

Artículo original

Monitoreo fotoacústico de plantas *Musa acuminata* (Musaceae) infectadas con el hongo *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae)

Photoacoustic evaluation of *Musa acuminata* plants (Musaceae) infected with the fungus *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae)

● Fernando Gordillo-Delgado*, ● Mariana Botero-Zuluaga

Grupo de Investigación en Ciencia Aplicada para el Desarrollo de la Ecorregión (GICADE), Instituto Interdisciplinario de las Ciencias. Universidad del Quindío.

Resumen

La técnica fotoacústica permite evaluar el comportamiento de la razón de evolución de oxígeno de las plantas, el cual es un indicador del rendimiento fotosintético. En este estudio se monitoreó este parámetro y el crecimiento de un grupo de plantas de banana Gros Michel (*Musa AAA*), infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, patógeno causante de la marchitez vascular, una enfermedad destructiva que amenaza la sostenibilidad de los cultivares sensibles a ella en las regiones productoras. La infección efectiva de las plantas y el progreso de la marchitez comúnmente se evalúan a partir de la manifestación de los primeros síntomas externos de clorosis en las hojas bajas, a los que se asigna un valor cuantitativo según su gravedad. Aunque en el análisis de la razón de evolución de oxígeno y del crecimiento no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las plantas infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* y las plantas sanas, se demostró que esta técnica permite incluir caracteres fenotípicos relacionados con la actividad fotosintética en la caracterización de los cultivos. Los resultados en cuanto a la afectación de la enfermedad se pueden asociar con las condiciones de cultivo en invernadero y con la etapa asintomática de la enfermedad en la que se hizo la observación.

Palabras clave: Banano; Fotosíntesis; Marchitez por *Fusarium*; Razón de evolución de oxígeno.

Abstract

The photoacoustic technique allows evaluating the behavior of the oxygen evolution ratio of plants, which is an indicator of photosynthetic performance. In this study, we monitored this parameter and the growth of a group of Gros Michel banana plants (*Musa AAA*) infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. This pathogen causes vascular wilt, a destructive disease that threatens the sustainability of susceptible cultivars in producing regions. The effective infection of plants and the progress of wilt are usually evaluated from the moment of the first external symptoms of chlorosis in the lower leaves to which a quantitative value is assigned according to their severity. Although no significant statistical differences between *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* infected plants and healthy plants were evident in the oxygen evolution ratio and growth analyses, we showed that this technique allows including phenotypic characteristics related to photosynthetic activity in the characterization of crops. The results regarding the disease can be associated with greenhouse growing and the asymptomatic stage in which plants were observed.

Keywords: Banana; *Fusarium* wilt; Oxygen evolution rate; Photosynthesis.

Citación: Gordillo-Delgado F, Botero-Zuluaga M. Monitoreo fotoacústico de plantas *Musa acuminata* (Musaceae) infectadas con el hongo *Fusarium oxysporum* (Nectriaceae). Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 44(173):1073-1082, octubre-diciembre de 2020. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1227>

Editor: -Jairo Castaño Zapata

***Correspondencia:**

Fernando Gordillo Delgado;
fgordillo@uniquindio.edu.co

Recibido: 27 de mayo de 2020

Aceptado: 14 de septiembre de 2020

Publicado: 5 diciembre de 2020



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0 Internacional

Introducción

La técnica fotoacústica (FA) permite evaluar el rendimiento de la evolución de oxígeno (O_2) mediante el sonido que emana de las hojas de las plantas cuando estas se irradian directamente con pulsos de luz y se activa o limita la salida del oxígeno desde los cloroplastos a través de los estomas (Hou & Sakmar, 2010).

