



COMUNICACIÓN BREVE

Estudios moleculares en la interacción *Musa* spp.- *Pseudocercospora fijiensis*

Molecular studies on the *Musa* spp.-*Pseudocercospora fijiensis* interaction

Orelvis Portal^{1,2*} , Milady F. Mendoza-Rodríguez³ , Bárbara Ocaña³ , Sandra Pérez Pelaez² , María I. Oloriz³ , Monica Höfte⁴ 

¹ Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, carretera a Camajuaní 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54 830

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, carretera a Camajuaní 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54 830

³ Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, carretera a Camajuaní 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54 830

⁴ Department of Plants and Crops, Laboratory of Phytopathology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, 9000 Ghent, Belgium

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 22/10/2020
Aceptado: 10/12/2020

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no existir conflictos de intereses.

CORRESPONDENCIA

Orelvis Portal Villafaña
orelvispv@uclv.cu



RESUMEN

Los plátanos y bananos son fuente importante de alimento humano y de ingresos para muchos países. Entre las enfermedades más importantes del cultivo se encuentra el rayado negro de la hoja causado por *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton. Para estudiar las bases moleculares de la interacción *Musa* spp.-*P. fijiensis* se utilizó el cultivar susceptible 'Grande naine' y el cultivar resistente 'Calcutta 4', los que fueron inoculados con una suspensión de micelio de *P. fijiensis* en condiciones de casa de cultivo. Se obtuvieron bibliotecas sustractivas de ambos cultivares y se analizaron los perfiles de expresión génica mediante PCR cuantitativo. Se aislaron genes relacionados con la defensa, actividad antioxidante, y rutas del ácido jasmónico/etileno y fenilpropanoides.

Palabras clave: banana, biblioteca sustractiva, resistencia, Sigatoka negra

ABSTRACT

Bananas and plantains are an important source of human food and income for many countries. Among the most important diseases of the crop is the black leaf streak disease

(*Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton). To study the molecular bases of the *Musa* spp.-*P. fijiensis* interaction the susceptible cultivar 'Grande naine' and the resistant cultivar 'Calcutta 4' were used, which were inoculated with a suspension of *P. fijiensis* under greenhouse conditions. Subtractive libraries of both cultivars were obtained and the gene expression profiles were analyzed by quantitative PCR. Genes related to defense, antioxidants, and jasmonic acid/ethylene and phenylpropanoid pathways were isolated.

Keywords: banana, black Sigatoka, resistance, subtractive library

Los plátanos y bananos (*Musa* spp.) son una fuente importante de alimento para la población y de ingresos para muchos países en desarrollo. El rayado negro de la hoja, causado por el hongo hemibiotrófico *Pseudocercospora fijiensis* (Morelet) Deighton, es una de las enfermedades más importantes en *Musa* spp., que puede resultar en pérdidas significativas de los rendimientos. *P. fijiensis* es una especie que produce estrías foliares y reduce considerablemente el área foliar fotosintéticamente activa (Churchill, 2011).

En los estudios de la interacción *Musa* spp.-*P. fijiensis* se empleó el cultivar susceptible 'Grande naine' (*Musa* AAA) (interacción compatible) y el cultivar resistente 'Calcutta 4' (*Musa* AA) (interacción incompatible). En ambas interacciones se obtuvieron bibliotecas de cDNA mediante hibridación sustractiva por supresión (SSH) para aislar genes diferencialmente expresados durante estadios tempranos (Mendoza-Rodríguez *et al.*, 2006) y tardíos del ciclo infectivo (Portal *et al.*, 2011).

A partir de la interacción compatible se aislaron genes que codifican para proteínas con actividad antifúngica principalmente contra la membrana del hongo como son las GDSL-similar a lipasa/hidrolasa, proteína de transferencia de lípidos (LTP tipo 1), osmotina y PR4, junto a otras proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR), involucradas en la respuesta de la planta contra *P. fijiensis*. Se encontraron genes que codifican para proteínas relacionadas con la detoxificación de compuestos tóxicos como la glutatión S-transferasa, y miembros de la ruta de síntesis de los fenilpropanoides (Portal *et al.*, 2011).

