

Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano

Physiological effect of *Mycosphaerella fijiensis* in banana leaves

Paola Andrea Rodríguez-Gaviria¹ y Gerardo Cayón²

RESUMEN

Las tasas de fotosíntesis y transpiración, la concentración de azúcares reductores y no reductores, de almidón y el contenido de clorofila fueron cuantificados en hojas de banano con y sin síntomas de sigatoka negra, enfermedad causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Las hojas enfermas presentaron alteraciones en todas las variables fisiológicas evaluadas, determinándose una pérdida notable de biomasa y de pigmentos fotosintéticos desde los estadios iniciales de infección, afectando directamente procesos fisiológicos básicos como fotosíntesis y transpiración. Estos dos procesos, así como la resistencia y la actividad estomática, se alteraron en relación directa con el aumento de la severidad de la enfermedad. Se observó un daño severo de las cavidades estomáticas, causado por la penetración del hongo y por la extrusión del inóculo para nuevas infecciones. También, disminuciones en las concentraciones de almidón y azúcares desde los inicios de la infección, relacionadas presumiblemente con el consumo de estos compuestos por el hongo, ya que son necesarios para su nutrición. Todas las variables evaluadas se relacionan con procesos fisiológicos básicos, lo que indica que existen daños irreparables en los tejidos de la hoja que impiden el funcionamiento adecuado de la planta y que inciden directamente sobre su desarrollo y producción. A partir de los primeros estadios de la enfermedad se observan daños irreparables en los tejidos celulares; sin embargo, los mayores efectos se observan en el estadio 4, lo que indica la necesidad de un control temprano de la enfermedad.

Palabras clave: enfermedades de plantas, sigatoka negra, fotosíntesis, transpiración, interacción planta-patógeno.

ABSTRACT

Rates of photosynthesis and transpiration, and chlorophyll, sucrose, starch and reducing sugar contents were quantified in banana leaves with and without black sigatoka, a disease caused by the fungus *Mycosphaerella fijiensis* Moleret. The disease affected all physiological variables. Biomass and photosynthetic pigments were affected from the earliest infection stages and this effect was related to photosynthesis and transpiration process. These two processes, as well as resistance and stomata activity, were more affected as disease severity increased. Fungal penetration and release of conidia caused severe damage in the stomata structures. Decreases in starch and sugar concentrations occurred from the onset of infections and were presumably related to the consumption of these compounds by the fungus during penetration. All the measured variables are related to basic physiological processes indicating severe damages in banana leaf tissues that affect plant function, growth and production. Irreversible cell damages are caused at the earliest disease stages, however, the most severe effects are observed at the fourth stage. These results suggest the necessity of an early disease control for a good crop management.

Key words: plant diseases, black sigatoka, photosynthesis, transpiration, plant-pathogen interaction.

Introducción

La sigatoka negra se ha constituido en la principal limitación fitosanitaria para la industria bananera y es considerada como la enfermedad foliar más importante en los países tropicales productores alrededor del mundo (Balint-Kurti *et al.*, 2001; Merchán, 1996; Marín *et al.*, 2003; Belálcazar *et al.*, 1991). *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, patógeno

causante de esta enfermedad, ataca las hojas produciendo un rápido deterioro del área foliar, afectando el crecimiento de la planta y su productividad al disminuir la capacidad fotosintética e induciendo la maduración prematura de los racimos (Marín *et al.*, 2003).

El proceso de infección de las especies de *Mycosphaerella* de importancia económica, como *M. fijiensis*, *M. eumu-*

Fecha de recepción: febrero 29 de 2008. Aceptado para publicación: julio 10 de 2008

¹ Líder, área Fitosanidad, Cenibanano-Augura, Urabá (Colombia). prodriiguez@augura.com.co

² Profesor asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. dgayons@unal.edu.co

sae y *M. musicola* en plantas de banano y de *M. tritici* en trigo, es muy similar, por lo que pueden relacionarse para tratar de interpretar y determinar la importancia de la interacción planta-patógeno y sus efectos patogénicos en los hospedantes (Balint-Kurti *et al.*, 2001; Balint-Kurti y Churchill, 2004). Los estudios citológicos realizados por Lepoivre *et al.* (2002) demuestran que *M. fijiensis* es un parásito biotrófico en los primeros estadios, que coloniza inicialmente los espacios intercelulares sin la formación de haustorios. Mediante la transformación de cepas con el gen de proteína verde fluorescente, Balint-Kurti *et al.* (2001) confirmaron el comportamiento biotrófico en los primeros estados de desarrollo para las especies de *Mycosphaerella* relacionadas con banano; Rohel *et al.* (2001) indicaron este mismo estado para *M. graminicola* en trigo. Posterior a la penetración, las hifas crecen entre las células dentro del tejido, que se torna necrótico, momento en que el hongo crece saprofiticamente en el tejido muerto; por esto es clasificado con un hongo hemibiotrofo, por su compleja interacción con el hospedante (Lepoivre *et al.*, 2002; Kema *et al.*, 1996).

Estos patógenos presentan tubos germinativos que regularmente germinan a lo largo de las células guarda de los estomas, entrando al tejido vegetal exclusivamente por la vía estomática y colonizando los espacios intercelulares (apoplasto) entre las células del mesófilo antes de generar las primeras alteraciones citológicas del tejido. Existe un período, antes de la penetración, en el que el hongo permanece en forma latente sobre la cutícula, lo que sugiere una fase de comensalismo con el hospedante antes de que comience la infección que se explicaría mediante el paso de nutrientes en pequeñas cantidades a la superficie (Lepoivre *et al.*, 2002; Kema, 1996).

