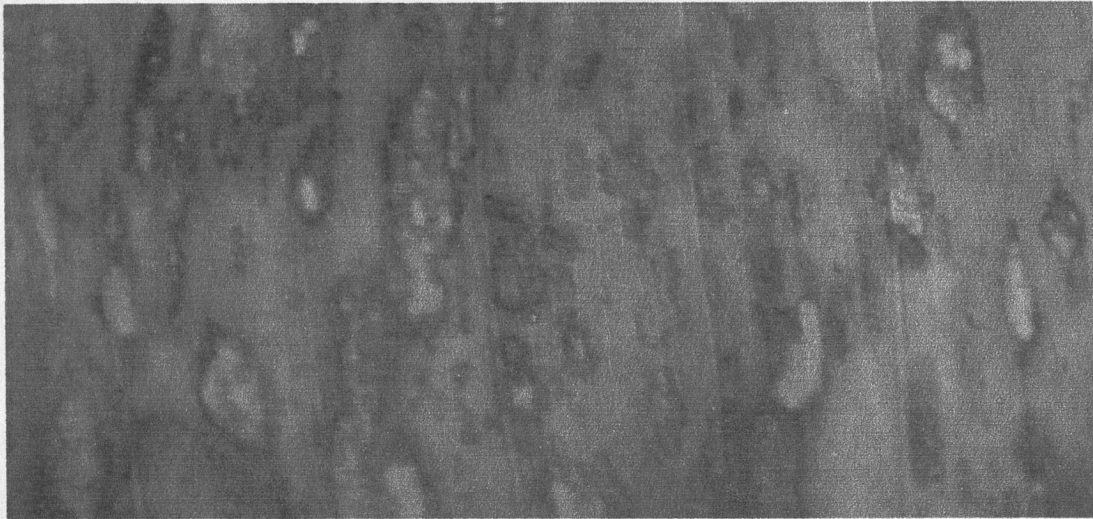


Estadio N° 5

BIBLIOTECA
DE ESCUELAS TÉCNICAS

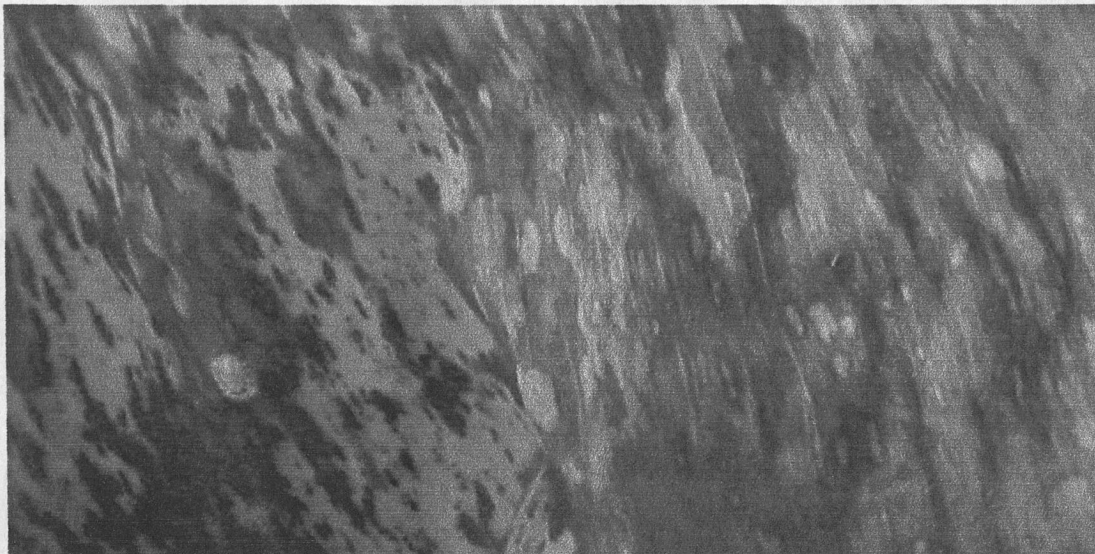


ANEXO 9



Estadio N° 6(CON HALO)

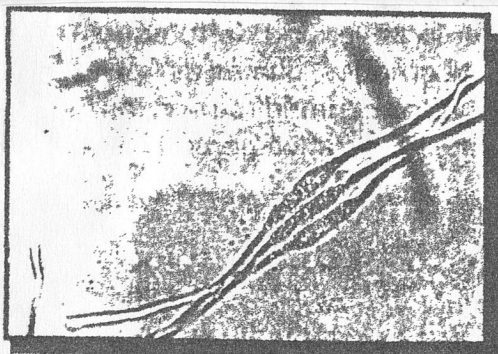
ANEXO 10



Estadio N° 6



ANEXO 11



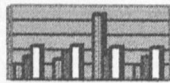
Ascosporas germinadas de Mycosphaerella fijiensis.



