

**USO Y APLICACIÓN DE LA GESTIÓN BIOTECNOLÓGICA EN LOS
SECTORES AGRO-PRODUCTIVOS DE LOS PUEBLOS MONTUBIOS ZONA
5 DEL ECUADOR**

Autores: Christian Alejandro Durán Mera¹, John Emmanuel Tobar Litardo²,
Lissette Gabriela Salazar Roquillo³.

Institución: Universidad Estatal De Guayaquil

Correos electrónicos: christ_adm@hotmail.com

USO Y APLICACIÓN DE LA GESTIÓN BIOTECNOLÓGICA EN LOS SECTORES AGRO-PRODUCTIVOS DE LOS PUEBLOS MONTUBIOS ZONA 5 DEL ECUADOR

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicada en la provincia de Los Ríos en el Km 5 vía Quevedo - El Empalme.

Los objetivos específicos fueron los siguientes: a) Determinar la incidencia y severidad de Sigatoka negra en plantas de banano cv. Williams tratadas con EMS. b) Evaluar el efecto de Sigatoka negra sobre las características agronómicas de banano cv. Williams tratadas con EMS.

El diseño empleado fue completamente al azar, debido a que cada una de las plantas procedentes del tratamiento mutagénico fueron individuos diferentes no fueron sembradas en bloques ni tenían repeticiones. Los datos fueron analizados con el programa estadístico InfoStat/E, para comparar las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey=0,05, también para comparar grupos de plantas de iguales características se usó el Test de Scott & Knott Alfa=0,05.

Las variables registradas fueron las siguientes: número de hojas por planta en la etapa vegetativa, hoja más joven con mancha (HJM), severidad, altura de planta (cm), diámetro del pseudotallo (cm), número de hojas en floración, número de días a cosecha, número de días de floración a cosecha, número de hojas funcionales a la cosecha, grado del racimo, peso neto/racimo (kg), número de manos y longitud de dedo (pulg).

De acuerdo a resultados se concluyó lo siguiente: a) El tratamiento 1%-1H alcanzó el mayor número de hojas por planta, número de hojas en floración y número de hojas funcionales a la cosecha, al igual que la hoja más joven con mancha. b) El tratamiento 0,5%-6H obtuvo la menor severidad de Sigatoka negra, al igual que el mayor peso neto/racimo (kg) y número de manos. c) El tratamiento 0,5%-3H alcanzó la menor altura de planta, al igual que el menor número de días a cosecha y el mayor número de grados del racimo. d) El tratamiento 1%-3H alcanzó la menor altura de planta y la mayor longitud de dedo (pulg). e) El tratamiento 0,5%-1H tuvo el mayor diámetro de pseudotallo y el menor número de días de floración a cosecha. f) El tratamiento 0,5%-3H obtuvo el menor número de días a cosecha y el mayor número de grados del racimo.

INTRODUCCIÓN

La Sigatoka negra ocasionada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, cuyo anamorfo es *Paracercospora fijiensis* (Morelet) Deighton, es considerada hasta el momento, la enfermedad foliar de mayor importancia en los cultivos de banano en todo el mundo, produce pérdidas en rendimiento de hasta el 100%, si no se implementan medidas para su manejo (Orozco y Aristizábal, 2006).

El hongo *M. fijiensis* Morelet, hizo su aparición en el Ecuador en el año 1987, en la hacienda "El Timbre", en la provincia de Esmeraldas. Para el año 1990, la enfermedad estaba diseminada en todo el territorio ecuatoriano. Los esfuerzos oficiales y privados por lograr su control han sido grandes, debido a los altos costos para su control (Banana export, 2010).

La enfermedad provoca desórdenes significativos en el crecimiento vegetativo de la planta, la cual sufre un severo deterioro del área foliar y de la productividad del cultivo, al disminuir su capacidad fotosintética. De presentarse esta condición, la planta no logra extraer de las hojas los elementos nutritivos para llevarlos al racimo; éste puede presentar madurez prematura y la fruta no sirve para la exportación (Herrera, 2007). Las medidas de manejo de la enfermedad se han basado en el uso de productos químicos que aunque permiten enfrentar de forma eficaz la enfermedad, presenta desventajas por sus efectos sobre el ambiente, sumado a la resistencia de las poblaciones del patógeno, adquirida por la aplicación de ciertos fungicidas sistémicos muy utilizados como los benzimidazoles y los triazoles (Vega, 2002).

La incorporación de genes de resistencia es uno de los mayores desafíos para los mejoradores durante el desarrollo de nuevos cultivares, estas herramientas ofrecen a los mejoradores posibilidades para obtener variabilidad genética y seleccionar

caracteres deseables. A través de la ingeniería genética es posible insertar solo los genes necesarios para proporcionar ciertas características deseadas como resistencia a enfermedades, por lo que las propiedades organolépticas o características de post-cosecha se mantendrían como en el cultivar original (Rowe, 1998).

Algunas variedades del género *Musa* han mostrado resistencia parcial a la Sigatoka negra, es decir, la planta puede ser afectada por la enfermedad, pero el área de las lesiones y la capacidad de esporulación es menor y el tiempo de evolución de los síntomas es más lento que en variedades altamente susceptibles (Cuéllar, 2011).

La problemática de la Sigatoka negra va más allá de las pérdidas que ocasiona, la alta variabilidad genética y patogénica de las poblaciones y variedades susceptibles. Es claro que el esfuerzo para el manejo óptimo de la enfermedad debe ser preventivo, en tal sentido la plantación de genotipos resistentes se constituye en la estrategia preventiva y económica para el productor en el control eficiente de la enfermedad (Carlier *et al.*, 1996; Fullerton y Olsen, 1995).