Washington *et al.* (1998) reportan que el sitio de infección primaria de *M. fijiensis* es el envés de la hoja; esto concuerda con las observaciones de otros autores, que reportan que la densidad de estomas en hojas de musáceas es mayor en el envés de la hoja y en el ápice, sitios donde el tubo de germinación del hongo tiene una mayor probabilidad de penetrar (Sandoval y Muller, 1999; Cayón *et al.*, 1991). Los estomas intervienen en los procesos fisiológicos básicos de intercambio de gases, porque su dinámica de apertura y cierre permite regular el flujo de CO₂ y vapor de agua; en consecuencia, la fotosíntesis y la transpiración dependen directamente de su actividad, su resistencia y su grado de apertura. Internamente existe un equilibrio acuoso reflejado por la turgencia de las células guardas y la apertura de los estomas, con efectos directos en la fotosíntesis, el metabolismo de los carbohidratos y nitrógeno y demás procesos metabólicos (Sánchez-Díaz y Aquirreola, 2000).

Cayón *et al.* (1995) realizaron un análisis de la relación entre estas variables morfológicas y fisiológicas y la productividad en el cultivo del plátano y encontraron que la fotosíntesis se correlacionó positivamente con la transpiración y el contenido de clorofila en cualquier estado de desarrollo de la hoja, demostrando que el proceso fotosintético está ligado funcionalmente con el de transpiración y depende de la concentración de clorofila en la lámina foliar. En trabajos posteriores, Cayón (2001) determinó, en materiales de plátano con diferentes grados de resistencia a sigatoka negra, la relación entre la actividad del proceso de intercambio gaseoso con la mayor concentración de clorofila que presentan las hojas y la mejor captación de radiación fotosintéticamente activa (RFA) que realiza el dosel de la planta, encontrando que las mayores tasas de fotosíntesis y conductancia estomática correspondieron a materiales con mayores niveles de resistencia a enfermedad, correlacionadas positivamente con la concentración de clorofila, el peso foliar específico y la conductancia estomática.

Son evidentes los efectos fisiológicos que causan los patógenos en las plantas, pero muchos de los eventos que ocurren están poco documentados o entendidos. La información referente al tema para el patosistema *M. fijiensis*-banano es escasa, razón por la que este trabajo se propuso como objetivo dilucidar el efecto que causa esta enfermedad en plantas de banano sobre procesos fisiológicos como el intercambio de CO₂, la transpiración, el contenido de clorofila, la tasa fotosintética y el metabolismo de los carbohidratos.

Materiales y métodos

Peso fresco y seco, peso foliar específico

Se tomaron muestras de hojas de *Musa* AAA cv. Gran Enano afectadas por el patógeno, correspondientes a cada uno de los grados de severidad de la enfermedad según la escala de Stover modificada por Gauhl (1989) (tabla 1); además, se tuvieron en cuenta los estadios de cada lesión según la escala de Fouré (1985) (tabla 2). Se seleccionó como área foliar para el trabajo a porciones de hoja de 450 cm² tomadas en plantas al azar, en una finca comercial ubicada en el municipio de Carepa (Antioquia), con condiciones climáticas promedias de 26,5 °C, 2.650 mm de precipitación anual y 87% de humedad relativa. Se tomaron 25 repeticiones, asegurando que cada porción correspondiera al daño de cada grado de severidad. A cada muestra se le realizó la medición del peso fresco (PF) y, después de secada a una temperatura de 60 °C durante 24 h, se midió el peso seco (PS), con el que se estimó el peso foliar específico (PFE), un indicador del grosor de la superficie foliar. El PFE se calculó mediante la relación del PS y el área foliar del sector tomado como muestra (450 cm²). Con la medición de estas variables

TABLA 1. Escala de Stover modificada por Gauhl (1989) para grados de severidad de sigatoka negra en *Musa sp.*

Grado de severidad	Descripción de la severidad
0	Sin síntomas
1	<1% de área foliar afectada y/o hasta 10 estrías
2	1-5% de área foliar afectada
3	6-15% de área foliar afectada
4	16-33% de área foliar afectada
5	34-50% de área foliar afectada
6	>50% de área foliar afectada

se buscó determinar el impacto de la infección del hongo en sus diferentes grados de ataque sobre la acumulación de biomasa en la hoja afectada.

Contenido de clorofila

Para la determinación de la concentración de clorofila se utilizó el método de extracción con etanol (Wintermans y De Motts, 1965), en discos foliares de 1,3 cm² tomados del sector foliar correspondiente a cada estadio de la enfermedad, según la escala de Fouré. La extracción de los pigmentos se realizó macerando en frío cada disco foliar en un mortero con 4 mL de una solución fría de MgCO₃ (0,5 g·L⁻¹) en etanol al 98%. El extracto se transfirió a un tubo y se lavó el mortero con 4 mL de la misma solución de etanol para completar un volumen final de 8 mL. La separación del extracto se hizo por centrifugación a 3.000 g durante 5 min. Al extracto etanólico obtenido se le leyó la absorbancia (A) a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro Genesys 2. A partir de estos datos, se calcularon las concentraciones de clorofila a (Cla), clorofila b (Clb) y clorofila total (Clt), con base en las siguientes ecuaciones:

$$Cla = [(12,7 \times (A_{663}) - 2,69 \times (A_{645})) \times 8]/(1000 \times PS)$$

$$Clb = [(22,8 \times (A_{645}) - 4,48 \times (A_{663})) \times 8]/(1000 \times PS)$$

$$Clt = [(20,2 \times (A_{645}) - 8,02 \times (A_{663})) \times 8]/(1000 \times PS),$$

donde PS corresponde al peso seco del disco foliar.

Fotosíntesis y transpiración

Para la determinación de las tasas de fotosíntesis y transpiración, se tomaron 10 lecturas en sectores de las hojas con cada grado de severidad de la enfermedad, según la escala de Stover modificada por Gauhl, entre 7:00 am y 2:00 pm bajo condiciones de exposición solar plena, con el sistema portátil de fotosíntesis Li-6200 (Li-Cor, Nebraska).

