

## Densidad estomática en materiales de plátano (*Musa* AAB, AAAB y ABB) susceptibles y resistentes a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet)

Y. Hernández<sup>1</sup>, F. Portillo<sup>1</sup>, M. Portillo<sup>1</sup>, C. Navarro<sup>1</sup>,  
M. Rodríguez<sup>1</sup> y J. Velazco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Experimental Sur del Lago "Jesús María Semprum" (UNESUR)

### Resumen

A fin de generar información básica, sobre la posible relación entre la resistencia parcial y el ataque del hongo causante de la sigatoka negra, en algunos cultivares de plátano de la zona sur del Lago de Maracaibo, se realizó un estudio sobre la densidad estomática y su influencia en la probabilidad de penetración del hongo, la cual ocurre en más de un 70%, a través de los estomas. Los materiales estudiados fueron FHIA 20, FHIA 21 y Topocho Cachaco como clones resistentes, Hartón y África como susceptibles, de los cuales se tomaron muestras foliares en posición quinta de plantas en floración. Los estomas se observaron con un microscopio óptico (40X) y contabilizaron con la ayuda de una cámara New Bauer expresando la densidad estomática por mm<sup>2</sup> tanto en el haz como en el envés de la hoja. Para la densidad estomática del envés, los valores promedios más altos fueron para el clon Hartón y África (218 y 215, respectivamente) seguido del Topocho, FHIA21 y FHIA20 (133,126 y 96, respectivamente). En el haz, el Hartón presentó el valor máximo (33) y mínimo para el Topocho (20,3). El valor mínimo de estomas en el envés se observó para el FHIA20 (96,8) y un máximo (218) para el Hartón. Los clones de plátano resistentes a la enfermedad, presentaron una menor densidad estomática en sus hojas, pudiendo tener relación directa sobre la probabilidad de invasión del hongo a la planta, e indirectamente en la eficiencia de la misma para elaborar sustancias bioquímicas capaces de frenar en mayor tiempo el avance del patógeno en la hoja.

**Palabras clave:** densidad estomática, plátano, resistencia, sigatoka negra.

### Introducción

La sigatoka negra, es catalogada como una de las enfermedades más seria que ataca al cultivo del plátano,

aun mucho más virulenta que la sigatoka amarilla, siendo necesario su control para obtener una producción

de valor comercial aceptable (9). La característica de mayor virulencia de la enfermedad, se manifiesta por una alta capacidad esporulativa, con ciclos reproductivos más cortos y elevada severidad sobre el tejido afectado (hojas), lo cual ha conllevado a los productores a implementar programas de control más continuo y una mayor utilización de agroquímicos. Es evidente que mientras más aplicaciones de productos se realicen más incidirá negativamente en los costos de producción mayor contaminación ambiental y muy posiblemente inducirá a la resistencia del hongo a estos biocidas (8). La Sigatoka negra, es causada por un hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijensis* Morelet (11 y 12). El primer síntoma de la enfermedad en forma general, aparece en el haz del limbo en forma de manchas longitudinales de un color amarillo pálido o marrón oscuro en el envés del limbo de 1 a 2 mm de largo, que aumentan de tamaño formando lesiones necróticas con halos amarillos y centros gris claro, ocasionando una disminución en la producción por la violenta reducción del área foliar y por consiguiente, de la capacidad fotosintética de las plantas (9).

Las conidias y ascosporas son los medios de propagación de la enfermedad y su difusión en la plantación es principalmente por el viento, pudiendo ser muy alta la tasa de esporulación del hongo si las condiciones climáticas son favorables. Una vez que el hongo llega a la planta, la penetración del mismo dentro de los tejidos ocurre en más de un 70% a través de los estomas de las hojas. Se ha