El INIAP a través del Departamento de Biotecnología de la Estación Experimental Litoral Sur, ejecutó el Proyecto PIC 706 denominado "Mutagénesis inductiva para el mejoramiento genético del banano en énfasis en estudio de resistencia a Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y productividad", el mismo que utilizó tratamientos mutagénicos físicos y químicos para obtener individuos de banano con resistencia a dicha enfermedad. Como resultado se logró obtener poblaciones de individuos del tratamiento con Etilmetanosulfanato (EMS), los que fueron sembrados en campo y que se deberían evaluar para determinar su comportamiento frente a la enfermedad y sus características agronómicas.

En base a lo expuesto la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar la susceptibilidad a Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plantas de banano cv. Williams que fueron tratadas con etilmetanosulfanato (EMS).

Objetivos específicos:

- 1.- Determinar la incidencia y severidad de Sigatoka negra en plantas de banano cv. Williams tratadas con EMS.
- 2.- Evaluar el efecto de Sigatoka negra sobre las características agronómicas de banano cv. Williams tratadas con EMS.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia de la enfermedad

La Sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, es la enfermedad foliar que representa la principal limitante en la producción de musáceas (plátano y banano) a nivel mundial. La enfermedad afecta el área foliar fotosintética de la planta y, en consecuencia, los racimos y los frutos tienen un menor peso en comparación con plantas sanas. Adicionalmente, infecciones severas de la Sigatoka negra causan la madurez prematura del fruto (Gañán, 2007).

El patógeno destruye rápidamente el tejido foliar; como consecuencia se reduce la fotosíntesis y se afecta el crecimiento de la planta y la producción. En ausencia de medidas de control la enfermedad puede reducir hasta en un 50 % el peso del racimo y causar pérdidas del 100 % de la producción debido al deterioro en la calidad del fruto (longitud y grosor) (Guzmán y Paladines, 2013).

Generalmente es necesario mantener una cantidad mínima de ocho hojas en la planta hasta el tiempo de cosecha para que la calidad de la fruta sea estable durante el transporte. Las frutas de plantas gravemente enfermas son propensas a ablandarse prematura e irregularmente. Esto constituye una preocupación grave para los que producen fruto para exportación debido a las exigencias rígidas de los consumidores en los países desarrollados (Marín *et al.*, 2003).

2.2. Descripción y biología del patógeno

Sigatoka negra, se caracteriza por sus dos estados reproductivos: La fase asexual (*Pseudocercospora fijiensis* Morelet), se presenta en las primeras lesiones de la enfermedad, La fase sexual (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), es la más importante en la expansión de la enfermedad, al producir un gran número de ascosporas a partir de estructuras llamadas pseudotecios (Fullerton, 1994).

Taxonomía:

Reino : Fungi
Phylum: Ascomycota
Clase : Loculoascomycete
Orden : Dothideales
Familia: Mycosphaerellaceae
Género: Mycosphaerella
Especie: *Mycosphaerella fijiensis* (Teleomorfo)
Paracercospora fijiensis (Anamorfo)

Douglas y Ronald, (1992), indican que la fase sexual es la más importante en el desarrollo de la enfermedad, ya que ocasiona un gran número de ascosporas, en estructuras llamadas pseudotecios (también llamadas algunas veces peritecios), las ascosporas son las principales fuentes de inóculo y el medio de dispersión a grandes distancias dentro de un área determinada.

Los conidios son hialinos, cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, de seis a nueve septos, delgados en el ápice y más ancho en la base con una cicatriz en el hilio basal del conidio (punto de unión entre el conidio y el conidióforo). Los conidióforos pueden emerger directamente del estoma de manera individual o en pequeños grupos o pueden formar fascículos sobre un estoma irrumpen de color oscuro (Orozco, 1998).

Según Orozco (1998), los conidios miden de 30 - 132 µm de longitud y de 2.5 - 5 µm en la parte más ancha. Las estructuras se producen en mayor abundancia en la superficie inferior de las lesiones, pero también pueden ser encontradas en la parte superior.

2.3. Ciclo de la enfermedad

El desarrollo de la enfermedad se encuentra directamente influenciado por las condiciones climáticas, susceptibilidad de la variedad sembrada y manejo del cultivo. Las zonas más afectadas por la Sigatoka negra se caracterizan por tener una precipitación mayor a 1.400 mm anuales debido a la presencia continua de una lámina de agua sobre las hojas, favorece los procesos de liberación e infección de las esporas;

humedad relativa superior al 80% y una temperatura promedio entre 23 a 28 °C (Gañán, 2007).

El ciclo de la Sigatoka negra es similar al de la amarilla. Sin embargo, en éste se produce un número mayor de ascosporas, las cuales son más importantes en la dispersión de esta enfermedad. La producción de ascosporas es mayor en las últimas etapas de la enfermedad donde hay mayor cantidad de tejido necrótico. El ciclo total de la enfermedad para plantas de banano puede completarse en solo 23 días y extenderse hasta los 70 días. Sin embargo, lo normal es que el ciclo fluctúe entre los 35 y 50 días. En plátano el ciclo dura un promedio de 75 días (Díaz, Almodóvar y Alvarado, 1997).

2.4. Ecología de la enfermedad

La enfermedad tiene un comportamiento estacional originada por variaciones de temperatura y precipitación a lo largo del año. La presencia de lluvias crea una capa de agua en la superficie de la hoja donde se genera un ambiente propicio para el hongo (Jácome y Schuh, 2000).

