

Avances en los estudios sobre la interacción *Musa* spp.- *Mycosphaerella fijiensis* Morelet

Milady Francisca Mendoza-Rodríguez

Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5.5. Santa Clara, Villa Clara, Cuba CP 54 830. e-mail: milady@ibp.co.cu

RESUMEN

El rayado negro de la hoja causado por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet [anamorfo: *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton], se considera la enfermedad foliar más destructiva y costosa que afecta la producción de bananos y plátanos a nivel mundial. Teniendo en cuenta los daños que ocasiona el uso de productos químicos, el incremento de la resistencia del hongo a algunos fungicidas, además, de la complejidad genética de la resistencia en *Musa* spp. a *M. fijiensis* y las dificultades que se presentan en el mejoramiento genético de los cultivos por su esterilidad y triploidía, resulta necesario encontrar alternativas sostenibles para el manejo de la enfermedad. Para lograr este propósito, el conocimiento del patógeno y de las bases fisiológicas, genéticas y principalmente las moleculares que rigen las interacciones con las plantas para la búsqueda de genes candidatos relacionados con la resistencia, para su utilización en la Ingeniería Genética, sería una opción promisoría. En este escenario complejo los análisis bioquímicos e histológicos de conjunto con el empleo de diferentes técnicas moleculares, resultan de gran contribución al entendimiento del patosistema *Musa* spp.-*M. fijiensis*. En el presente trabajo se presenta una revisión de la literatura científica acerca de esta interacción planta-patógeno.

Palabras clave: análisis bioquímicos, interacción planta-patógeno, *Musa* spp., *Mycosphaerella fijiensis*, técnicas moleculares

Advance in the studies about *Musa* spp.-*Mycosphaerella fijiensis* Morelet interaction

ABSTRACT

Black leaf streak disease caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet [anamorfo: *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton], is considered the most destructive and costly foliar disease of bananas and plantain around the world. Taking into account the chemical compounds injure, the increase of fungi resistance to some fungicides besides of, the genetic complexity of *Musa* spp. resistance to *M. fijiensis* and the troubles which are present with the genetic improvement of cultivars due to sterility and triploidi, it is necessary to find sustainable alternatives for the management of the disease. To reach this goal the pathogen knowledge and the physiological, genetic and mainly the molecular bases which govern plants interactions to find candidate gene related with the resistance, for the utilization in genetic engineering could be a promissory choice. In this complex scenario biochemical and histological analysis together with the use of different molecular techniques, result of a great contribution to the knowledge of *Musa* spp.-*M. fijiensis* pathosystem. At the present work is showed a review of the scientific literature plant-pathogen interaction.

Key words: Biochemical analysis, Molecular techniques, *Musa* spp., *Mycosphaerella fijiensis*, Plant-pathogen interaction

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

INTERACCIÓN MUSA-M. FIJENSIS

Búsqueda de genes candidatos

Estudios bioquímicos e histológicos

CONCLUSIONES

REFERENCIAS

INTRODUCCIÓN

La principal enfermedad foliar que afecta los plátanos y bananos (*Musa* spp.) a nivel mundial es el rayado negro de la hoja, también conocida como Sigatoka negra causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* Morelet [anamorfo: *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton] (Crous *et al.*, 2003). Este patógeno hemibiotrófico produce síntomas foliares en las plantas (rayas y manchas necróticas), lo cual reduce significativamente el área fotosintéticamente activa de la hoja y conlleva a pérdidas en el rendimiento y madurez prematura, un defecto muy serio de la fruta para su exportación (Marín *et al.*, 2003).

Su aparición en Cuba tuvo un gran impacto económico debido al incremento de los costos de producción de estos cultivos, fundamentalmente por el empleo de fungicidas para su control (Pérez *et al.*, 2003).