Almidón y azúcares

La concentración de almidón se midió por el método de hidrólisis enzimática y la de azúcares, por el método de antrona, en los laboratorios del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Palmira (Colombia). Se tomaron porciones de las hojas afectadas para cada estadio de la enfermedad, se secaron en horno a 60 °C y se enviaron al laboratorio para su evaluación.

Densidad de estomas

Para determinar la actividad de los estomas en cada estadio de infección, se tomaron porciones de 2 cm² de tejido afectado y se dejaron por 24 h en una solución de hipoclorito de sodio al 3,5%. Se montaron en placas de vidrio para determinar al microscopio el número de estomas y su grado de daño. Se cuantificó la cantidad de estomas por milímetro cuadrado de lámina foliar, para determinar el porcentaje de estomas afectados por efectos del patógeno.

A todas las variables medidas se les realizó un análisis de varianza, usando el procedimiento GLM; además del análisis de regresión con el programa SAS. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($P < 0,01$).

TABLA 2. Escala de Fouré (1985) para estadios de la sigatoka negra en *Musa sp.*

Estadio	Descripción
1	Pequeñas decoloraciones menores de 1 mm de longitud, de color blanco-amarillento, visibles sólo en el envés de la hoja. No son visibles a contraluz
2	Estrías de 2-3 mm de longitud de color café rojizo, visibles en haz y envés
3	La estría aumenta su grosor y longitud, se mantiene de color café rojizo
4	Manchas ovales de color café en el envés y negro en el haz
5	Manchas negras rodeadas de un halo amarillento y centro semihundido
6	Manchas con centro hundido de color blanco grisáceo

Resultados y discusión

Peso fresco hoja (PF)

La variable PF permite describir la pérdida de biomasa causada por la enfermedad, al comparar tejidos con grados crecientes de severidad (figura 1). El mayor valor de PF lo presentaron las hojas sanas, que expresan todo su potencial fisiológico y productivo. Los PF de los grados 1, 2 y 3 no fueron significativamente diferentes entre sí, pero sí con los de las hojas sanas, observándose que las lesiones de la enfermedad, aun en estadios correspondientes a pizzas y a lesiones pequeñas, inducen la reducción del peso fresco de la hoja, posiblemente como consecuencia de la pérdida de humedad por muerte celular. A partir del grado 3 se observó una diferencia notoria en la disminución del PF causado por la enfermedad, siendo a partir de este grado donde comienzan a observarse diferencias estadísticas significativas del efecto de las lesiones. Los grados 4, 5 y 6 difieren estadísticamente entre sí y con los menores grados de la enfermedad, observándose que a partir de estos estadios el hongo genera graves desordenes fisiológicos en la planta.

Peso seco hoja (PS)

El peso seco de la hoja aumentó con el grado de severidad de la enfermedad (figura 1). Esta biomasa del tejido foliar en el grado de mayor severidad es atribuible al peso del hongo con sus estructuras reproductivas que se encuentra en los tejidos de la hoja afectada por la enfermedad. Entre los grados 1 y 5 de severidad no se observaron diferencias respecto a esta variable, pero se encontró diferencia estadística significativa al comparar el grado 0 con los grados 2, 4, 5 y 6. El grado 6 presentó el

mayor peso seco, diferenciándose significativamente de todos los demás grados de severidad de la enfermedad.

Peso foliar específico (PFE)

Una forma de estimar la fotosíntesis de la planta es mediante la determinación del peso foliar específico de la hoja. Esta variable, indicadora de la producción de materia seca por unidad de superficie foliar, tuvo el mismo comportamiento del peso seco de la hoja, presentando un aumento en su valor conforme aumentó el grado de severidad de la enfermedad (figura 1). Se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con diferencias marcadas respecto a la hoja sana a partir del estadio 4. En parte, el comportamiento de esta variable se atribuye al aporte de la biomasa del hongo dentro del tejido vegetal, antes que a alguna acumulación de materia seca estimulada por la enfermedad. Como el PFE puede relacionarse con el grosor de la hoja, debido al número de capas de células en empalizada y tamaño de ésta (Marini y Sowers, 1990), es posible que, a medida que la sigatoka avanza, el grosor del mesófilo también aumente a causa de las estructuras presentes del patógeno. Las diferencias observadas en el PFE también podrían deberse a diferencias estructurales anatómicas y morfológicas inducidas en el tejido por la acción del hongo al colonizar los tejidos de empalizada del mesófilo foliar, lo que trae como consecuencia el incremento de la biomasa de la hoja, como se observa en el estadio 6 de la enfermedad.

Contenido de clorofila

La figura 2 presenta el contenido de clorofila total de la hoja, expresado en miligramos por centímetro cuadrado