En la **figura 1** se muestra un esquema del sistema de medición: la cavidad de una celda FA cerrada se sella con una parte de la hoja viva y se ilumina periódicamente su haz para generar una señal fototérmica y activar simultáneamente el proceso fotosintético, en tanto que el envés es irradiado con luz continua blanca para saturar la fotosíntesis. Debido a que la energía de la luz modulada es absorbida parcialmente por la hoja, periódicamente se generan calor y oxígeno en una delgada capa de aire adyacente a esta con la misma frecuencia de modulación de la luz, lo que altera la presión dentro de la cavidad de la celda fotoacústica (Malkin & Canaani, 1994; Herbert, *et al.*, 2000).

El efecto fotoacústico resulta de la generación de sonido por el cambio periódico de presión; la saturación de la fotosíntesis permite, entonces, separar la componente fototérmica de la fotobárica correspondiente a la producción de oxígeno, para estimar así la razón de evolución de oxígeno (REO) y estudiar su comportamiento en plantas sometidas a cualquier tipo de estrés, enfermedad o tratamiento.

La técnica fotoacústica se aplica en el campo de la biología y la agronomía para medir la actividad fotosintética de algunas plantas; por ejemplo, Han, *et al.* (1999), Barja, *et al.* (2001) Vargas-Luna, *et al.* (2003) y Herbert, *et al.* (2006) hicieron estudios en plantas de espinaca, eucalipto y tomate, así como en hierbas y árboles, en tanto que Zakhidov, *et al.* (2019) analizaron con este método el comportamiento de plantas bajo ambientes soleados y de interior de bosque. En otros estudios con plantas de importancia agronómica, como el frijol, la caña de azúcar, el tomate y el maíz, se han hecho experimentos en individuos afectados por hongos patógenos (Rai, *et al.*, 2001), en simbiosis con micorrizas (Sánchez-Rocha, *et al.*, 2008) y tratados con bacterias promotoras del crecimiento (Gordillo-Delgado, *et al.*, 2016). Asimismo, algunos autores han reportado resultados de la aplicación de la técnica en plantas expuestas a diferentes intensidades de luz (Zakhidov, *et al.*, 2012; Veljović-Jovanović, *et al.*, 2016).

Fusarium oxysporum Schlechtendal (1824) es un hongo filamentoso que habita naturalmente en el suelo, reconoce las raíces de su huésped e ingresa a través de ellas hasta alcanzar los vasos del xilema, donde ocasiona marchitez vascular como resultado

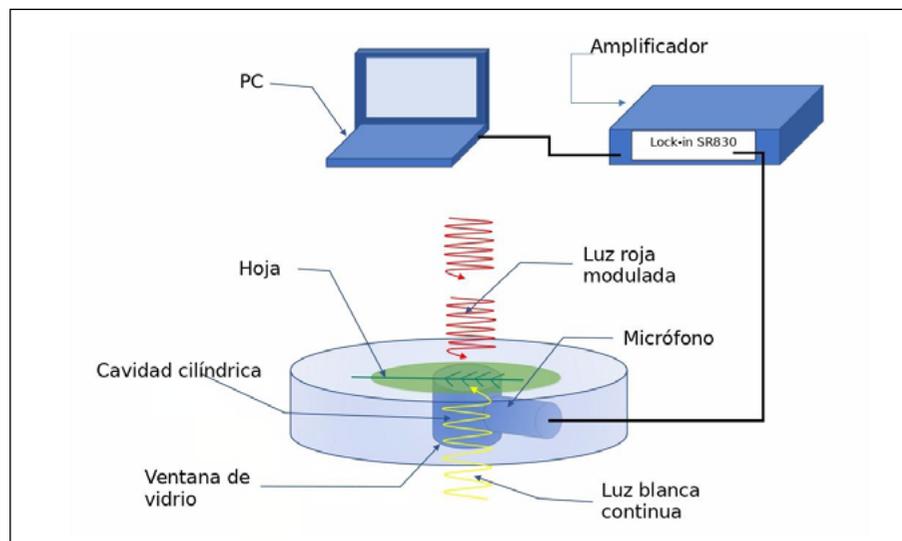


Figura 1. Esquema del sistema de medición de la REO con una celda fotoacústica cerrada