La búsqueda de plantas con resistencia a la enfermedad del rayado negro de la hoja constituye una prioridad en las investigaciones realizadas en el género. Sin embargo, los bananos y plátanos son difíciles de mejorar genéticamente a través de los métodos convencionales, ya que los que resultan de interés comercial presentan esterilidad, triploidía y en su mayoría son partenocápicos (Heslop-Harrison y Schwarzacher, 2007). A pesar de esto, han tenido éxito los programas de mejoramiento genético mediante hibridación realizados en el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) en Nigeria (Ortiz y Vuylsteke, 1994) y por la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), donde se han desarrollado híbridos resistentes (FHIA, 2007).

Teniendo en cuenta la importancia global de los cultivos y la creciente demanda de nuevas fuentes de resistencia ante las plagas y enfermedades que los afectan, la aplicación de las herramientas de biología molecular y sus técnicas hacia la búsqueda de posibles genes de interés agronómico, ofrecen expectativas en el mejoramiento genético. El desarrollo alcanzado en esta rama en combinación con el empleo de la bioinformática y los nuevos métodos de secuenciación a gran escala, prometen impulsar el desarrollo de estos programas.

A pesar de los logros alcanzados en el conocimiento de la interacción, las investigaciones todavía son incipientes y escasas. Específicamente a nivel molecular aún se desconocen los principales componentes, mecanismos y rutas metabólicas implicados en la respuesta de defensa de la planta frente al patógeno. En este sentido, se requiere continuar profundizando en esta temática, haciendo énfasis en la comprensión de la red reguladora del proceso infeccioso.

En el presente trabajo se realiza una breve reseña acerca de diferentes estudios moleculares que han tenido lugar en el género *Musa*, en el genoma de *M. fijiensis*, así como en la interacción *Musa* spp.-*M. fijiensis* que denotan avances en el análisis de este patosistema.

INTERACCIÓN MUSA-M. FIJENSIS

La interacción *Musa* spp.-*M. fijiensis* es un modelo complejo por las características del hospedante y la morfofisiología del hongo.

El género *Musa* ha sido estudiado molecularmente tanto a nivel de genoma como de la interacción con este patógeno sin embargo, poco se ha profundizado acerca de la biología del hongo y de su modo de acción.

Los principales progresos alcanzados en la caracterización del genoma se han obtenido a partir de la creación de bibliotecas genómicas por varios autores (Vilarinhos *et al.*, 2003; Šafář *et al.*, 2004; Ortiz-Vázquez *et al.*, 2005; Roux *et al.*, 2008).

Por otra parte, en el patosistema los estudios moleculares aún son limitados. Se conoce que muchos genes se activan transcripcionalmente tras el ataque por patógenos, lo cual involucra un gran número de moléculas que señalizan su reconocimiento y la posterior inducción de la respuesta de defensa en el hospedante (Dangl *et al.*, 2013). A este nivel, el análisis transcriptómico mediado por la identificación de los perfiles de expresión de genes durante la interacción ofrece grandes perspectivas y se utiliza como parámetro de selección de genes candidatos para la realización de estudios funcionales (Essis *et al.*, 2010).

Los ensayos de expresión han sido realizados principalmente a través de la creación de bibliotecas de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc), las cuales proveen un recurso amplio de secuencias parciales y completas. Además, se han empleado otras técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés: *Polymerase Chain Reaction*) cuantitativo y en tiempo real y la secuenciación de ácido ribonucleico (ARNm) de alto procesamiento (RNA-Seq, del inglés: *High Throughput mRNA Sequencing*).

En *Musa* también ha sido una opción la búsqueda de posibles miembros de genes R, específicamente de genes de resistencia análogos (RGAs, del inglés: *Resistance Gene Analogs*) (Miller *et al.*, 2008; Emediato *et al.*, 2009), por ser parte del sistema inmune de la planta y estar posiblemente involucrados en la respuesta defensiva de las plantas.

Otros estudios han estado centrados en conocer los cambios que se producen tanto a nivel bioquímico como histológico durante el proceso infeccioso, en cultivares con diferentes niveles de resistencia al rayado negro de la hoja. Estos han resultado de gran apoyo por revelar varios aspectos relacionados con la respuesta de las plantas (Sánchez-García *et al.*, 2009; Sánchez-García *et al.*, 2010; Cavalcante *et al.*, 2011; Sánchez-García *et al.*, 2012; Torres *et al.*, 2012; Sánchez-García *et al.*, 2013).