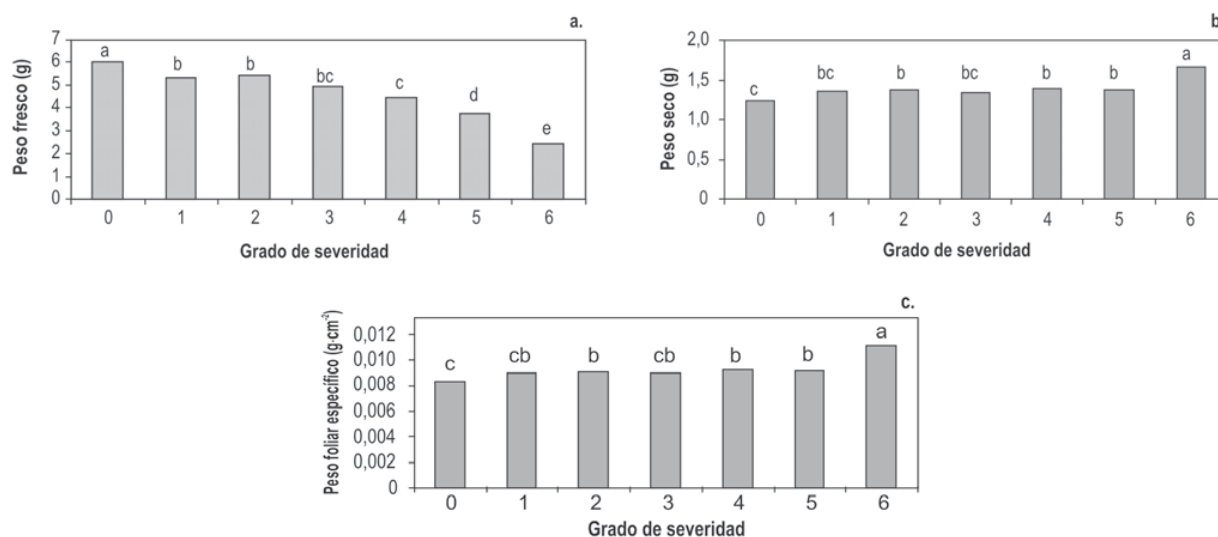


FIGURA 1. Efecto de la severidad del ataque de la sigatoka negra sobre las hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, en: a) peso fresco, b) peso seco y c) peso foliar específico. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

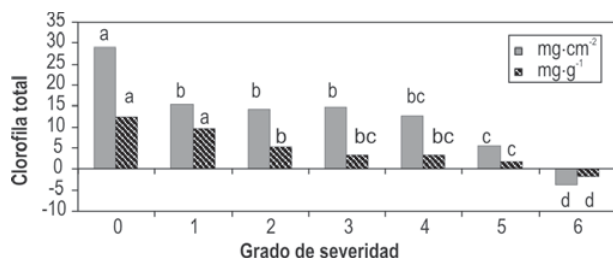


FIGURA 2. Contenido de clorofila total en hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, con diferentes grados de severidad de sigatoka negra. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

de hoja y miligramos por gramo de peso seco de la hoja; se observa que ambos disminuyeron considerablemente con el aumento del grado de severidad de la enfermedad. Las hojas sanas presentaron diferencias estadísticas significativas con las hojas enfermas en cualquier grado de severidad de la enfermedad (figura 1); el contenido de la clorofila total se redujo en 50% cuando la severidad alcanzó el grado 2 (menos de 5% del área foliar afectada) y tuvo valores inferiores a cero cuando la severidad superó 50% del área foliar afectada, lo que evidencia el efecto directo del patógeno en el contenido de clorofila de la hoja desde los primeros síntomas de la enfermedad. La reducción en la concentración de clorofila observada desde las primeras horas de inoculación y coincidente con los primeros estadios de las lesiones, se puede explicar por el detrimento en la forma y ubicación de los cloroplastos dentro de la célula, los cuales se condensan y, junto con el núcleo, se relocalizan hacia la pared celular antes de colapsar (Kema *et al.*, 1996; Hoyos *et al.*, 2006). Hoyos *et al.* (2006) reportan además otro cambio en la ultraestructura celular de la planta, relacionado con la degradación de las células del mesófilo y de los espacios aéreos intercelulares, cuyos daños en el tejido se vinculan directamente con los procesos de transpiración y fotosíntesis. Aunque la pérdida de clorofila es un síntoma típico observado durante la senescencia foliar, su desaparición es más lenta que la de otros componentes fotosintéticos (Friedrich y Huffaker, 1980; Holloway *et al.*, 1983; Kura-Hotta *et al.*, 1987; Makino *et al.*, 1983).

Fotosíntesis

La tasa de fotosíntesis de la hoja disminuyó al aumentar el grado de severidad de la enfermedad (figura 3), y se encontraron diferencias significativas entre las hojas sanas y las hojas enfermas con cualquier grado de severidad, siguiendo el mismo comportamiento descrito para el contenido de clorofila en las hojas. Hubo diferencias significativas en la tasa de fotosíntesis entre las hojas sanas y las hojas enfermas con cualquier grado de severidad; los grados 2 y 3 no mostraron diferencias entre sí, y el grado 4 tuvo una dismi-

nución de la tasa fotosintética cercana a 30%. A partir del grado 5 se determinaron valores cercanos a cero y valores negativos, indicando que no existe actividad fotosintética alguna por el grado de daño del tejido fotosintético. Estos resultados coinciden con los reportados por Hidalgo *et al.* (2006) en plántulas de banano inoculadas bajo condiciones de invernadero y confirman la necesidad de realizar un control temprano de la enfermedad para evitar que las plantas sufran los procesos de senescencia causados por el hongo. En clones de plátano, Cayón *et al.* (1991) reportaron que la tasa máxima de fotosíntesis está correlacionada con el contenido de clorofila en las hojas, que limita el proceso fotoquímico. La tasa de fotosíntesis debe ser proporcional a la concentración de clorofila en las hojas y disminuye cuando la concentración se encuentra por debajo de los niveles óptimos para el proceso (Cayón *et al.*, 2001).

La sigatoka negra induce y acelera la senescencia de las hojas afectadas por reducir drásticamente la tasa fotosintética, lo que supone que se afecta la actividad de las enzimas fotosintéticas. Estudios realizados para aclarar el mecanismo de reducción de la fotosíntesis durante la senescencia de las hojas indican que este fenómeno se debe a cambios en la concentración y cinética de la enzima rubisco (Evans, 1986; Makino *et al.*, 1985). La actividad de la cadena de transporte de electrones, correlacionada positivamente con la fotosíntesis, también disminuye durante la senescencia foliar, demostrando que la reducción de la fotosíntesis es causada, principalmente, por la degradación funcional del los sistemas fotosintéticos (Camp *et al.*, 1982; Holloway *et al.*, 1983; Kura-Hotta *et al.*, 1987).