de la reacción de la planta, que bloquea el transporte de agua y nutrientes para evitar la progresión de la infección (De Sain & Rep, 2015; Gordon, 2017). Los síntomas visibles de decoloración, marchitez y necrosis en las hojas de las plantas infectadas por el hongo han sido documentados por varios autores como el producto de la alteración en la apertura de los estomas o de los procesos físicoquímicos de captación y transformación de la energía lumínica por estrés hídrico (Ghag, *et al.*, 2015; Dita, *et al.*, 2018) (Lorenzini, *et al.*, 1997; Wu, *et al.*, 2008; Sing, *et al.*, 2017; Dong, *et al.*, 2016).

Ya que la REO es un indicador del rendimiento fotosintético, su comportamiento puede monitorearse en plantas expuestas a microorganismos patógenos para evaluar los efectos de la infección. En este trabajo se evaluó el comportamiento de la REO y del crecimiento de un grupo de plantas de banano Gros Michel infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC) en función del tiempo.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se obtuvieron vitroplantas de banano Gros Michel, variedad sensible a las razas 1 y 4 de FOC, en la Unidad de Biotecnología de la Universidad Católica de Oriente en Antioquia, las cuales se transportaron luego a la Universidad del Quindío en Armenia donde las plántulas se mantuvieron en condiciones de invernadero a una temperatura promedio de 27 °C y humedad relativa promedio de 60 %; después se sembraron en bolsas plásticas con tierra y arena (proporción 50/50) previamente esterilizada y se regaron cada tres días. Se diseñó un plan de sustentación edáfico y foliar con fertilizante NPK, o triple 15, aplicado en dosis mensuales de 1g/planta durante los primeros tres meses. La dosis del nutriente se duplicó en el cuarto y el quinto mes utilizando una composición de 9 % de nitrógeno (N) amoniacal y 6 % de nítrico, 15 % de fósforo asimilable (P_2O_5), 15 % de potasio soluble en agua (K_2O), 2,2 % de calcio (CaO) y 1,7 % de azufre ($S-SO_4$). Semanalmente se aplicó un complemento foliar por aspersión en cantidades de 0,5 g, valor que se incrementó mensualmente en 0,5 g, el cual se preparó con 1,2 % de nitrógeno (N) amoniacal y 4,13 % de uréico, 0,056 % de calcio (CaO), 0,315 % de magnesio (MgO), 0,450 % de azufre (S), 0,034 % de boro (B), 0,036 % de cobre (Cu), 0,047 % de hierro (Fe), 0,100 % de manganeso (Mn), 0,005 % de molibdeno (Mo) y 0,100 % de zinc (Zn), disueltos en un litro de agua.

Cultivo in vitro del hongo y preparación del inóculo

Se cultivaron aislamientos de dos cepas de FOC raza 1 tropical (R1T) proporcionadas por el Centro de Investigaciones del Banano (Cenibanano) en agar de papa dextrosa (PDA) durante siete días alternando 12 horas de luz y 12 de oscuridad a una temperatura de 26 °C; posteriormente, se prepararon dos suspensiones de esporas en concentraciones de $9,3 \times 10^6$ y $8,4 \times 10^6$ ufc/mL, determinadas por conteo en un hematócmetro de Neubauer.

Inoculación de las plantas

Se seleccionaron 11 plantas de banano de un grupo con doce semanas de crecimiento y se les aplicaron 3 mL de la suspensión con $9,3 \times 10^6$ ufc/mL a la altura del pseudotallo, en tanto que alrededor de las raíces se esparcieron 3 mL de la suspensión con $8,4 \times 10^6$ ufc/mL. Once plantas sanas se escogieron como grupo de control y se les aplicó agua destilada en la misma proporción.