También, fue posible identificar genes que codifican para el factor de transcripción NAC, la

ACC oxidasa en la síntesis del etileno y la activación del ácido jasmónico a través de la enzima de ácido jasmónico-amido sintetasa (JAR-1), que están involucrados en la resistencia de la planta mediada por hormonas. El papel del ácido jasmónico y el etileno en la interacción *Musa* spp.-*P. fijiensis* ha sido recientemente informado en estadios tempranos de la infección de *P. fijiensis* en el cultivar 'Calcutta 4' (Rodríguez *et al.*, 2020).

Entre todos los genes aislados se identificó un gen del hongo que codifica para la enzima UDP-glucosa pirofosforilasa (UGPasa), la cual cataliza la formación de UDP-glucosa, metabolito clave en el metabolismo de los carbohidratos (Ratnakumar y Tunnacliffe, 2006).

La expresión diferencial de los genes *cinamato 4 hidroxilasa (C4h)*, *Jar1*, *ACC oxidasa*, *Pr4*, *osmotina* y la *GDSL lipasa* fue comprobada por PCR cuantitativo, lo que demostró la inducción tardía (30-37 días posteriores a la inoculación) de estos genes de *Musa* en la interacción compatible, lo que coincide con el estadio necrotrófico del hongo. Para el caso del gen del hongo *UGPasa* se produjo una regulación negativa de su expresión.

Por otro lado, el estudio de la interacción incompatible a partir de la infección del cultivar 'Calcutta 4' permitió encontrar genes que fueron clasificados en once categorías funcionales (Figura 1).

A partir de estudios por PCR cuantitativo en la interacción 'Calcutta 4'-*P. fijiensis* se demostró la activación de los genes que codificaron para la subunidad N del centro de reacción del fotosistema I (PsI) y S-adenosilmetionina sintetasa (SAMS) y los relacionados con el estrés oxidativo metalotionina tipo-3 (Mt) y tioredoxina tipo f (Trx). Los cambios en la

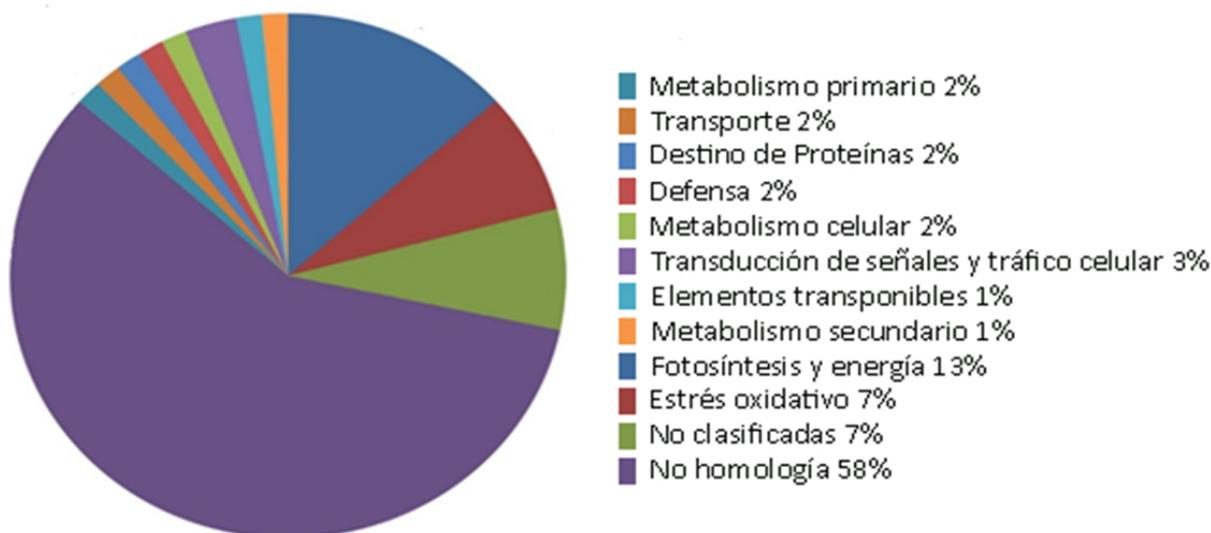


Figura 1. Distribución por categorías funcionales de los genes aislados en la biblioteca de cDNA mediante hibridación sustractiva por supresión en el estadio temprano de la interacción ‘Calcutta 4’-*Pseudocercospora fijiensis*