En este escenario, se deben señalar los avances moleculares obtenidos en el análisis del genoma de *M. fijiensis*, lo cual promete contribuir a dilucidar componentes importantes de su interrelación con el hospedante (Cho *et al.*, 2008; García *et al.*, 2010).

Búsqueda de genes candidatos

Dada la importancia que reviste encontrar alternativas sostenibles para el manejo de la enfermedad, la búsqueda a nivel molecular de genes candidatos relacionados con la resistencia a *M. fijiensis* para su utilización en la Ingeniería Genética, resulta una estrategia promisoriosa. Para lograr este objetivo, el empleo de métodos de alta fidelidad como los basados en ARNm resulta esencial. Entre ellos, la construcción de bibliotecas de ADNc del tipo sustractiva basada en el protocolo de

hibridación sustractiva por supresión (SSH, del inglés: *Suppression Subtractive Hybridization*) (Diatchenko *et al.*, 1996) y de cadena completa, ha permitido generar un vasto número de secuencias blanco expresadas (ESTs, del inglés: *Expressed Sequence Tags*) de interés, necesarias para este propósito.

Es de destacar que en la última década esta estrategia molecular ha sido la de mayor aplicabilidad y contribución a la comprensión de este organismo no modelo.

Los primeros estudios a nivel transcriptómico realizados en la interacción *Musa* spp.- *M. fijiensis* surgieron de la colaboración entre la Empresa Brasileña de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA) y el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD), lo cual permitió la creación y caracterización de varias bibliotecas. Entre ellas están las elaboradas a partir de plantas *in vitro* del cultivar susceptible 'Grande naine' (MACVLINFLS) y del resistente 'Calcutta 4' (MA4LINFES) inoculadas con *M. fijiensis*, respectivamente. La información obtenida (ESTs) fue transferida directamente al consorcio global de genómica en *Musa* (GMGC, del inglés: *Global Musa Genomics Consortium*) (Roux *et al.*, 2008).

Hasta ese momento la pobre caracterización del genoma de *Musa* spp. con un número limitado o no existencia de secuencias de ADN o ADNc/ESTs disponibles, constituyó una limitante para la aplicación de diversas técnicas moleculares. Por tal motivo, el gran volumen de ESTs generado de estas bibliotecas, además de contribuir al enriquecimiento de las bases de datos, abrió nuevas posibilidades y perspectivas de investigación.

La caracterización de la expresión de genes en el patosistema es aún limitada y se ha mantenido como una temática de interés constante. En este sentido, autores como Portal *et al.* (2011) estudiaron la interacción compatible 'Grande naine'-*M. fijiensis* en un estadio tardío de la infección, mediante la construcción de una biblioteca SSH y otra de cadena completa. En este cultivar la identificación de genes involucrados en la ruta de los fenilpropanoides, en el mecanismo de transducción de señales vía ácido jasmónico y etileno, de varias proteínas relacionadas con

la patogénesis, además de otras enzimas relacionadas con la síntesis de compuestos detoxificantes en respuesta a la infección, resultaron ser muy novedosos.

Estos resultados demostraron una vez más que la información científica disponible acerca de los genes tanto del hongo como de la planta, involucrados en este proceso infeccioso son apenas conocidos.

Para dar continuidad a la exploración transcriptómica del patosistema, D'Hont *et al.* (2012) utilizaron la técnica *RNA-Seq* para el análisis de varias bibliotecas de cadena completa realizadas en cultivares de (*Musa AA*) con diferentes niveles de resistencia a la enfermedad: 'DH-Pahang' (resistente), 'Pisang madu' (parcialmente resistente) y 'Pisang pipit' (susceptible). Las evidencias experimentales mostraron la activación de la mayoría de los genes en plantas *in vitro* de 'Pisang madu' y 'Pisang pipit' a los 10 y 16 días posteriores a la inoculación (dpi), cuyas funciones se relacionaban fundamentalmente con el estrés, la señalización, el transporte, el metabolismo de aminoácidos, carbohidratos, de la energía, además de la presencia de componentes de la pared celular, hormonas, lípidos y de diferentes factores de transcripción. Sin embargo, en el cultivar resistente la inhibición de la mayoría de los genes y solo la activación de algunos del metabolismo y de factores de transcripción, reveló la significación que tiene el momento de búsqueda de información relacionada con la resistencia.