Crecimiento y REO

Durante 20 semanas consecutivas se registró la REO, el área foliar (largo * ancho * 0,8), el número de hojas activas de color verde oscuro totalmente extendidas y de un ancho mayor a 10 cm en su parte media (Cayón, 2001; Aristizábal, 2008), así como la altura y el diámetro del pseudotallo medido a 2 cm del suelo, de cada una de las plantas.

La progresión de los síntomas de marchitez por FOC se evaluó siguiendo la escala modificada de 1 a 5 propuesta por Ploetz, *et al.* (1999), en la que 1 corresponde a ausencia de síntomas, 2 a decoloración, 3 a decoloración y marchitez en las márgenes de las hojas

bajeras con algunos peciolos doblados, 4 a decoloración y marchitez graves en todas las hojas y pequeñez de las hojas jóvenes, y 5 a muerte. Se tuvieron en cuenta las descripciones de la progresión de la enfermedad hechas por **Dong, et al.** (2014).

El monitoreo de la actividad fotosintética se extendió por ocho semanas durante las cuales las plantas infectadas con FOC exhibieron decoloración y necrosis en las hojas bajeras, en tanto que las hojas superiores permanecían asintomáticas. Las medidas se efectuaron semanalmente durante tres días entre las 8:00 y las 10:00 horas y antes de medirlas se dejaban en la oscuridad por cinco minutos aproximadamente. En cada ocasión se tomó una planta diferente y la medición se repitió dos veces con la penúltima hoja emitida, que, por su ubicación, tiene mayor superficie fotosintética expuesta directamente a la luz (**Cayón, 2001**).

Aunque **Dong, et al.** (2014) señalan que la respuesta de las hojas de banano a la infección con FOC varía según su posición en la planta, fue necesario elegir una de ellas por la dificultad que implica el examen de una mayor cantidad; no obstante, siempre se tuvo cuidado de medir este tipo de hoja, con el fin de hacer las comparaciones correspondientes.

En la **figura 1** se muestra el montaje experimental utilizado: con un led se generaron pulsos de luz roja modulada con frecuencia de 17 Hz que se hicieron incidir sobre el haz de la hoja, en tanto que el envés fue irradiado en un período intermedio de 30 segundos con luz blanca continua proveniente de otro led para saturar la fotosíntesis. Las contribuciones fototérmica y fotobárica en función del tiempo se detectan con un micrófono que capta el sonido en la cavidad cilíndrica de la celda fotoacústica. La señal generada, del orden de los microvoltios, se registra en un computador mediante una interfaz conectada a un amplificador Lock-in SR830.

Análisis estadístico

Los datos del crecimiento y del monitoreo fotoacústico de las plantas sanas e infectadas se analizaron en función del tiempo con la prueba de hipótesis t de Student. Bajo la condición de normalidad e igual varianza se compararon los dos grupos, es decir, plantas infectadas y plantas sanas, en términos del valor medio. Así, la hipótesis de partida fue H_0 , es decir, la media de cada parámetro (medidas de crecimiento y REO) era igual en ambos grupos. Esta hipótesis se consideró cierta si los datos seguían una distribución t de Student y la probabilidad (p) de aceptación se relacionaba con los valores centrales de la distribución, para los que p era mayor que 0,05; si p resultaba menor que 0,05, era poco probable que se cumpliera la hipótesis y debía rechazarse. Para comparar la media de los datos de crecimiento dentro de cada grupo se hizo un análisis de varianza (ANOVA) de un factor y medidas repetidas (**Spiegel, 2009**).

Resultados

El comportamiento típico de las curvas obtenidas con la técnica fotoacústica se muestra en la **figura 2a**. La amplitud de la señal fotoacústica es el resultado de llevar la sección irradiada de la hoja a su máximo rendimiento en el proceso de evolución del oxígeno y después saturarlo al irradiarla con la luz blanca continua, lo que afecta principalmente al fotosistema II (PS II) (**Ducruet, et al., 2007; Moreno, et al., 2008**). Esto induce una serie de cambios reversibles, como la absorción y el almacenamiento de fotones en los centros de reacción de las clorofilas, la continuidad de las cascadas de señalización y la hidrólisis del agua que tienen lugar en la membrana tilacoidal (**Herbert, 2006; Järvi, et al., 2013**).