Tubo germinativo ramificado penetrando un estoma.

Bajo condiciones óptimas el período de incubación (tiempo transcurrido entre la germinación de las esporas y aparición de los primeros síntomas de la enfermedad) dura 17 días en banano y 29 en plátano. Los primeros conidios que se forman sobre lesiones en estado de estría, aparecen 28 días luego de la infección en banano y a los 34 días en plátano. La culminación del ciclo que ocurre con la liberación de las primeras ascosporas, se puede presentar 49 días después de la infección en banano y 64 días en plátano. En ausencia de control se asume la iniciación del ciclo del patógeno en cada hoja desde el momento de su emisión. El período de vida de cada hoja puede variar entre dos y ocho meses, según su posición en la planta, variedad, clima y estado de atención del cultivo. Las hojas sólo pueden ser infectadas durante el tiempo que permanezcan en estado verde, pero la producción de esporas se puede prolongar durante varios meses en las hojas muertas o secas sin descomponer.

Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.



ANEXO 12

Plant Breeding 115, 37–42 (1996)
© 1996 Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin
ISSN 0179-9541

Somaclonal variation as a source of resistance to eyespot disease of sugarcane

M. RAMOS LEAL, R. H. MARIBONA, A. RUIZ, S. KORNEVA, E. CANALES, T. D. DINKOVA, F. IZQUIERDO, O. COTO and D. RIZO

Dept. BioPlantas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), Habana, Cuba

With 3 Figures and 6 Tables

Received April 1, 1994/Accepted October 31, 1994

Communicated by F. Salamini

Abstract

After 10 years of evaluation in different locations with high levels of incidence of disease, a group of sugarcane somaclones derived from callus tissues was selected for eyespot resistance. Resistance evaluations of four somaclones were performed under field and laboratory conditions. The results confirmed the superiority of two somaclones, one resistant and one tolerant to eyespot disease. Restriction analysis of mitochondrial DNA revealed that the two somaclones had a different DNA organization which distinguished them both from each other and from the donor plant; the restriction profile was similar however to that of the resistant control done. Restriction patterns of a third somaclone, also resistant, were similar to those of the donor plant. Differences among the somaclones were also evident when using a maize ribosomal DNA probe.

Key words: *Saccharum* sp. hybrid — conductimetric bioassay — eyespot disease — mitochondrial genome — ribosomal probe — somaclones

Materials and Methods

A population of 2000 sugarcane somaclones derived from callus culture of the commercial variety C87-51 (highly susceptible, HS; Maribona et al. 1993), were entered into a traditional breeding programme and 110 of them were selected at the clonal propagation stage. Four clones were chosen because of their high resistance to eyespot disease.

Field experiments: Resistant somaclones were planted and evaluated over 10 years under field conditions in different locations chosen for their high incidence of eyespot disease (Bauta, Mariel, Jovellanos and Santiago de Cuba). For resistance evaluation a scale proposed by Yakutin et al. (1977) was used, in which the somaclones were scored from 0 (immune) to 5 (highly susceptible). Seven cuttings with two buds each were planted in 7 × 8 m plots, each consisting of four rows with 1 m between the rows and 0.3 m between the ridges.

The entire experiment was laid out in a randomized complete block design with seven entries. There were four somaclones and three commercial varieties with different responses to eyespot disease: PR 9-80, which is highly resistant, the donor plant C 87-51, and C 20-71, both of which are highly susceptible. There were six replicates of each genotype. Replicates were also planted in plastic bags in other locations with difficult accessibility but with a high degree of eyespot incidence.

Evaluation under controlled conditions: Spore suspensions and semi-purified toxins of the eyespot fungus isolates PL-4, COM-1, CEN-187, SN-5, SP, AGT and C-6 from different locations were sprayed on 10 cm leaf pieces of the somaclones and the three test varieties. The treated leaves were incubated in a humidity chamber at 23°C and with constant light. Damage was scored by measuring the lengths of the lesions.

Conductimetric bioassay: Resistance to eyespot disease was also evaluated by examining the effect of the fungal DS toxin on cell permeability, according to the method described by Ramos Leal et al. (1989). Samples of leaf discs weighing 50 mg were taken from somaclone and test variety plants under field conditions, and incubated for 2 h with 0.3 ml of toxins from different isolates. After incubation, the discs were washed three times and incubated in 10 ml of deionized water. The conductimetric bioassay based on the damage caused by the DS toxin to cell membrane permeability was measured after 6 h, using the method described by Ramos Leal et al. (1989).

Srta. Maritza Zambrano
Area de Estadística-Membranas
C.I.B.E.