En esta investigación sin precedentes, tanto la descripción del genoma de referencia del doble haploide 'DH-Pahang', como la comparación de diferentes interacciones hospedante-patógeno, representaron el mayor aporte hasta la fecha desarrollado sobre el conocimiento del genoma de *Musa spp.* así como de la interacción *Musa spp.-M. fijiensis*.

La ejecución por primera vez de un análisis de esta índole, permitió establecer una valoración más acertada de los genes involucrados en la respuesta de cada cultivar frente a este patógeno, no solo en cuanto a su expresión sino también en magnitud.

Con el empleo de la misma estrategia de investigación basada en la producción de ESTs,

Passos *et al.* (2012) continuaron los estudios transcriptómicos con la creación de dos bibliotecas de cadena completa. Para ello utilizaron plantas de 'Calcutta 4' y 'Grande naine' en un estadio temprano y tardío de la infección con *M. fijiensis*, respectivamente.

Con la culminación de este trabajo estos autores hicieron una contribución de secuencias de *M. acuminata* a las bases de datos públicas, aumentando así su disponibilidad y ofrecieron nuevas posibilidades para la identificación de nuevos genes en *Musa*.

Como una alternativa para el mejoramiento genético de bananos y plátanos, se ha hecho especial énfasis en la búsqueda de RGAs, los cuales podrían estar relacionados con la resistencia a este patógeno. En este sentido, Miller *et al.* (2008) realizaron por primera vez en plantas de 'Calcutta 4' el análisis a gran escala de RGAs con sitio de unión a nucleótido y carboxilo rico en leucina (NBS-LRR) y Emediato *et al.* (2009) la caracterización de RGAs por PCR en los bananos 'Calcutta 4' y 'Pisang Berlin' (susceptible), encontrando varias secuencias con homología a estos genes.

Otra estrategia utilizada en la búsqueda de genotipos resistentes es la obtención de genes R y su posible utilización como marcadores genéticos, lo cual ofrece un gran potencial ya sea en los métodos de selección asistida por marcadores, programas de cultivo, así como por su empleo en la transformación genética de plantas. Esto se facilita actualmente por la asequibilidad al volumen de información existente.

Es importante resaltar la connotación que tiene para los programas de mejoramiento los estudios dirigidos hacia una mayor comprensión del patógeno, aunque han sido poco abordados. Entre ellos, Cho *et al.* (2008) informaron el análisis de ESTs de tres bibliotecas de ADNc realizadas a partir de dos aislados de *M. fijiensis* en diferentes condiciones de cultivo. Estos resultados constituyen una fuente importante de información para encontrar posibles genes involucrados en la patogénesis, resistencia fúngica y ciclo de vida del patógeno. De igual modo, el desarrollo de marcadores VNTR a partir del genoma de *M. fijiensis* por García *et*

al. (2010), también sienta bases para el diseño de estrategias futuras de control más efectivas para esta enfermedad.

Estos estudios representaron un gran paso de avance en el entendimiento de la genética y de la interacción de *M. fijiensis* con su hospedante.

Estudios bioquímicos e histológicos

Las investigaciones sobre la interacción, desde el punto de vista bioquímico e histológico, también han sido un soporte para la comprensión de los mecanismos que tienen lugar durante este proceso infeccioso.

En este sentido, la determinación enzimática de peroxidasa (POX), fenilalanina amonio-liasas (PAL), β -1, 3-glucanasa y quitinasa, en hojas de 'Calcutta 4' y 'Grande naine', en un estadio temprano de la infección con *M. fijiensis*, revelaron una rápida acumulación de estos compuestos en las plantas resistentes con respecto a las susceptibles (Sánchez-García *et al.*, 2009; Sánchez-García *et al.*, 2012). Por otra parte, varios análisis histoquímicos realizados en estas mismas interacciones en diferentes estadios de síntomas de la enfermedad, evidenciaron la presencia de lignina, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de fenoles como parte de la respuesta defensiva de las plantas ante la infección fúngica (Sánchez-García *et al.*, 2010). En un estudio similar llevado a cabo por Sánchez-García *et al.* (2013) en lesiones del cultivar 'Cavendish naine', estos autores también observaron el depósito de fenoles asociado con la defensa ante la enfermedad.