La temperatura y la humedad relativa, favorecen el desarrollo de la enfermedad con promedios entre 20°C y 35°C, ya que estos valores contribuyen a la germinación de conidios y ascosporas, siendo entre 25°C y 28°C el rango de máxima germinación; sobre todo cuando se tiene una alta humedad relativa (Jácome y Schuh, 2000).

Las ascosporas de *M. fijiensis* germinan en un rango amplio entre 10°C y 38°C, considerándose óptimo 27°C, y con una fuerte depresión en temperaturas menores a 20°C. La cantidad de ascosporas en el aire no varía a diferentes alturas, éstas son dispersadas por el viento y depositadas en las hojas más jóvenes de la planta. La lluvia provee condiciones de humedad que favorecen el desarrollo de las infecciones, por tal motivo se observan dos escenarios estrechamente relacionados con la presencia o no del periodo invernal (Jácome y Schuh, 2000).

2.5. Síntomas de la Sigatoka negra

Según Hoyos (2007), indica que, Fouré (1982) clasificó los síntomas observados en las hojas de plantas infectadas en seis diferentes etapas de desarrollo o estadios:

Estadio 1: Es el primer síntoma visible de la enfermedad en la hoja. Se observa una mancha pequeña o peca de color amarillo claro en el envés de la tercera o cuarta hoja. Este síntoma no se observa en la Sigatoka amarilla.

Estadio 2: Se observa una estría o raya de color café visible en el envés de la hoja; su color amarillo se asemeja a la primera etapa de la Sigatoka amarilla. Este color va cambiando a café rojizo y más adelante a negro en la parte de arriba de la hoja; sin embargo, mantendrá el color café en el envés de la hoja.

Estadio 3: Las estrías o rayas se mantienen del mismo color pero se hacen más grandes y pueden alcanzar una longitud de 2 a 3 cm.

Estadio 4: Se observan manchas de color café en el envés de las hojas, las cuales se observan de color negro en el haz o cara superior de las hojas.

Estadio 5: Las manchas negras se extienden al envés de la hoja y están rodeadas por una zona de color amarillo intenso.

Estadio 6: Las manchas comienzan a observarse hundidas y el centro se seca y adquiere un color grisáceo. Se acentúa el color negro alrededor de las manchas con bordes color amarillo brillante. Estas manchas se observan aunque la hoja se haya secado.

2.6. Interacción *Mycosphaerella fijiensis* - *Musa* spp

La clasificación de los genotipos de *Musa* spp. con relación a su resistencia a la enfermedad ha sido el resultado de la caracterización de las interacciones planta-patógeno. Esta interacción inicia cuando las ascosporas o conidios de *M. fijiensis* llegan e inician la penetración a los espacios intercelulares del parénquima de la hoja, a través de los estomas (Beveraggi, Mourichon y Sallé, 1995). De acuerdo al resultado de esta interacción, los cultivares se han clasificado en tres categorías: los altamente resistentes que bloquean tempranamente la infección (interacciones incompatibles), los parcialmente resistentes que desarrollan los síntomas lentamente (interacciones compatibles), y los susceptibles que desarrollan los síntomas rápidamente (interacciones compatibles) (Lepoivre *et al.*, 2002).

La resistencia de algunas especies de *Musa* a *M. fijiensis* parece ser relacionada más a la post-infección, es decir, la planta activa un mecanismo de defensa, manifestado por la producción de proteínas relacionadas a la patogénesis (Lepoivre, Acuna y Riveros, 1993) y algunas fitoalexinas (Quiñones *et al.*, 2000), así como cambios en la estructura

de sustancias preformadas. El conocimiento de la información genética sobre la herencia natural de la resistencia de musáceas a *M. fijiensis*, es importante para poder desarrollar estrategias de mejora genética de la planta, orientadas hacia la resistencia de la enfermedad (Ortiz y Vuylsteke, 1994).

Muchos programas de mejoramiento genético de *Musa* vía hibridación se basan en la utilización de la resistencia encontrada en especies silvestres de *Musa* como: *Musa acuminata* spp. *burmannica*, *Musa acuminata* spp. *malaccensis* y *Musa acuminata* spp. *siamea*; también en los cultivares diploides Paka (AA), Pisan lili (AA), Calcuta (AA) y algunos triploides como el cultivar Yangambi Km 5 (AAA), Saba (ABB) y Pisang Ceylan (ABB) (Hernández, 1995).

Las evaluaciones en campo bajo condiciones de infección, han sido durante mucho tiempo el único método disponible para evaluar y seleccionar genotipos de *Musa* resistentes a *M. fijiensis* (Chaerani, 2006). Las mismas deben estar validadas por comparación de los genotipos de interés con cultivares de referencia en pruebas multilocales.

A pesar de los avances obtenidos en la transformación genética, en el estudio de la biología y epifitología de las poblaciones de *M. fijiensis*, en el conocimiento de la

interacción *Musa* - *M. fijiensis*, en el uso de los componentes de la resistencia para seleccionar una resistencia más durable en condiciones de campo, la evaluación del desarrollo y evolución de la enfermedad en condiciones de campo mediante el conocimiento de la respuesta de genotipos mejorados de *Musa* frente a *M. fijiensis* en comparación con cultivares de referencia se hace imprescindible para la investigación y el desarrollo asistencial exitoso de programas de mejoramiento (Carlier, Waele y Escalant, 2003).