demostrado a través de observaciones en microscopio, que justo después del que el hongo penetra por los estomas, se producen reacciones químicas de hipersensibilidad que evitan la expansión del patógeno por el tejido vegetal. Pero en muchos casos, el patógeno supera rápidamente esta resistencia química y por consiguiente no es duradera (1). Algunos estudios realizados en evaluaciones sobre las características morfológicas y fisiológicas de los estomas en hojas, mostraron que la resistencia a la Sigatoka negra, es debida principalmente a mecanismos no estomáticos (14). Sin embargo, la densidad estomática es uno de los mecanismo de resistencia estructural que actúan como barreras físicas que impiden la penetración del patógeno en la planta (6). Además, el número de estomas puede indicar la eficiencia de determinada especie vegetal en el proceso de respiración y fotosíntesis, que contribuyen, entre otras funciones, en la formación de sustancia químicas capaces de frenar el avance del patógeno en la hoja (1). La introducción de plátanos de resistencia a la Sigatoka negra, en los programas clásicos de mejoramiento, se basan en la utilización de la resistencia encontrada en especies silvestres de musa e híbridos obtenidos (4). En banano los análisis anatómicos mostraron que la densidad estomática en la superficie de las hojas es inversamente proporcional a la ploidía, ya que la poliploidía trae consigo un aumento en el tamaño de las células. Esta diferencia no es significativa entre los materiales diploides y tetraploides de *Musa* (2). Los cono-

cimientos básicos aportados en esta investigación, permitirá relacionar cuales son algunos de los componentes específicos de la resistencia parcial que pueden reducir significativamente la tasa de desarro-

llo de la enfermedad en el campo, brindando además, información carente sobre la densidad estomática de clones susceptibles y tolerantes utilizados en la zona.

## Materiales y métodos

El estudio se llevó acabo en la zona Sur del Lago de Maracaibo, la cual pertenece a la clase de bosque húmedo tropical, con una altura de 54 metros sobre el nivel del mar, precipitación acumulada anual de 1331,8 milímetros, temperatura promedio al año de 28,06°C y humedad relativa de 82,7 por ciento; vientos con velocidades de 4,7 kilómetros por hora durante casi todo el año (10). Para el estudio se buscaron materiales de plátano, con demostrada susceptibilidad y resistencia a la sigatoka negra, encontrándose respectivamente en ese orden los clones África y Hartón (AAB) (5), como susceptibles y FHIA 21 (AAAB), FHIA 20 (AAAB) (3) y el clon "Cachaco" o Topocho (ABB) como resistentes a la enfermedad (7). Las muestras foliares de plátano, para los materiales Hartón, África, FHIA 21 y FHIA 20, fueron colectadas del banco de germoplasma de Musáceas del Centro Internacional del Plátano (CIPLAT) y para el clon Cachaco en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), kilómetro 41 vía El Vigía, Estación Chama, (Lat N:8°43'27":Long W:71°44'33"). Para ello se seleccionaron 8 plantas en estado de floración o fructificación, exceptuando al material FHIA 20 en donde solo se recolectaron muestras

de 2 únicas plantas jóvenes de 3 a 4 hojas emitidas, tomándose muestras de aproximadamente 25 cm<sup>2</sup> de la parte media del limbo de cada lado de la quinta hoja de cada planta, contada desde el ápice a la base. Luego las muestras foliares fueron identificadas y preservadas con un fijador químico, FAA (Formol 75%, Etanol 10% y Ácido Acético glacial 15%). Posteriormente, a cada muestra se les realizaron cortes con desprendimiento de la epidermis, tanto del haz como del envés, con hojillas de afeitar nuevas (enteras). Cada corte fue colocado en el centro del área grabada de la rejilla de una cámara Newbauer, añadiendo luego con un gotero un poco menos de una gota de agua al corte y a la rejilla de la cámara, para evitar la deshidratación rápida del tejido (epidermis), tapándose luego la muestra con un cubre objeto y observándose con un microscopio óptico (aumento del ocular 10X y objetivo de 40X). En las observaciones, solo se contabilizaban los estomas tanto del haz como del envés que entraban al azar en cada uno de los 16 cuadros de 0,0625 mm<sup>2</sup> que componían al cuadro central de 1 mm<sup>2</sup> de la cámara, procurando mover la muestra en el microscopio de forma tal en no volver a tomar la misma zona observada previamente, hasta alcan-

zar un total de 100 cuadros o repeticiones mínimo por muestra de cada lado de la hoja y provenientes de los diferentes clones evaluados. El número de estomas observado, fue calculado por milímetro cuadrado ( $e/mm^2$ ) y los valores tabulados, fueron analiza-

dos (ANOVA) bajo el paquete estadístico SAS bajo ambiente WINDOWS, para calcular la media, valores máximos y mínimos y correlaciones en los estomas presentes tanto en el haz como del envés.