Transpiración, resistencia estomática

La tasa de transpiración disminuyó con el incremento de la severidad de la enfermedad, siendo más drástica la reducción en los estadios 4, 5 y 6. Las hojas sanas no presentaron diferencias estadísticas significativas con las hojas enfer-

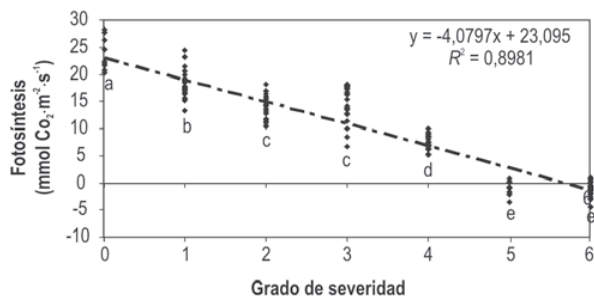


FIGURA 3. Tasa de fotosíntesis en hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, con diferentes grados de severidad de sigatoka negra. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

mas en los tres grados más bajos de severidad. Las tasas máximas y mínimas de transpiración las presentaron los grados 2 y 6, respectivamente, con diferencias estadísticas significativas (figura 4). Esto concuerda con los resultados encontrados por Hidalgo *et al.* (2006) en plántulas de banano bajo condiciones de invernadero, que indican que la tasa de transpiración disminuye conforme aumenta el porcentaje de área foliar afectada por la sigatoka negra.

La resistencia estomática aumentó con la severidad de la enfermedad, sin presentarse diferencias significativas entre los primeros tres grados evaluados. A partir del grado 4 hubo un aumento de cuatro veces el valor de la resistencia estomática, con diferencia significativa frente a los anteriores grados de la enfermedad; en el grado 5 se determinó el mayor valor, pasando en el estadio 6 a un valor muy similar al de los primeros estadios. Este cambio en la resistencia estomática se debe al bloqueo de las cavidades estomáticas por el hongo, primero al penetrar en el tejido al inicio del proceso de infección y, posteriormente, al llenarlas con sus estructuras de reproducción. Este bloqueo de las cavidades estomáticas afecta también la regulación de la pérdida de agua y la toma de CO₂ y, por lo tanto, el adecuado proceso de fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2002). Estos resultados permiten proponer una relación directa entre la actividad y resistencia estomática y los procesos de transpiración y fotosíntesis, los cuales se comprometen en el desarrollo de la enfermedad en las hojas. Belalcázar *et al.* (1991) reportan que la penetración mecánica por el estoma por parte del hongo compromete el proceso de la fotosíntesis al reducir la conductividad estomática.

La transpiración está controlada por la apertura de los estomas y es el factor dominante en las relaciones hídricas de la planta. Los cambios en la resistencia y apertura estomática son importantes para la regulación del agua en la planta, controlando la tasa de toma de CO₂ para su

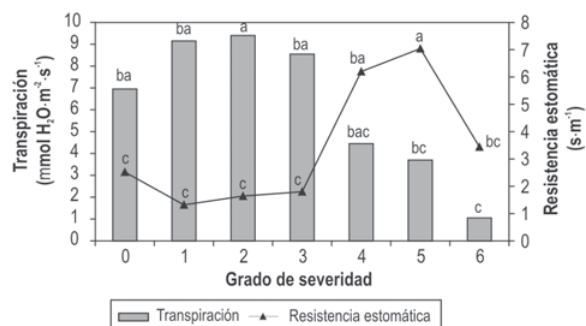


FIGURA 4. Transpiración y resistencia estomática en hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, según la severidad de sigatoka negra. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

fijación durante el proceso de fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2002; Thomas y Turner, 1998; Brun, 1961). La disminución del contenido hídrico reduce el coeficiente de fotosíntesis y la tasa de respiración, presentándose una reacción en cadena de pérdida de turgencia, cese del ensanchamiento celular, reducción de la fotosíntesis e interferencia con el metabolismo, causando la desorganización del protoplasma y la muerte celular (Kramer, 1989). Con los resultados obtenidos, se demuestra que todos estos aspectos fisiológicos son afectados por la infección de la sigatoka negra en las plantas de banano.

Apertura de los estomas

La actividad de los estomas (figuras 5 y 6) se afectó con el aumento en el daño en las hojas por causa de la enfermedad. En los primeros estadios, aunque no hay diferencias significativas, se observó una disminución en la densidad de estomas abiertos por milímetro cuadrado, siendo a partir del grado 4 donde se observó una reducción de hasta 75% de la apertura estomática; en el grado 5 sólo 13% de los estomas permanecieron abiertos, mientras que en el mayor grado de severidad (6) no se observaron cavidades estomáticas en la hoja. Entre estos dos últimos grados de severidad no se presentaron diferencias significativas en los estomas abiertos que presenta el tejido de la hoja de banano. Estos resultados se relacionan con las observaciones de Hoyos *et al.* (2006), quienes indican que los peritecios observados en el tejido necrosado por la enfermedad corresponden a aquéllos que emergen por los estomas y por donde se liberan las ascosporas.

Los estudios histológicos indican daños en el tejido foliar y en los estomas desde el primer estadio de la enfermedad, en el que se reporta la degradación de las células subsidiarias del estoma; estos daños continúan y se acentúan en los siguientes estadios de desarrollo del patógeno, en los que se observa un deterioro total de la cavidad estomática (Hoyos

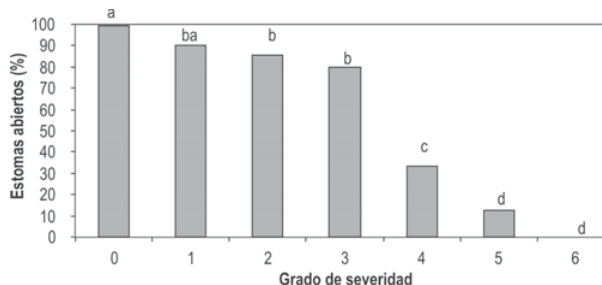


FIGURA 5. Estomas abiertos en hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, con diferentes grados de severidad de sigatoka negra. Letras distintas indican diferencia estadística significativa ($P < 0,01$).