2.7. Metodologías de pruebas de resistencia a Sigatoka negra

Fouré (1994) describió dos tipos de reacciones en *Musa* frente a Sigatoka negra: la reacción de incompatibilidad resistencia muy alta o hipersensibilidad, observada en Yangambi Km 5 del subgrupo Ibota, AAA, donde no ocurre reproducción del patógeno, y la reacción de compatibilidad con desarrollo de los síntomas y reproducción del patógeno, en la que se diferencian la resistencia parcial, que se expresa por un alargamiento del ciclo y disminución de la reproducción del patógeno con una baja tasa de incremento de la enfermedad, y la sensibilidad observada en los clones Cavendish y plátanos (AAB), caracterizada por un ciclo de la enfermedad corto, reproducción intensa, alta tasa de incremento de la enfermedad y grandes afectaciones del área fotosintética de la planta.

Otras tecnologías como por ejemplo la ingeniería genética, ofrecen la posibilidad de introducir características puntuales en variedades que tienen óptimas cualidades organolépticas. El uso de técnicas no convencionales como la transformación genética y la hibridación somática constituyen alternativas muy prometedoras para el desarrollo de plantas resistentes a estas enfermedades, como ya se ha demostrado en otros casos. Los métodos de biología molecular ofrecen la posibilidad de clonar y caracterizar genes relacionados con la respuesta de defensa de las plantas a patógenos y adicionalmente introducirlos en variedades con características comercialmente aceptadas (Fontagro, 2006).

En el caso de los bananos, el proceso de mutación consiste en irradiar miles de plántulas con dosis de rayos gamma o rayos X que provocan mutaciones aleatorias. A continuación se procede a filtrar los resultados para ver si las mutaciones han afectado a los genes en una dirección que apunte hacia el rasgo al que se aspira: en este caso, la resistencia a la Sigatoka negra. Fundamentalmente, se trata de un juego de azar: cuanto mejor sea la técnica de filtrado, mayor será la probabilidad de detectar con rapidez una variante única de banano mejorado (FAO, 2014).

2.8. Resistencia genética mediante tratamientos mutagénicos

La mutagénesis es un método de mejoramiento genético que ha sido usada para alterar el tamaño de la planta, la época de floración y cosecha, el color de la fruta, la resistencia a patógenos y la auto compatibilidad. Las mutaciones inducidas pueden cambiar una o pocas características específicas de una variedad, pudiendo contribuir al mejoramiento genético, sin perturbar ninguno de los requerimientos de la industria frutícola y consumidores (Predieri, 2001).

El éxito de la mutagénesis depende del genotipo, de los métodos que se utilicen para inducirlos, y de las características que se busca alterar (Brunner y Keppl, 1991).

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales puede ayudar a mejorar en forma efectiva la inducción de mutaciones en varios aspectos. Ofrece la posibilidad de elegir el material vegetal para el tratamiento (yemas axilares, órganos, tejidos y células), lo que es más adecuado comparado con un tratamiento *in vitro*, ya que se disminuye el riesgo de obtener quimeras y hay una alta posibilidad de que las células mutadas expresen la mutación en el fenotipo. El cultivo *in vitro* de tejidos también permite el manejo de grandes poblaciones y la selección y clonación de las variantes seleccionadas. Además, ofrece la posibilidad de realizar en forma rápida los ciclos de propagación con el propósito de separar los sectores mutados de los no mutados del tejido tratado, y permite un control de las condiciones fitosanitarias durante todo el proceso (Predieri, 2001).

Características del mutagénico EMS: El metasulfonato de etilo o etilmetanosulfonato (EMS) es un compuesto orgánico mutagénico, teratogénico, y posiblemente carcinogénico con fórmula $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{C}_2\text{H}_5$, mutagénico en las plantas

y los animales y cancerígeno en los mamíferos. Se ha utilizado como un agente alquilante en estudios de los procesos de reparación del ADN (Sigma-Aldrich, 2014). Produce mutaciones al azar en el material genético por medio de la sustitución de nucleótidos; particularmente por alquilación de guanina. Esto suele producir mutaciones puntuales solamente. El grupo etilo del EMS reacciona con la guanina en el ADN, formando la base anormal O-6-ethylguanine. Durante la replicación del ADN, el ADN polimerasa que catalizan el proceso con frecuencia, coloca timina en lugar de citosina, oponiéndose a O-6-etilguanina. Siguiendo las siguientes rondas de replicación, la pareja base original GC puede llegar a convertirse en la pareja AT (una mutación de transición). Esto cambia la información genética, es a menudo perjudicial para las células, y puede resultar en enfermedades (Sigma-Aldrich, 2014).

2.9. Manejo de la Sigatoka negra

Control cultural o deshoje: Se entiende por control cultural la implementación o modificación de ciertas prácticas de cultivo con la finalidad de generar un ambiente menos favorable para la enfermedad o afectar la reproducción, diseminación e infección del patógeno. Con el deshoje (despunte y cirugía), a intervalos semanales, se logra reducir la severidad de la enfermedad (Villalta y Guzmán 2006).

El deshoje es la eliminación sanitaria de hojas, o partes de ellas, infestadas con Sigatoka negra. Las hojas de banano son la única fuente de inóculo de la Sigatoka negra; el hongo produce más ascosporas en las hojas vivas que en las hojas que se han cortado y caído al suelo. El deshoje aumenta la eficiencia de la aplicación de fungicidas y ayuda a reducir el efecto de maduración temprana (Chillet *et al.*, 2013). Sin embargo, para garantizar un adecuado desarrollo de los racimos hasta la cosecha, hay que balancear la eliminación de las hojas infectadas con la preservación de un área mínima de superficie foliar (Vargas *et al.*, 2009).