En todos los casos, ante el encendido y apagado de la luz blanca, el tiempo de respuesta de las plantas fue de aproximadamente tres segundos y la amplitud de la señal tuvo un cambio de alrededor de $\pm 6 \mu\text{V}$, como se muestra en la **figura 2a**.

En la **figura 2b** se observa el comportamiento en función del tiempo de la REO de las plantas infectadas con FOC y en las sanas, con una tendencia similar en las nubes de puntos correspondientes. Los valores de REO se estimaron a partir de la curva obtenida en cada medición y se expresaron como el porcentaje de caída de la señal fotoacústica al descontar la componente fotobárica mediante la saturación de la fotosíntesis.

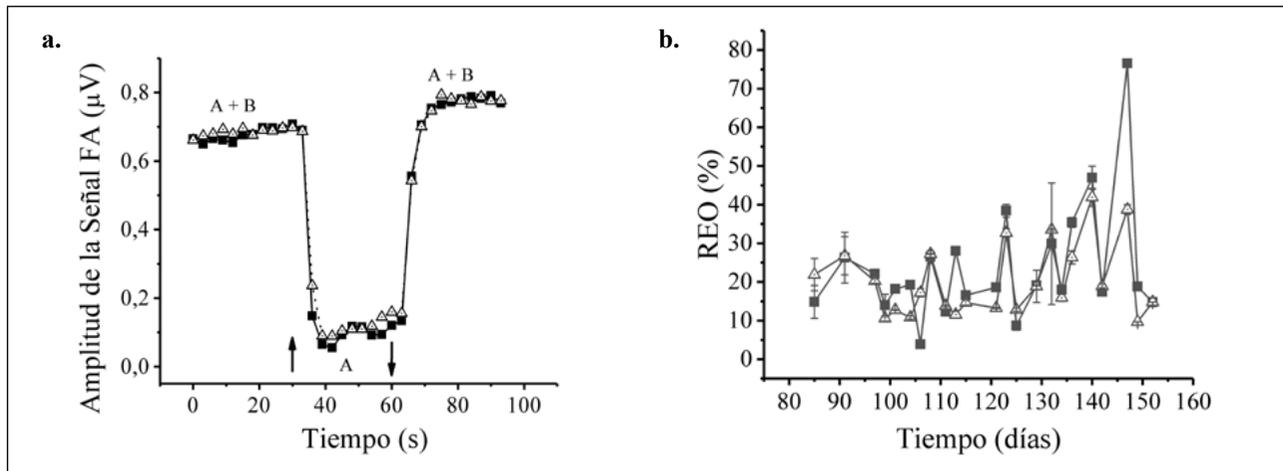


Figura 2. a) Amplitud de la señal fotoacústica con irradiación de luz roja y con luz blanca encendida (\uparrow) y apagada (\downarrow), emitida por las plantas infectadas con FOC (triángulos blancos) y sanas (cuadros negros). b) Comportamiento de la REO en función del tiempo. Los datos graficados corresponden a la media aritmética del total de datos recolectados.

En la misma figura se observa que durante el tiempo de monitoreo, la REO tuvo un comportamiento oscilatorio en ambos grupos, con un promedio de 21,2 % en el grupo sano, alcanzando valores entre el 4 y el 76 %, y de cerca de 19,4 % en el grupo infectado, con valores entre el 10 y el 49 %. Con la prueba de hipótesis t de Student se halló un valor de p mayor que 0,05, lo que indica que el comportamiento de la REO de las plantas infectadas con FOC no se diferenció del grupo de control.