Otros autores como Cavalcante *et al.* (2011) con el estudio de la cinética de infección en los cultivares 'Calcutta 4', 'Grande naine' y 'Pisang madu', lograron discernir los pormenores de la infección. Además, encontraron en las plantas resistentes la acumulación de H_2O_2 en paralelo con el incremento de la actividad POX, lo cual se vinculó con una respuesta similar a la hipersensible y supone su posible papel en la defensa de las plantas.

Por su parte, Torres *et al.* (2012) demostraron por primera vez en un cultivar resistente la rápida activación de varias enzimas involucradas con la defensa y relacionaron de

igual forma la actividad POX en un estadio temprano de la infección con *M. fijiensis* con la respuesta similar a la hipersensible.

Los estudios llevados a cabo por todos estos autores en diferentes interacciones, han permitido disponer de mayor información acerca del tiempo y el tipo de respuesta obtenida en plantas de banano ante la infección con *M. fijiensis*. Estos resultados representan un paso de avance hacia un entendimiento más comprensivo del patosistema.

Aún cuando se han dado pasos significativos en el análisis de la interacción *Musa* spp.-*M. fijiensis*, el conocimiento actual es aún incipiente comparado con otros patosistemas hemibiotróficos como *Oryza* spp.-*Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr, donde se ha investigado la biología de la infección de la planta por el patógeno (Galhano y Talbot, 2011).

Las investigaciones realizadas en *Musa* spp. frente a la infección con *M. fijiensis* a escala transcriptómica, representan un eslabón superior en la revelación de los procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares que están presentes durante la patogénesis, aunque no se poseen resultados concluyentes. Específicamente, la colección de ESTs obtenidas de todas las bibliotecas generadas, resultan un gran aporte de transcritos de genes a las bases de datos públicas y sienta las bases para estudios genómicos futuros. Esta información representa un recurso invaluable. Sin embargo, no se ha avanzado lo suficiente en el estudio de la expresión de genes durante la respuesta de cultivares resistentes en un estadio temprano de la infección, lo cual se considera la mejor opción para encontrar genes relacionados con la resistencia a este patógeno.

CONCLUSIONES

Los resultados presentados en esta revisión de la literatura científica demuestran los avances en el estudio de la interacción *Musa* spp.-*M. fijiensis*. Sin embargo, a nivel molecular se hace necesario continuar profundizando en el conocimiento relacionado con su biología y con los mecanismos de respuesta de las plantas ante la infección por el patógeno, a pesar de las complejidades de varias índoles que se presentan en este patosistema.

Especial énfasis debe ponerse en los análisis moleculares enfocados hacia la cuantificación de los niveles de expresión de los genes a diferentes tiempos durante la infección, lo cual sería un indicador de cuáles de ellos podrían tener un papel importante en cada fase del ciclo de la enfermedad.