Deshoje temprano: Este método consiste en eliminar semanalmente la punta de la hoja (unos 20 cm) de una de las 5 hojas más viejas, antes de que aparezca la necrosis. Es complementario al deshoje sanitario y es particularmente útil en zonas donde las condiciones son favorables para el desarrollo de la Sigatoka Negra o durante la temporada de lluvias (Chica *et al.*, 2004).

Deshoje durante la floración: Este método consiste en eliminar sistemáticamente las tres hojas más viejas, durante la floración. Tiene un fuerte impacto en el área foliar de la planta. Anticipa, pero no reemplaza, el deshoje sanitario, ya que los síntomas pueden aparecer en otras hojas antes de la cosecha (Martínez *et al.*, 2006).

Control químico: Es la principal herramienta para el manejo de la Sigatoka negra. Se realiza mediante la aplicación alterna y en mezcla de fungicidas protectores y sistémicos. Los fungicidas protectores son de acción multisitio (bajo o nulo riesgo de resistencia) y se incluyen en este grupo el mancozeb y el clorotalonil. Los sistémicos son de acción sitio-específico (moderado a alto riesgo de resistencia) e incluyen fungicidas de grupos como benzimidazoles, aminas, triazoles, estrobirulinas y anilino pirimidinas. Además, se encuentran en proceso de registro nuevos fungicidas sistémicos de dos grupos químicos nunca antes utilizados en banano: carboxamidas y guanidinas. *M. fijiensis* ha desarrollado resistencia a los benzimidazoles, triazoles y estrobirulinas, lo cual ha reducido su eficacia en campo y limitado su uso (Martínez y Guzmán, 2010).

El desarrollo de resistencia a los fungicidas de los grupos antes mencionados, ha incrementado el uso de aminas y anilino pirimidinas, lo cual se vislumbra como un riesgo, debido al aumento en la presión de selección que se ejerce sobre el patógeno. Por lo anterior, el uso de los fungicidas sistémicos en banano debe ajustarse a las recomendaciones establecidas por el Comité de Acción Contra la Resistencia a Fungicidas (FRAC, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

Esta investigación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, ubicada en la provincia de Los Ríos en el Km 5 vía Quevedo - El Empalme. La Estación se encuentra ubicada a una altitud promedio de 75 msnm y posesionada geográficamente en las coordenadas 01°05'24'' latitud Sur y 79°28'06'' longitud

Occidental. La temperatura media anual es de 25°C, 2.223 mm precipitación, 85% de humedad relativa y 898 horas luz.^{1/}

3.2. Materiales

- Croquis de parcelas
- Libreta de campo
- Lápiz
- Tarjetas de identificación
- Regla de madera
- Cinta métrica
- Podón
- Machete
- Calibrador
- Balanza de reloj (kg)
- Cámara fotográfica
- Computador

3.3. Metodología

3.3.1. Tratamientos estudiados

Los tratamientos estuvieron constituidos por siete dosis de EMS y un testigo absoluto y fueron los siguientes:

- Testigo absoluto
- 0,5% - 1 hora
- 0,5% - 3 horas
- 0,5% - 6 horas
- 1% - 1 hora
- 1% - 3 horas
- 1% - 6 horas
- 2% - 3 horas

3.3.2. Diseño experimental

Debido a que cada una de las plantas procedentes del tratamiento mutagénico (EMS) fueron individuos diferentes y el número de plantas variables no fueron sembradas en bloques ni tenían repeticiones, por ello el análisis fue completamente al azar. Los datos fueron analizados con el programa estadístico InfoStat/E, para comparar las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey=0,05, también para comparar grupos de plantas de iguales características se usó el Test de Scott & Knott Alfa=0,05.

3.4. Manejo del experimento

En el presente trabajo de investigación se realizaron las siguientes labores:

3.4.1 Control de malezas

El control de malezas se lo realizó mecánicamente con motoguadaña.

3.4.2. Registro de incidencia y severidad de Sigatoka negra

El registro de Sigatoka negra se realizó cada dos semanas, las lecturas se tomaban en el envés de la hoja y se utilizó como referencia la escala de Stover modificada por Gauhl de 0 a 6 donde:

- 0 = sin síntomas
- 1 = pizcas y hasta 10 manchas
- 2 = más de 10 manchas hasta 5% del área foliar afectada
- 3 = 6 - 15% del área foliar afectada
- 4 = 16 - 33%
- 5 = 34 - 50% y
- 6 = 51 - 100% del área foliar afectada.

Con esta información se determinó el número de hojas por planta, hoja más joven con mancha (HJM) y severidad en cada una de las plantas.

3.4.3. Cosecha

De acuerdo con el ciclo en cada uno de los individuos se hicieron tres cosechas (26 de noviembre, 16 y 21 de diciembre del 2015), y en cada una se evaluaron las características de calidad del fruto.

3.5.1. Nivel de Sigatoka negra

Para evaluar el nivel de Sigatoka negra, se utilizaron las siguientes variables:

3.5.1.1 Número de hojas totales por planta en la etapa vegetativa

Se contabilizó las hojas presentes en el momento de la floración.

3.5.1.2 Hoja más joven con mancha (HJM)

Esta variable se obtuvo mediante la escala de Stover modificada por Gauhl.

3.5.1.3. Severidad

Para evaluar la severidad, se utilizó la escala de Stover modificada Gauhl.

3.6. Características agronómicas

Para evaluar las características agronómicas, se realizó con las variables:

3.6.1. Altura de planta (m)

Esta variable se la realizó una vez que las plantas habían emergido la bellota y con la ayuda de una regla de madera se tomó desde el suelo hasta en el pedúnculo de la inflorescencia.