En el análisis del crecimiento de las plantas se observó que durante los primeros 50 días de monitoreo aquellas infectadas con FOC presentaron un comportamiento similar a las del grupo sano, seguido de un periodo de 30 días en los que hubo una disminución en los valores de los parámetros de desarrollo. A partir del día 80, el comportamiento de estos datos tendió a igualarse nuevamente a los del grupo sano (**Figura 3**). El grupo infectado con FOC presentó reducciones de 19,8 % del área foliar comparado con el grupo sano debidas a la necrosis del tejido, así como del 1,8 % en la REO y del 1 % o menos en el número de hojas activas emitidas, la altura y el diámetro del pseudotallo. Como se observa en la **figura 3d**, este último se redujo durante la etapa media de la evaluación por la caída de los peciolo de las hojas muertas. En la **figura 4** se muestra la progresión de la enfermedad en las plantas infectadas con FOC.

Según los resultados de la prueba de hipótesis t de Student, la respuesta en el crecimiento de las plantas infectadas tampoco llegó a diferenciarse significativamente del comportamiento observado en el grupo de plantas sanas ($p > 0,05$), aunque en el grupo infectado con FOC se observó una reducción cercana al 20 % del área foliar, asociada con los efectos de la marchitez por acción del hongo en las hojas bajas de las plantas. Los resultados del ANOVA de medidas repetidas indicaron que la media de las variables de crecimiento se diferenciaron significativamente al interior de cada grupo ($p < 0,05$) y el análisis *post hoc*, que compara la medias entre pares de variables, indicó que el área foliar explicaba la varianza de los grupos, con $p < 0,05$ en todos los casos. Ello sugiere que este parámetro se ve influenciado por el proceso natural de pérdida y ganancia de hojas durante el crecimiento de las plantas.

Otros autores han documentado que el patógeno afecta diferencialmente las hojas según su posición en las plantas de variedades de banano sensibles a la infección por FOC (**Dong, et al., 2014, Dong, et al., 2016**), lo que concuerda con la afectación exclusiva de las hojas bajas, en tanto que las hojas superiores se mantuvieron asintomáticas. En la **tabla 1** se presentan los valores de la REO, así como de los parámetros de crecimiento y la significación estadística en la prueba de hipótesis.