REFERENCIAS

- Cavalcante MdJB, Escoute J, Madeira JP, Romero RE, Nicole MR, Oliveira LC, Hamelin C, Lartaud M, Verdeil JL (2011) Reactive oxygen species and cellular interactions between *Mycosphaerella fijiensis* and banana. *Tropical Plant Biology* 4: 134-143
- Crous PW, Groenewald JZ, Aptroot A, Braun U, Mourichon X, Carlier J (2003) Integrating morphological and molecular data sets on *Mycosphaerella*, with specific reference to species occurring on *Musa*. En: Jacome L, Leproive P, Martín D, Ortiz R, Romero R, Escalant JV. (Eds.) *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd International Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases, pp. 43-58 INIBAP. San José, Costa Rica
- Cho Y, Hou S, Zhong S (2008) Analysis of expressed sequence tags from the fungal banana pathogen *Mycosphaerella fijiensis*. *The Open Mycology Journal* 2: 61-73
- D'Hont A, Denoeud F, Aury J-M, Baurens F-C, Carreel F, Garsmeur O, Noel B, Bocs S, Droc G, Rouard M, Da Silva C, Jabbari K, Cardi C, Poulain J, Souquet M, Labadie K, Jourda C, Lengellé J, Rodier-Goud M, Alberti A, Bernard M, Correa M, Ayyampalayam S, Mckain MR, Leebens-Mack J, Burgess D, Freeling M, Mbéguié-A-Mbéguié D, Chabannes M, Wicker T, Panaud O, Barbosa J, Hribova E, Heslop-Harrison P, Habas R, Rivallan R, Francois P, Poirion C, Kilian A, Burthia D, Jenny C, Bakry F, Brown S, Guignon V, Kema G, Dita M, Waalwijk C, Joseph S, Dievart A, Jaillon O, Leclercq J, Argout X, Lyons E, Almeida A, Jeridi M, Dolezel J, Roux N, Risterucci A-M, Weissenbach J, Ruiz M, Glaszmann J-C, Quétier F, Yahiaoui N, Wincker P (2012) The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature* 488: 213-217
- Dangl JL, Horvath DM, Staskawicz BJ (2013) Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science* 341: 746-751
- Diatchenko L, Chris Lau Y-F, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, Lukyanov S, Lukyanov K, Gurskaya N, Sverdlov ED, Siebert PD (1996) Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 6025-6030
- Emediato FL, Nunes FAC, Teixeira CdC, Passos MAN, Bertioli DJ, Pappas Jr GJ y Miller RNG (2009) Characterization of resistance gene analogs in *Musa acuminata* cultivars contrasting in resistance to biotic stresses. En: Shu QY (Ed.) *Induced plant mutations in the genomics era*, pp. 443-445. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome
- Essis B, Kobenan K, Traoré S, Koné D, Yatty J (2010) Sensibilité au laboratoire de *Mycosphaerella fijiensis* responsable de la Cercosporiose noire des bananiers vis-à-vis de fongicides couramment utilisés dans les bananeraies ivoiriennes. *Journal of Animal & Plant Sciences* 7 (2): 822-833
- FHIA (2007) Bananos y plátanos de la FHIA para la seguridad alimentaria. FHIA informa 15: 6-8
- Galhano R, Talbot NJ (2011) The biology of blast: understanding how *Magnaporthe oryzae* invades rice plants. *Fungal Biology Reviews* 25 (1): 61-67
- Garcia SAL, Van der Lee TAJ, Ferreira CF, Lintel Hekkert BT, Zapater M-F, Goodwin SB, Guzmán M, Kema GHJ, Souza Jr MT (2010) Variable number of tandem repeat markers in the genome sequence of *Mycosphaerella fijiensis*, the causal agent of black leaf streak disease of banana (*Musa* spp.). *Genetics and Molecular Research* 9 (4): 2207-2212
- Heslop-Harrison JS, Schwarzacher T (2007) Domestication, genomics and the future for banana. *Annals of Botany* 100: 1073-1084
- Marín DH, Romero RA, Guzmán M, Sutton TB (2003) Black sigatoka: an increasing treath to banana cultivation. *Plant Disease* 87: 208-222
- Miller RNG, Bertioli DJ, Baurens FC, Santos CMR, Alves PC, Martins NF, Togawa RC, Souza Júnior MT, Pappas Júnior GJ (2008) Analysis of non-TIR NBS-LRR resistance gene analogs in *Musa acuminata* Colla: Isolation, RFLP marker development, and physical mapping. *BMC Plant Biology* 8: 15
- Ortiz-Vázquez E, Kaemmer D, Zhang H-B, Muth J, Rodríguez-Mendiola M, Arias-Castro C, James A (2005) Construction and characterization of a plant transformation-competent BIBAC library of the black sigatoka-resistant banana *Musa acuminata* cv. Tuu Gia (AA). *Theoretical and Applied Genetics* 110: 706-713
- Ortiz R, Vuylsteke DR (1994) Inheritance of black sigatoka disease resistance in plantain-banana (*Musa* spp.) hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 146-152