## Resultados y discusión

Para el número de estomas en el envés (cuadro 1), los valores promedios más altos fueron para los clones Hartón y África 218 y 215.7  $e/mm^2$  respectivamente, seguidos por el Cachaco, FHIA21 y FHIA20, 133.4 - 126 - 96.8  $e/mm^2$  respectivamente, a casi la mitad del número de estomas encontrados para los clones Hartón y África. El valor mínimo de estomas en el envés se encontró para los FHIA 20 y 21 con 72 y 48  $e/mm^2$  y un valor máximo de 352  $e/mm^2$  para el material Hartón. En estos resultados, a

pesar de no encontrarse diferencias significativas en el envés entre los clones evaluados, se pudo observar que la densidad estomática es menor en los materiales resistentes, contrario a los clones susceptibles con mayor densidad estomática. Lo anterior coincide con lo reportado por Trujillo *et al.* (1997), pero en este caso se evaluó la relación entre la densidad estomática y la resistencia a Sigatoka amarilla (13). Para el Haz, los resultados no mostraron diferencias significativas entre todos los materiales

**Cuadro 1. Valores promedios de Densidad Estomática en los clones Hartón (H), FHIA21 (F21), FHIA 20 (F20) África (A) y Topocho Cachaco (CA).**

Variable	Media $e/mm^2$	Desviación estándar	Valor mínimo $e/mm^2$	Valor máximo $e/mm^2$
HH	33,056	15,04	0	64
HE	218,18	40,368	104	352
F21H	30,096	13,504	0	60
F21E	126,1	24,176	72	192
AH	25,6	15,264	0	64
AE	215,71	37,42	112	304
F20H	25,648	13,36	0	64
F20E	96,89	15,84	48	128
CAH	20,352	11,04	0	48
CAE	133,4	19,23	64	176

H: haz E: envés  $e/mm^2$ : estomas por milímetro cuadrado

utilizados, con un valor promedio máximo correspondiente al Hartón (33.05 e/mm<sup>2</sup>), seguido por el FHIA21, África y FHIA20 (30,09 – 25,66 – 25,64 e/mm<sup>2</sup> respectivamente) y un valor mínimo para el clon cachaco (20,35 e/mm<sup>2</sup>). En otros estudios realizados sobre la densidad estomática en el Haz, se encontró que en clones de Topocho, Dominico topocho y Topocho negro, densidades de 32, 37 y 48,1 e/mm<sup>2</sup> y en el material "plátano vega" valores de 68,1 e/mm<sup>2</sup> (3). Solamente se encontró una correlación significativa y positiva (P<0,05) entre el número de estomas del haz y el envés para el clon Hartón. Al igual como lo reportado en otros clones de *Musa*, todos los clones de plátano presentaron una mayor densidad estomática en el envés que en el haz (13). Al considerar el nivel de ploidía y la densidad estomática entre los materiales de *Musa* estudiados en esta

investigación, no se observó una relación muy clara entre ambas características, ya que al realizar comparaciones entre los materiales resistentes, topocho Cachaco triploide y los FHIA 20 y 21 tetraploides, todos presentaron valores de densidad estomática bajos. Estos resultados concuerdan con los reportados en otras investigaciones, donde clones triploides susceptibles (Brasilero y Píneo Gigante) y resistentes (CIEN BTA-03), presentaron valores de densidad estomática bajos (13). De forma parecida, al estudiar la resistencia a Sigatoka negra en relación con el nivel de ploidía, se ha encontrado que clones tetraploides de *Musa*, FHIA 20 y 21, estos presentaron alta resistencia al patógeno, pero en tetraploides de FHIA 16, 04 y 05 mostraron de moderada a alta susceptibilidad a la enfermedad respectivamente (3).