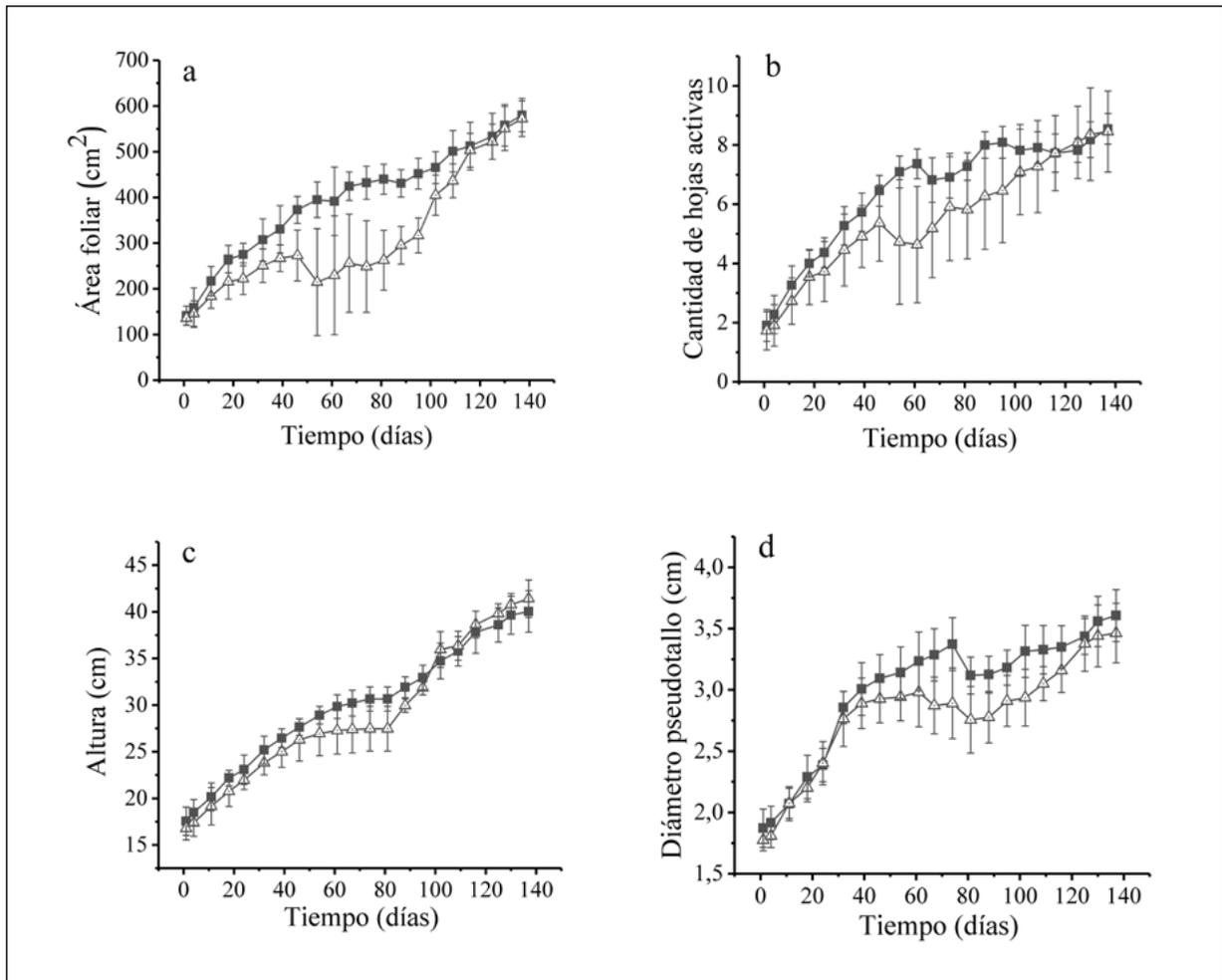


Figura 3. Comportamiento en función del tiempo de las variables de crecimiento de: **a)** área foliar, **b)** número de hojas activas, **c)** altura y **d)** diámetro del pseudotallo de las plantas infectadas (triángulos blancos) y sanas (cuadros negros) durante las 20 semanas de monitoreo en invernadero

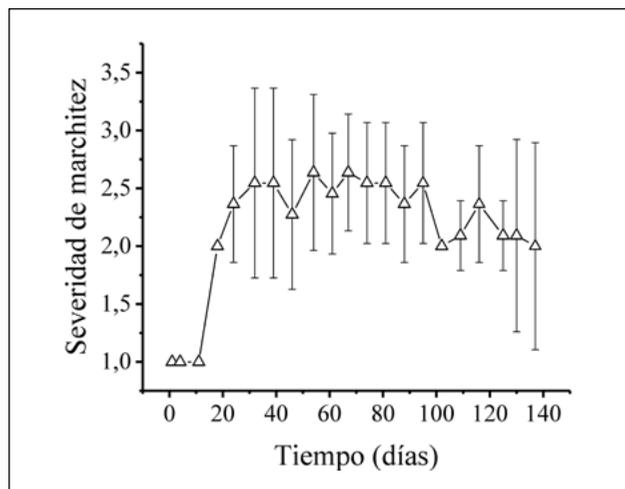


Figura 4. Imágenes correspondientes al seguimiento de los síntomas de decoloración y necrosis en las hojas bajas de las plantas infectadas con FOC durante el tiempo del monitoreo

Tabla 1. Significación estadística en la prueba t de Student de los datos de la REO y de las variables de crecimiento correspondientes a los grupos de plantas de banano infectadas y de control