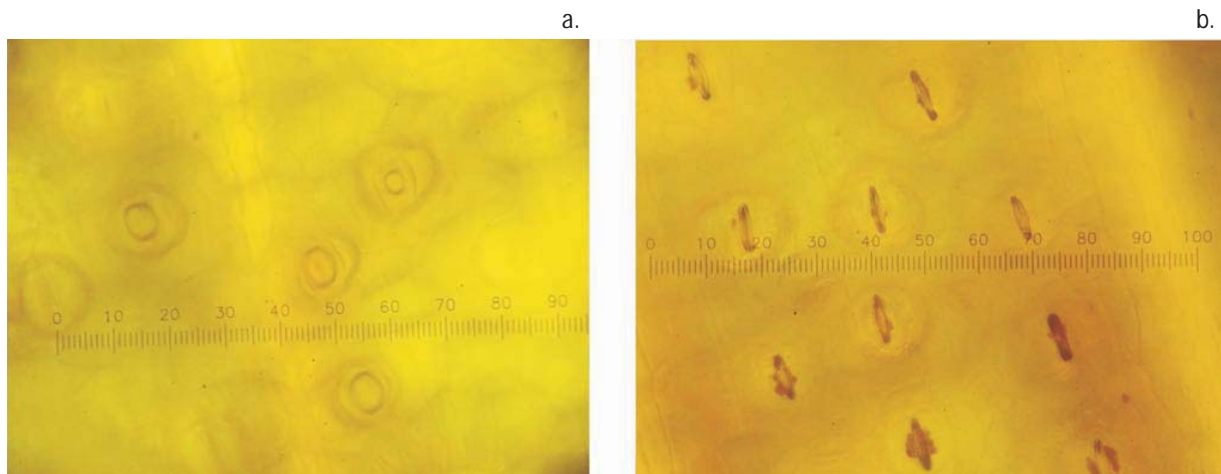


FIGURA 6. Daños en los estomas de hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano, afectadas por sigatoka negra. A) Daño de la cavidad estomática, pérdida de forma; queda completamente abierta. B) Taponamiento de la cavidad estomática con estructuras del hongo, a partir del grado 4 de severidad. Fotografías tomadas de Hoyos *et al.*, 2006.

et al., 2006; Kema *et al.*, 1996). Estos eventos de patogénesis los observaron Hoyos *et al.* (2006) bajo condiciones de Urabá (Colombia) y explican el comportamiento de las variables fisiológicas medidas (figura 7).

Almidón y azúcares

Los porcentajes de azúcares y almidón encontrados en los diferentes grados de severidad de la enfermedad se presentan en la tabla 3, en la que se observa que el patógeno alteró el metabolismo de los carbohidratos, ya que se encontró una menor cantidad de azúcares y almidón en los grados 5 y 6 de severidad de la enfermedad. El porcentaje de almidón es igual para la hoja sana y en los tres primeros estadios de la enfermedad y presenta una reducción a partir del grado 4 de severidad, con un valor igual al de los estadios 5 y 6. El mayor valor en contenido de azúcares totales, reductores y no reductores, lo presentan las hojas sanas, y a partir de la presencia del patógeno en la hoja se observan cambios en estas fuentes de carbohidratos, siendo notable la reducción de los azúcares como consecuencia de la acción del hongo en los tejidos foliares. La menor concentración de azúcares no reductores en la hoja se relaciona con la menor cantidad de fotoasimilados en el floema, principalmente de sacarosa, cuya síntesis en la hoja y translocación posterior están afectadas por acción del hongo. Todos los azúcares que se transportan en el floema son azúcares no reductores, principalmente sacarosa, mientras que los azúcares reductores, incluyendo glucosa y fructosa, no se translocan por el floema y se encuentran en cantidades traza, ocasionalmente en exudados del floema, como productos de la hidrólisis de la sacarosa (Salisbury y Ross, 1985).

Rohel *et al.* (2001) realizaron estudios con el hongo *M. graminicola* transformado con el gen de proteína fluorescente verde para explorar el metabolismo de los carbohidratos en el proceso de infección en plantas de trigo. Estos autores reportan el consumo por parte del hongo de fuentes de carbono (glucosa, sacarosa, galactosa y maltosa), incluso antes de la penetración y durante los diferentes estados del proceso de infección hasta la formación de nuevas estructuras. El consumo de fuentes de carbono antes de la penetración se relaciona con carbohidratos solubles usualmente presentes en la superficie de la hoja en pequeñas cantidades (nanogramos por centímetro cuadrado) y se incrementa como resultado de la condensación de citoplasma y el aumento en la síntesis de proteínas por presencia de hifas en proceso de penetración. Kema *et al.* (1996) indican que los cloroplastos contienen gránulos de almidón identificables, que parecen ser liberados justo antes del colapso y muy posiblemente estén funcionando como fuente de alimentación para el patógeno durante la infección de la sigatoka en hojas de banano.