## Conclusión

Los clones de plátano, FHIA 20, FHIA21 y topocho "Pelipita" caracterizados como materiales resistentes a la Sigatoka negra, presentaron una densidad estomática mucho menor a la de los clones de plátano Hartón y África o ma-

teriales no resistentes a la enfermedad.

La densidad estomática, bajo ciertas condiciones bioclimáticas y del cultivo, podría ser uno de los factores importantes de regulación negativa a la entrada del hongo dentro de la planta.

## Literatura citada

1. Beveraggi, A., M.F. Zapater y X. Mourichon. 1995. Análisis de la resistencia de los bananos a la Sigatoka negra causada por *Mycosphaella fijensis* (*Cercospora fijensis*). CIRAD-CA. Montpellier (FRA). Extraído de Referencias bibliográficas *Musa* Doc- 1999, sobre bananos y plátanos de las Memorias XIII Reunión
2. ACORBAT, Guayaquil, Ecuador. 1998. 6-11.
2. Borges, O.L. 1992. Tamaño y densidad de estomas en clones cultivados y especies silvestres de *Musa*. *Agronomía Tropical*. Volumen XXI. Número 2. p 139 - 143.

3. Coto, J., E. Rosales, P. Rowe y J.M. Rivera. 1994. Reacción a Sigatoka Negra y comportamiento agronómico de plátanos híbridos (AAAB) sometidos a desmanes. Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas (FHIA). Memorias de la XI reunión de ACORBAT. San José de Costa Rica. p399.
4. Craenen, K y R. Ortiz. 1997. Efecto del gen bsl en respuesta a la Sigatoka negra en híbridos de plátano. Theoretical and Applied Genetics (USA). 95 (3), 497-505.
5. Haddad, O. y O. Borges. 1992. Identificación de clones de bananos (cambures y plátanos) en Venezuela. Centro de Investigaciones Agronómicas, Sección Fitotecnia, Maracay. Agronomía Tropical 21(4):277-286.
6. Hermoso, L., H. Lindorf y E. de García. 1997. Anatomía Foliar del Variante Somaclonal (CIEN BTA 03) *Musa* sp, resistente a la Sigatoka Amarilla. *Anales de Botánica Agrícola*. 4:63-67.
7. Jiménez, F y N. Vásquez. 1996. Estudio de la densidad y distribución estomática en Musáceas de diferentes ploidía. CATIE, Turrialba. Extraído de Referencias bibliográficas Musa Doc- 1999, sobre bananos y plátanos de las Memorias XIII Reunión ACORBAT, Guayaquil, Ecuador. 1998.p 4.
8. Madrigal, A y W. Ruess. 1998. CGA245704 un nuevo activador de plantas para aumentar la resistencia natural del cultivo del banano contra Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Extraído de Referencias bibliográficas sobre bananos y plátanos de las Memorias XIII Reunión ACORBAT, Guayaquil, Ecuador.p.266-274.
9. Martínez, G., R. Pargas y D. Muños. 1997. "La Sigatoka negra y su avance en el territorio Venezolano: implicaciones socioeconómicas". Consultado en: <http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd59/sigatok.html>
10. Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales Renovables (MARNR). 1996. Datos Climatológicos, Estación Santa Bárbara, años 1968-1996. El Vigía, Edo. Mérida, Venezuela.
11. Nava, C. 1997. El Plátano, su cultivo en Venezuela. Ediciones Astro Data. Maracaibo. 122p.
12. Pineda, J., A. Carrasco, R. Cardona y R. Cooz. 1997. Presencia de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en las principales zonas plataneras de Venezuela. Bioagro 9(2): 52-60. 1997
13. Trujillo, I., L. Hermoso y E. de García. 1997. Caracterización estructural de clones de banano: resistentes y no resistentes a la Sigatoka Amarilla. *Anales de Botánica Agrícola*. 4:59-62.
14. Vuylsteke, D.R., I. Ekanayake y R. Ortiz. 1998. Conductancia estomática de las hojas y morfología de los estomas del material genético de *Musa*. *Euphytica*. (NDL) Vol. 99(3), 211-229.