expresión de los genes relacionados con este proceso Redox en un estadio temprano de la infección con *P. fijiensis*, aseguraron la presencia de niveles de ROS (del inglés *Reactive Oxygen Species*) para desencadenar una respuesta de defensa efectiva, lo cual se corroboró con la máxima acumulación de O_2^- y el aumento de la actividad peroxidasa obtenida durante la interacción incompatible. Sin embargo, en la interacción compatible ‘Grande naine’-*P. fijiensis*, la inhibición de los genes del metabolismo y la activación del gen *Trx* relacionado con el estrés oxidativo, al parecer no logran asegurar la resistencia a *P. fijiensis* en el periodo estudiado de la interacción (Mendoza-Rodríguez, 2018) (Figura 2).

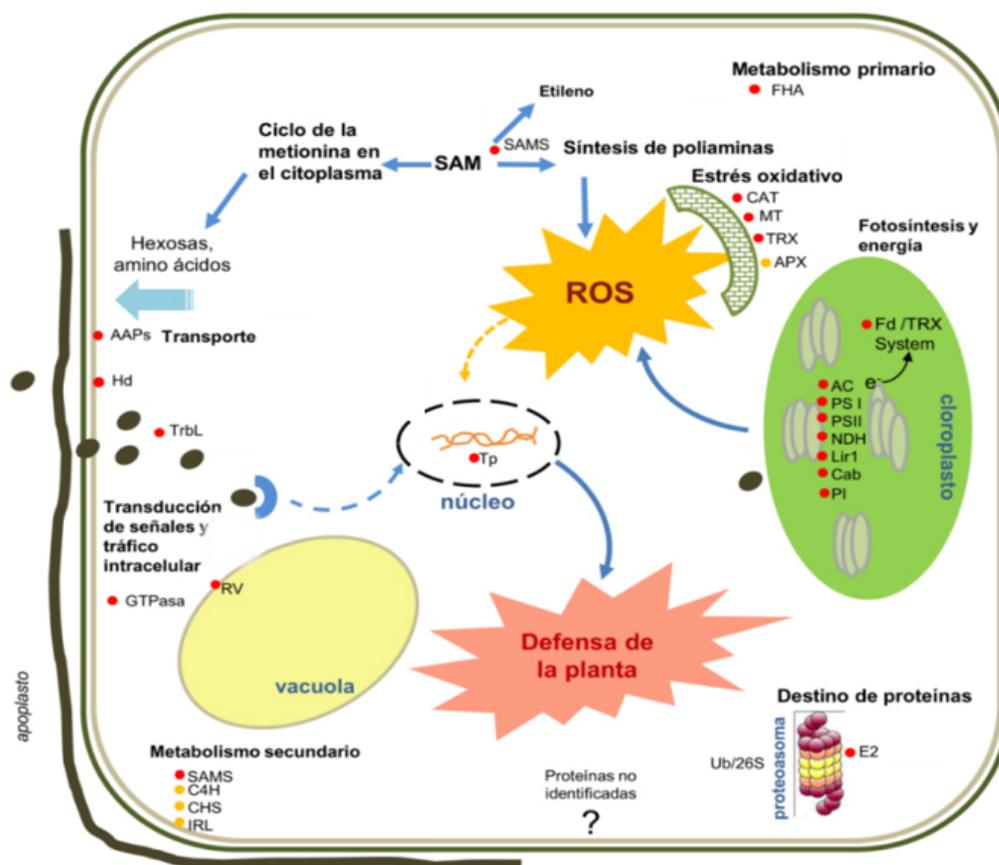
Fue posible constatar diferencias en los niveles máximos de expresión y del tiempo para los genes pertenecientes a la ruta de los fenilpropanoides que codifican para C4h, Chalcona sintasa (Chs) e Isoflavona reductasa (Irl), en plantas del cultivar resistente ‘Calcutta 4’ con respecto al susceptible ‘Grande naine’, en un estadio temprano de la infección con *P. fijiensis*. La mayor magnitud de la respuesta observada en ‘Calcutta 4’ podría sugerir el papel de la ruta en la respuesta defensiva en *Musa spp.*