3.6.2. Diámetro del pseudotallo (cm)

Una vez que las plantas habían emergido la bellota con la ayuda de una cinta métrica se tomó desde el nivel del suelo hasta llegar a los 50 (cm) de largo.

3.6.3. Número de hojas en floración

Se contaron las hojas existentes en todas las plantas seleccionadas al momento de la parición.

3.7.2. Número de días de floración a cosecha

Esta variable se obtuvo contabilizando los días entre la floración y la cosecha.

3.7.3. Número de hojas funcionales a la cosecha

Para evaluar esta variable se consideró como funcional aquella hoja que presente hasta el 15% de afectación según la escala de Stover.

3.8. Características del racimo

3.8.1. Grado del racimo

Este dato se registró un día antes de la cosecha solo en racimos que tenían 38 grados en adelante, y con la ayuda de un calibrador se colocaba en el dedo medio de la segunda mano del racimo.

3.8.2. Peso neto/racimo (kg)

Este dato se lo tomó mediante el peso del racimo menos el peso del raquis.

3.8.3. Número de manos

Una vez cosechado el racimo se realizó el desmane y se contó el número de manos.

3.8.4. Longitud de dedo (pulg)

Este dato se midió en la segunda mano del dedo central.

IV. RESULTADOS EXPERIMENTALES

4.1. Incidencia y severidad de Sigatoka negra en plantas de banano cv. Williams tratadas con EMS.

4.1.1. Número de hojas por planta en la etapa vegetativa

De acuerdo con el análisis estadístico los tratamientos 0,5%-1H; 0,5%-3H; 0,5%-6H; 1%-1H; 2%-3H; Testigo; llegaron con un mínimo de 6,00 hojas y el tratamiento 1%-1H con un máximo de 12,00 y un promedio de 9,00 por planta; el coeficiente de variación fue de 14,56% (Cuadro 1). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 1). Cuadro 1. Promedios del número de hojas por plantas en la etapa vegetativa de plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	6,00	11,00	8,39 n.s
0,5% - 3H	37	6,00	10,00	7,89
0,5% - 6H	17	6,00	10,00	8,41
1% - 1H	20	6,00	12,00	9,00
1% - 3H	13	7,00	9,00	8,15

1% - 6H	15	7,00	11,00	8,60
2% - 3H	60	6,00	10,00	8,33
Testigo	11	6,00	10,00	8,82
Promedio				8,37
C.V.				14,56%

n.s = no significativo.

4.1.2. Hoja más joven con mancha (HJM)

El análisis estadístico indica que hubo diferencias significativas, el tratamientos 1%-3H fue el de mayor infección con un promedio de 5,46 hoja más joven con mancha, el mismo que fue diferente de los demás tratamientos; el de menor infección fue el tratamiento 1%-1H con un promedio de 6,80 (HJM) y cuyo máximo fue 11,00 (HJM). El coeficiente de variación fue 14,56% (Cuadro 2, Anexo 2).

Cuadro 2. Promedios de hoja más joven con mancha (HJM) en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	1,00	9,00	6,17 ab ^{1/}
0,5% - 3H	37	5,00	9,00	5,78 ab
0,5% - 6H	17	5,00	8,00	6,06 ab
1% - 1H	20	5,00	11,00	6,80 b
1% - 3H	13	5,00	7,00	5,46 a
1% - 6H	15	5,00	9,00	5,93ab
2% - 3H	60	5,00	8,00	5,85 ab
Testigo	11	5,00	7,00	5,73 ab
Promedio				5,98
C.V.				14,56%

^{1/} cifras de la columna con la misma letra son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey $p=0.05$

4.1.3. Severidad

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento 0,5%-6H fue el de menor severidad con un promedio de 0,89; y el tratamiento 2%-3H fue el de mayor severidad con un promedio de 1,12. El coeficiente de variación fue 42,12% (Cuadro 3). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 3).

Cuadro 3. Promedios de severidad de plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	0,13	2,63	1,04 n.s
0,5% - 3H	37	0,13	2,00	1,03
0,5% - 6H	17	0,50	1,63	0,89

1% - 1H	20	0,20	1,80	0,91
1% - 3H	13	0,63	1,67	1,04
1% - 6H	15	0,50	1,60	1,10
2% - 3H	60	0,10	1,88	1,12
Testigo	11	0,44	1,88	1,11
Promedio				1,04
C.V				42,12%

n.s = no significativo.

4.2. Efecto de Sigatoka negra sobre las características agronómicas de banano cv. Williams tratadas con EMS.

4.2.1. Altura de planta (m)

De acuerdo con el análisis estadístico hubo diferencias significativas, los tratamientos 0,5%-3H y 1%-3H tuvieron la menor altura de planta con un promedio de 2,13 metros, y el tratamiento 0,5%-1H llegó con un máximo de 2,85 y un promedio de 2,38 metros siendo igual estadísticamente a los tratamientos 1%-1H y 1%-6H. El coeficiente de variación fue 10,08% (Cuadro 4, Anexo 4).