- Passos MAN, de Oliveira Cruz V, Emediato FL, Teixeira CdC, Souza Jr MT, Matsumoto T, Rennó Azevedo VC, Ferreira CF, Amorim EP, de Alencar Figueiredo LF, Martins NF, Barbosa Cavalcante MdJ, Baurens F-C, da Silva Jr OB, Pappas Jr GJ, Pignolet L, Abadie C, Ciampi AY, Piffanelli P, Miller RNG (2012) Development of expressed sequence tag and expressed sequence tag-simple sequence repeat marker resources for *Musa acuminata*. AoB PLANTS: pls030
- Pérez L, Alvarez JM, Pérez M (2003) Economic impact and management of black leaf streak disease in Cuba. En: Jacome L, Leproive P, Martín D, Ortiz R, Romero R, Escalant JV. (Eds.) *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd International Workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases, pp. 71-84. INIBAP, San José, Costa Rica
- Portal O, Izquierdo Y, Vleeschauwer DD, Sánchez-Rodríguez A, Mendoza-Rodríguez M, Acosta-Suárez M, Ocaña B, Jiménez E, Höfte M (2011) Analysis of expressed sequence tags derived from a compatible *Mycosphaerella fijiensis*-banana interaction. Plant Cell Reports 30: 913-928
- Roux N, Baurens F-C, Dolezel J, Hribová E, Heslop-Harrison P, Town C, Sasaki T, Matsumoto T, Aert R, Remy S, Souza M y Lagoda P (2008) Genomics of banana and plantain (*Musa* spp.), major staple crops in the tropics. En: Moore PH, Ming R (Eds.) Genomics of tropical plants, pp. 83-111. Springer, New York
- Šafár J, Noa-Carrazana JC, Vrána J, Bartoš J, Alkhimova O, Sabau X, Šimková H, Lheureux F, Caruana M-L, Dolezel J, Piffanelli P (2004) Creation of a BAC resource to study the structure and evolution of the banana (*Musa balbisiana*) genome. Genome 47: 1182-1191
- Sánchez-García C, Alvarado-Capó Y, Acosta-Suárez M, Cruz-Martín M, Leiva-Mora M, Roque B (2009) Effect of artificial inoculation of *Mycosphaerella fijiensis* on the induction of defence-related enzymes in two *Musa* genotypes. Biotecnología Vegetal 9 (3): 169-176
- Sánchez-García C, Alvarado-Capó Y, Cruz-Martín M, Acosta-Suárez M, Leiva-Mora M, Roque B (2010) Detección de compuestos bioquímicos relacionados con la respuesta defensiva en plantas de *Musa* spp. inoculadas artificialmente con *Mycosphaerella fijiensis*. Biotecnología Vegetal 10: 89-97
- Sánchez-García C, Alvarado-Capó Y, Acosta-Suárez M, Leiva-Mora M, Cruz-Martín M, Roque B (2013) Quantification of phenols in lesions caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet in 'Cavendish naine'. Rev. Protección Veg. 28 (2): 149-152
- Sánchez-García C, Cruz-Martín M, Alvarado-Capó Y, Rojas L, Leiva-Mora M, Acosta-Suarez M, Roque B (2012) Detección y cuantificación de quitinasa en hojas de banano (*Musa* spp.) inoculadas con *Mycosphaerella fijiensis*. Biotecnología Vegetal 12 (2): 119-124
- Torres JM, Calderón H, Rodríguez-Arango E, Morales JG, Arango R (2012) Differential induction of pathogenesis-related proteins in banana in response to *Mycosphaerella fijiensis* infection. European Journal of Plant Pathology 133: 887-898
- Vilarinhos AD, Piffanelli P, Lagoda P, Thibivilliers S, Sabau X, Carreel F, D'Hont A (2003) Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome library of banana (*Musa acuminata* Colla). Theoretical and Applied Genetics 106: 1102-1106

Recibido: 24-10-2013

Aceptado: 24-5-2014