Los contrastantes de los perfiles de expresión de genes obtenidos en las plantas de ‘Calcutta 4’ con respecto a las plantas de ‘Grande naine’ infectadas con *P. fijiensis* exponen la importancia de la detección temprana de la respuesta de defensa en *Musa spp.* Esta información contribuye a la comprensión molecular de la interacción *Musa spp.-P. fijiensis*, que es un aspecto fundamental para el desarrollo de estrategias de mejoramiento y manejo de la enfermedad.

CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

Orelvis Portal: Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación, coordinó, planificó y ejecutó las actividades de investigación. Fue el responsable de escribir la versión final del manuscrito publicado y la rectificación de los señalamientos realizados al mismo por los árbitros y Consejo Editorial.

Milady F. Mendoza-Rodríguez: Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación. Fue el responsable de la gestión, coordinación, planificación y ejecución de las actividades de investigación.



Los puntos rojos representan las ESTs de la biblioteca de cDNA obtenida mediante hibridación sustractiva por supresión en el cultivar resistente 'Calcutta 4' durante el estadio temprano de la interacción con *P. fijiensis*

Figura 2. Esquema de las principales rutas metabólicas activadas durante la interacción *Musa acuminata-Pseudocercospora fijiensis*

Bárbara Ocaña: Contribuyó al diseño de la investigación, evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

Sandra Pérez Pelaez: Contribuyó al diseño de la investigación, evaluó y recopiló los datos obtenidos en las pruebas de los experimentos.

María I. Oloriz: Contribuyó al diseño de la investigación, analizó estadísticamente los datos, coordinó, planificó y ejecutó las actividades de investigación. Fue la responsable de escribir la primera versión del manuscrito.

Monica Höfte: Conceptualizó y formuló los objetivos generales de la investigación. Fue la responsable de la gestión, coordinación, planificación y ejecución de las actividades de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- CHURCHILL, A.C.L. 2011. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*, 12: 307-328.
- MENDOZA-RODRÍGUEZ, M.F., PORTAL, O., OLORIZ, M.I., *et al.* 2018. Early regulation of primary metabolism, antioxidant, methyl cycle and phenylpropanoid pathways during the *Mycosphaerella fijiensis-Musa* spp. interaction. *Tropical Plant Pathology*, 43: 1-9.
- MENDOZA-RODRÍGUEZ, M.F., SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A., ACOSTA-SUÁREZ, M., *et al.* 2006. Construcción y secuenciación parcial de una biblioteca sustractiva en 'Calcutta

4' (*Musa* AA) en estadio temprano de infección con *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Biotechnología Vegetal*, 6: 213-217.

PORTAL, O., IZQUIERDO, Y., VLEESSCHAUWER, D.D., *et al.* 2011. Analysis of expressed sequence tags derived from a compatible *Mycosphaerella fijiensis*-banana interaction. *Plant Cell Reports*, 30: 913-928.

RATNAKUMAR, S. and TUNNAcliffe, A. 2006. Intracellular trehalose is neither

necessary nor sufficient for desiccation tolerance in yeast. *FEMS Yeast Research*, 6: 902-913.

RODRIGUEZ, H.A., HIDALGO, W.F., SANCHEZ, J.D., *et al.* 2020. Differential regulation of jasmonic acid pathways in resistant (Calcutta 4) and susceptible (Williams) banana genotypes during the interaction with *Pseudocercospora fijiensis* (M. Morelet) Deighton. *Plant Pathology*, 69: 872-882.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una *Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional*. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.