Estos resultados sugieren que los cambios en los contenidos de carbohidratos en las hojas afectadas por la enfermedad pueden ser explicados, en parte, por la disminución en la fotosíntesis, variable que se correlacionó significativamente con el desarrollo de la enfermedad, y por la alteración del metabolismo de los carbohidratos inducida por el hongo. El impacto directo del patógeno sobre la fisiología de la planta es evidente; la alteración de los tejidos y el funcionamiento de los organelos de las hojas generan la desregulación de las variables fisiológicas

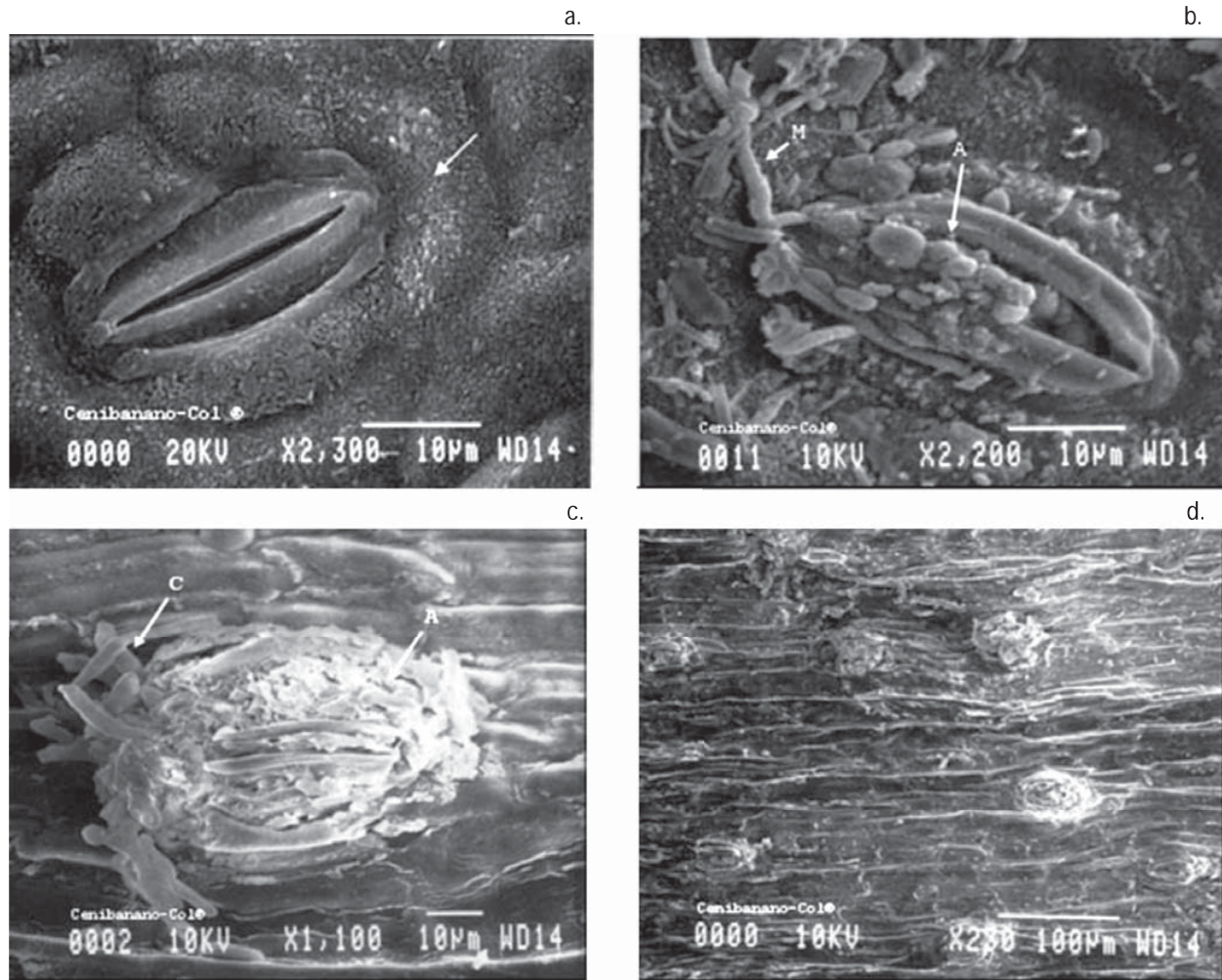


FIGURA 7. Microscopía electrónica de barrido donde se compara: a) estoma sano y b-c) estomas afectados por *M. fijiensis* en hojas *Musa* AAA, cv. Gran Enano. Se observan estructuras del hongo emergiendo de los estomas. Fotografías tomadas de Hoyos *et al.*, 2006.

TABLA 3. Relación del contenido de almidón, azúcares totales y reductores con el grado de severidad de sigatoka negra en hojas de *Musa* AAA, cv. Gran Enano.

Grado	Almidón (%)	Azúcares totales (%)	Azúcares reductores (%)	Azúcares no reductores (%)
0	4	2,67	1,30	1,37
1	4	1,65	1,07	0,58
2	4	1,58	1,26	0,32
3	4	2,08	1,89	0,19
4	3	2,40	1,83	0,57
5	3	1,07	1,01	0,06
6	3	1,15	0,89	0,26

básicas, cuyos daños son irreversibles y aumentan conforme lo hace la infección.