Cuadro 4. Promedios de altura de plantas (m) en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	1,95	2,85	2,38 b ^{1/}
0,5% - 3H	37	1,83	2,50	2,13 a
0,5% - 6H	17	1,98	2,43	2,18 a
1% - 1H	20	1,80	2,80	2,28 b
1% - 3H	13	1,90	2,40	2,13 a
1% - 6H	15	1,90	2,81	2,30 b
2% - 3H	60	1,90	2,80	2,23 a
Testigo	11	2,00	2,35	2,19 a
Promedio				2,25
C.V				10,08%

^{1/} cifras de la columna con la misma letra son iguales estadísticamente de acuerdo al test de Scott & Knott Alfa=0,05

4.2.2. Diámetro del pseudotallo (cm)

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento 0,5%-1H llegó con un mínimo de 22,00 cm y un máximo de 72,00 cm con un promedio de 62,17 cm. El coeficiente de variación fue 10,55% (Cuadro 5). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05

4.2.3. Número de hojas en floración

Los tratamientos 0,5%-1H; 0,5%-3H; 0,5%-6H; 1%-1H; 2%-3H y el Testigo absoluto; llegaron con un mínimo de 6,00 hojas a la floración y el tratamiento 1%-1H con un máximo de 12,00 hojas y un promedio de 9,10 hojas. El coeficiente de variación fue

15,17% (Cuadro 6). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 6).

Cuadro 6. Promedios del número de hojas en floración en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	6,00	11,00	8,56 n.s
0,5% - 3H	37	6,00	10,00	7,92
0,5% - 6H	17	6,00	10,00	8,29
1% - 1H	20	6,00	12,00	9,10
1% - 3H	13	7,00	9,00	8,23
1% - 6H	15	7,00	11,00	8,73
2% - 3H	60	6,00	10,00	8,33
Testigo	11	6,00	10,00	8,73
Promedio				8,41
C.V.				15,17%

n.s = no significativo

4.2.4. Número de días a cosecha

De acuerdo con el análisis estadístico hubo diferencias significativas entre tratamientos, el tratamientos 0,5%-3H tuvo el menor número de días a cosecha con un promedio de 276,95 días siendo igual estadísticamente a los tratamientos 1%-3H; 2%-3H; testigo; el tratamiento 0,5%-6H tuvo el mayor número días con un promedio de 291,65 días fue igual a los tratamientos 1%-1H y 1%-6H. El coeficiente de variación fue 5,76% (Cuadro 7, Anexo 7) Cuadro 7. Promedios del número de días a cosecha en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	269,00	304,00	281,44 a ^{1/}
0,5% - 3H	37	269,00	304,00	276,95 a
0,5% - 6H	17	269,00	304,00	291,65 b
1% - 1H	20	269,00	304,00	288,95 b
1% - 3H	13	269,00	304,00	281,38 a
1% - 6H	15	269,00	304,00	286,27 b
2% - 3H	60	269,00	304,00	277,52 a
Testigo	11	269,00	304,00	283,64 a
Promedio				281,53
C.V				5,76%

^{1/} cifras de la columna con la misma letra son iguales estadísticamente de acuerdo al test de Scott & Knott Alfa=0,05

4.2.5. Número de días de floración a cosecha

El tratamiento 0,5%-1H tuvo el menor número de días de floración a cosecha con un promedio de 78,69 días y el tratamiento 0,5%-6H alcanzó el mayor número de días con un promedio de 84,18. El coeficiente de variación fue 12,03% (Cuadro 8). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 8).

Cuadro 8. Promedios del número de días de floración a cosecha en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	62,00	98,00	78,69 n.s
0,5% - 3H	37	62,00	99,00	82,35
0,5% - 6H	17	70,00	99,00	84,18
1% - 1H	20	64,00	99,00	79,15
1% - 3H	13	64,00	93,00	79,23
1% - 6H	15	64,00	98,00	82,27
2% - 3H	60	64,00	98,00	81,10
Testigo	11	62,00	88,00	78,73
Promedio				80,81
C.V				12,03%

n.s = no significativo

4.2.6. Número de hojas funcionales a la cosecha

El análisis estadístico mostró que el tratamiento 1%-1H tuvo el mayor número de hojas por planta con un promedio 8,40 hojas y el tratamiento 0,5%-3H tuvo el menor número con un promedio con 7,19 hojas. El coeficiente de variación fue 20,81% (Cuadro 9). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 9).

Cuadro 9. Promedios del número de hojas funcionales a la cosecha en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	4,00	11,00	7,69 n.s
0,5% - 3H	37	4,00	10,00	7,19
0,5% - 6H	17	6,00	9,00	7,76
1% - 1H	20	4,00	11,00	8,40
1% - 3H	13	6,00	9,00	7,62
1% - 6H	15	6,00	10,00	7,67
2% - 3H	60	5,00	10,00	7,35
Testigo	11	4,00	9,00	8,00
Promedio				7,59
C.V				20,81%

n.s = no significativo.

4.2.7. Grados del racimo

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento Testigo tuvo el menor grado con un promedio de 39,82 y el tratamiento 0,5%-3H con un máximo de 48,00 y un promedio de 40,84 grados. El coeficiente de variación fue 3,64% (Cuadro 10). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 10).

Cuadro 10. Promedios de los grados del racimo en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	39,00	43,00	40,19 n.s
0,5% - 3H	37	39,00	48,00	40,84
0,5% - 6H	17	39,00	43,00	40,59
1% - 1H	20	38,00	43,00	40,20
1% - 3H	13	39,00	42,00	40,46
1% - 6H	15	39,00	43,00	40,53
2% - 3H	60	39,00	43,00	40,52
Testigo	11	39,00	42,00	39,82
Promedio				40,45
C.V				3,64%

n.s = no significativo.

4.2.8. Peso neto/racimo (kg)

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento 0,5%-3H tuvo un mínimo de 7,00 kilogramos y el tratamiento 0,5%-6H con un máximo de 23,00 kilogramos y un promedio de 15,54 kg. El coeficiente de variación de 21,12% (Cuadro 11). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 11).

Cuadro 11. Promedios de peso neto/racimo (kg) en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	9,50	22,00	14,83 n.s
0,5% - 3H	37	7,00	21,00	15,07
0,5% - 6H	17	8,00	23,00	16,24
1% - 1H	20	10,00	21,00	15,30
1% - 3H	13	14,00	22,00	17,04
1% - 6H	15	10,00	21,00	14,73
2% - 3H	60	11,00	22,00	15,62
Testigo	11	15,00	21,00	17,64
Promedio				15,54

C.V

21,12%

n.s = no
significativo.

4.2.9. Número de manos

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento Testigo tuvo el menor número de manos con un promedio de 5,82 y el tratamiento 0,5%-6H tuvo el mayor número con un promedio de 6,47 manos; el coeficiente de variación fue 14,86% (Cuadro 12). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05 ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 12).

Cuadro 12. Promedios del número de manos en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	5,00	8,00	6,28 n.s
0,5% - 3H	37	4,00	8,00	6,19
0,5% - 6H	17	4,00	8,00	6,47
1% - 1H	20	4,00	8,00	6,35
1% - 3H	13	5,00	7,00	6,15
1% - 6H	15	5,00	8,00	6,20
2% - 3H	60	5,00	8,00	6,52
Testigo	11	5,00	7,00	5,82
Promedio				6,23
C.V				14,86%

n.s = no
significativo.

4.2.10. Longitud de dedo (pulg)

De acuerdo con el análisis estadístico el tratamiento Testigo tuvo la menor longitud del dedo con un promedio de 6,41 pulgadas y el tratamiento 1%-3H tuvo el mayor valor con un promedio de 6,81 pulgadas. El coeficiente de variación fue 8,10% (Cuadro 13). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos por medio del Test: Scott & Knott Alfa=0,05; ni de Tukey Alfa=0,05 (Anexo 13) Cuadro 13. Promedios de longitud de dedo (pulg) en plantas tratadas con EMS en condiciones de campo. INIAP Estación Tropical Pichilingue. Universidad de Guayaquil. 2016.

Tratamientos	Número de plantas	Mínimo	Máximo	Media
0,5% - 1H	36	6,00	7,50	6,65 n.s
0,5% - 3H	37	6,00	7,50	6,62
0,5% - 6H	17	6,00	7,00	6,50
1% - 1H	20	5,00	7,50	6,55
1% - 3H	13	6,00	7,50	6,81
1% - 6H	15	6,00	7,50	6,73
2% - 3H	60	6,00	7,00	6,49
Testigo	11	6,00	7,00	6,41

Promedio	6,58
C.V	8,10%

n.s = no
significativo.

DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos en el estudio sobre susceptibilidad de plantas de banano cv. Williams tratadas con etilmetanosulfanato (EMS) a Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en condiciones de campo, se obtuvo lo siguiente: El tratamiento 0,5%-6H tuvo una menor severidad a Sigatoka negra y el tratamiento 1%-1H presentó una menor infección de hoja más joven con mancha. Esto concuerda con la FAO, (2014) que indican que el proceso de una buena técnica de mutación en bananos conlleva a una resistencia de enfermedades del cultivo. Al igual que Predieri, (2001) menciona que utilizar una mutagénesis puede llegar a alterar la resistencia en patógenos.

Los tratamientos 1%-3H y 0,5%-3H lograron tener el menor tamaño de planta; el tratamiento 0,5%-1H logró alcanzar en menor número de días a floración a cosecha y el tratamiento 0,5%-3H alcanzó el menor número de días a la cosecha. Esto concuerda con Predieri, (2001) que menciona que utilizar una mutagénesis puede llegar a alterar tamaño de la planta, época de floración y cosecha.

El tratamiento 1%-1H presentó el menor número de hojas funcionales a la cosecha. Esto concuerda con Marín *et al.*, (2003) que menciona que generalmente es necesario mantener una cantidad mínima de ocho hojas en la planta hasta el tiempo de cosecha para que la calidad de la fruta sea estable durante el transporte. Esto constituye una preocupación grave para los que producen fruto para exportación debido a las exigencias rígidas de los consumidores en los países desarrollados.

El tratamiento 0,5%-6H obtuvo el mayor peso neto/racimo (kg). Esto concuerda con Vargas *et al.*, (2009) que menciona que para garantizar un adecuado desarrollo de los racimos hasta la cosecha, hay que balancear la eliminación de las hojas infectadas con la preservación de un área mínima de superficie foliar.

El mayor número de manos la obtuvo el tratamiento 0,5%-6H. Esto concuerda con Hohmann, Jacobs y Jung, (2005); Luan *et al.*, (2007) que indican que la aplicación de los agentes mutagénicos (EMS) a diferentes dosis y horas ha sido citada en la obtención de un amplio espectro de mutantes de interés agronómico tales como en rendimiento y productividad.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En base a los resultados se concluye lo siguiente:

El tratamiento 1%-1H tuvo el mayor número de hojas por planta, número de hojas en floración y número de hojas funcionales a la cosecha, al igual que la hoja más joven con mancha.

El tratamiento 0,5%-6H obtuvo la menor severidad de Sigatoka negra, al igual que el mayor peso neto/racimo (kg) y número de manos.

El tratamiento 0,5%-3H alcanzó la menor altura de planta, al igual que el menor número de días a cosecha y el mayor número de grados del racimo.

El tratamiento 1%-3H presentó la menor altura de planta y la mayor longitud de dedo (pulg).

El tratamiento 0,5%-1H adquirió el mayor diámetro de pseudotallo y el menor número de días de floración a cosecha.

El tratamiento 0,5%-3H obtuvo el menor número de días a cosecha y el mayor número de grados del racimo.