Literatura citada

- Balint-Kurti, P., G. May y A. Churchill. 2001. Development of a transformation system for *Mycosphaerella* pathogens of banana: a tool for the study of host/pathogen interactions. *FEMS Microbiol. Letters* 195, 9-15.
- Balint-Kurti, P. y A. Churchill. 2004. Towards a molecular understanding of *Mycosphaerella*/banana interactions. pp.147-160. En: S. Mohan Jain y R. Swennen (eds.). *Banana improvement*. Agricultural Research Service, USDA, USA. 392 p.
- Belalcázar, S., V.M. Merchán y M. Mayorga. 1991. Plagas y enfermedades del plátano. pp. 7-61. En: ICA. *Boletín de sanidad vegetal*, 4. Produmedios, Bogotá.
- Brun, W. 1961. Photosynthesis and transpiration of banana leaves as affected by severing the vascular system. *Plant Physiol.* 36, 577-580.
- Camp P.J., S.C. Huber, J.J. Burke y D.E. Moreland. 1982. Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves. I. Basis for the reduction of photosynthesis. *Plant Physiol.* 70, 1641-1646.
- Cayón, D.G., J.E. Lozada y S. Belalcázar. 1995. Contribución fisiológica de las hojas funcionales del plátano (*Musa AAB* Simmonds) durante el llenado del racimo. pp. 725-739. En: Morales, V. (ed.). *Memorias XI Reunión de Acorbat*, febrero de 1994, San José (Costa Rica). Acorbat, San José (Costa Rica).
- Cayón, D.G., S. Belalcázar, M.I. Arcila y J.A. Valencia. 1996. The physiological activity of *Musa* clones and hybrids and their reaction to black Sigatoka disease. *Infomusa* 5(2), 9-11.
- Cayón, G. 2001. Evolución de la fotosíntesis, transpiración, y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (*Musa AAB* Simmonds). *Infomusa* 10(1), 12-15.
- Cayón, G., J. Lozada y S. Belalcázar. 1991. Estudios comparativos sobre la actividad fotosintética de clones de plátano (*Musa AAB* y *ABB*, Simmonds) en Colombia. pp. 549-558. En: *Memorias Reunión Acorbat 91*, Villahermosa (México). Corbana, San José (Costa Rica).
- Evans, J.R. 1986. The relationship between CO₂-limited photosynthetic rate and ribulose-1,5 biphosphate-carboxylase content in two nucleocytoplasm substitution lines of wheat and coordination of ribulose-bisphosphate-carboxylation and electron-transport capacities. *Planta* 167, 351-358.
- Fouré, E. 1985. Black leaf streak disease of bananas and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet), study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. Irfa, Paris.
- Friedrich, J.W. y R.C. Huffaker. 1980. Photosynthesis, leaf resistances and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. *Plant Physiol.* 65, 1103-1107.
- Gauhl, F. 1989. Epidemiología y ecología de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano (*Musa* sp.) en Costa Rica. Unión de Países Exportadores de Banano (Upeb), Ciudad de Panamá (Panamá). 114 p.
- Hidalgo, M., A. Tapia, W. Rodríguez y E. Serrano. 2006. Efecto de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano *Musa* AAA cv. Valery. *Agro-nomía Costarricense* 30(1), 35-41.
- Holloway, P.J., D.J. Maclean y K.J. Scott, K.J. 1983. Rate-limiting steps of electron transport in chloroplasts during ontogeny and senescence of barley. *Plant Physiol.* 72, 795-801.
- Hoyos, L., E. Salazar, J. Arroyave, C. Olaya y J. Mira. 2006. Histología de la interacción *Mycosphaerella fijiensis*-*Musa* AAA. En: *Memorias XVII Reunión Internacional de Acorbat*, Acorbat-Acafruta, Joinville (Brasil).
- Kema, G., D. Yu, F. Rijkenberg, M. Shaw y R. Baayen. 1996. Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathol.* 86, 777-786.
- Kramer, P.J. 1989. Relaciones hídricas de suelos y plantas. Una síntesis moderna. Editorial Harla, México.
- Kura-Hotta, M., K. Satoh y S. Katoh. 1987. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedlings. *Plant Cell Physiol.* 28, 1321-1329.
- Lepoivre, P., J. Busogoro, J. Etame *et al.*. 2002. Banana-*Mycosphaerella fijiensis* interactions. pp.151-159. En: *Proceedings of the 2nd International workshop on M. fijiensis leaf spot diseases*. San José (Costa Rica).
- Makino, A., T. Mae y K. Ohira. 1983. Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiol.* 73, 1002-1007.
- Makino, A., T. Mae y K. Ohira. 1985. Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in rice leaves from emergence through senescence. Quantitative analysis by carboxylation/oxygenation and regeneration of ribulose 1,5-bisphosphate. *Planta* 166, 414-420.
- Marín, D.H., R.A. Romero, M. Guzmán y T.B. Sutton. 2003. Black sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. *Plant Dis.* 87, 208-222.
- Marini, R.P. y D.L. Sowers. 1990. Net photosynthesis, specific leaf weight and flowering of peach as influenced by shade. *Hort-Science* 25, 331-334.
- Merchán, V.M. 1996. Prevención y manejo de la sigatoka negra. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Manizales. 30 p.
- Rohel, E., A. Payne, B. Fraaije y D. Hollomon. 2001. Exploring infection of wheat and carbohydrate metabolism in *Mycosphaerella graminicola* transformants with differentially regulated green fluorescent protein expression. *Mol. Plant Microbe Interact.* 14(2), 156-163.
- Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1985. *Plant physiology*. Walsworth, Belmont. pp. 177-207.
- Sánchez-Díaz, M. y J. Aquirreola. 2000. Movimientos estomáticos y transpiración. pp. 31-43. En: *Azcon-Bieto, J. y M. Talon.*

- Fundamentos de fisiología vegetal. 1ª ed. Ed. McGraw-Hill/ Interamericana de España, Madrid. 522 p.
- Sandoval, J. y L. Müller. 1999. Anatomía y morfología de la planta de banano (*Musa AAA*). Corbana 24(51), 43-60.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2002. Plant physiology. 3rd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 p.
- Thomas, D. y D. Turner. 1998. Leaf age and environmental effects on gas exchange in leaves of banana (cv. Williams) growing in a hot, arid environment. J. Hort. Sci. Biotechnol. 73(6), 774-780.
- Washington, J.R., J. Cruz, F. Lopez y M. Fajardo. 1998. Infection studies of *M. fijiensis* on banana and the control of black sigatoka with chlorothalonil. Plant Dis. 82, 1185-1190.
- Wintermans, J.F. y A. De Mots. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll a and b and their pheophytins in ethanol. Biochem. Biophys. Acta 109, 448-453.