Parámetros	Grupo infectado con FOC		Grupo sano		Prueba t de Student p
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
REO (%)	19,4	8,7	21,2	9,9	0,504
Área foliar (cm ²)	309,8	133,2	389,6	125,3	0,052
Número de hojas activas	5,4	2	6,3	2	0,166
Altura (cm)	28,7	7,7	29,6	6,8	0,672
Diámetro del pseudotallo (cm)	2,8	0,5	3	0,5	0,215

Discusión

En el banano y otras variedades de interés comercial, como el tomate, la sandía y el pepino, sensibles a la marchitez por *F. oxysporum*, la gravedad de la enfermedad se ha clasificado en dos etapas según la progresión de los síntomas de decoloración y necrosis del tejido y los efectos en la fisiología de las hojas, que inicialmente inducen el cierre estomático por estrés hídrico, lo que lleva a suponer una reducción de la eficiencia de la fotosíntesis y daños estructurales en la maquinaria fotosintética en etapas avanzadas. Esto afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas y la rentabilidad de los cultivos (Ye, *et al.*, 2004; Pshibytko, *et al.*, 2006; Wu, *et al.*, 2008; Singh, *et al.*, 2017).

La integración de la información concerniente a la REO y la del crecimiento de las plantas de banano infectadas con FOC permitió precisar que los procesos que tienen lugar en los cloroplastos para la síntesis de la glucosa (responsable del crecimiento en cualquier parte de la planta) no se vieron afectados por la actividad del patógeno durante el tiempo de medición, lo que estaría relacionado con el hecho de que se estaba en la fase de incubación de la enfermedad; no obstante, se debe tener en cuenta que la observación se hizo a temprana edad y que, probablemente, el método de propagación y de cultivo, así como las condiciones de invernadero, tuvieron que ver en la respuesta al hongo.

Fusarium oxysporum crece en los tejidos de su huésped después de la inoculación sin que se presenten expresiones sintomáticas hasta que pasa la fase de incubación. Aunque no se encontró información sobre la medición de parámetros fotosintéticos en plantas de banano afectadas por la enfermedad, sí se encontraron estudios en plantas de tomate (Marín-Ortiz, *et al.*, 2020). En ese estudio los autores presentan datos de la eficiencia fotoquímica, obtenidos al medir la cantidad de oxígeno producido por las hojas después de ser expuestas a luz de diversas longitudes de onda, los cuales evidenciaron que el rendimiento cuantitativo del sistema PSII de las plantas con marchitez no fue significativamente diferente del correspondiente al control. Por otra parte, el comportamiento de estas medidas en los días posteriores a la infección es comparable con el hallado para la REO en ese estudio.

Cabe resaltar que el comportamiento de la REO de las plantas de banano fue coherente con el de las variables de crecimiento, lo que indica que la técnica fotoacústica puede funcionar como complemento para monitorear el desarrollo de un cultivo, pero es necesario validar el método comparando las mediciones aquellas hechas con otras técnicas como la espectrofotometría de fluorescencia.

En general, con este método los datos de la REO se deben tomar diariamente en un intervalo de tiempo adecuado, ya que la actividad fotosintética de las plantas varía en función de este parámetro y es posible hacer comparaciones entre los comportamientos observados (Gordillo-Delgado, *et al.*, 2019), utilizando, por ejemplo, el análisis de componentes principales y de regresión por mínimos cuadrados parciales, con lo que es posible validar la dependencia de la REO frente a los tratamientos o la variable que se considere.

Los resultados reportados en el presente estudio sirven de prueba para consolidar las bases de la validación en campo de nuevos métodos de diagnóstico y de evaluación de tratamientos de las enfermedades ocasionadas por microorganismos patógenos y condiciones ambientales desfavorables, como las altas temperaturas y la falta de agua (Ashraf & Harris, 2013; Madroño, *et al.*, 2019), que continúan siendo un reto en la investigación agronómica.

Conclusiones

El análisis de los resultados indica que durante el tiempo de estudio la marchitez por FOC no indujo cambios significativos en la REO ni en el crecimiento de las vitroplantas Gros Michel cultivadas en condiciones de aislamiento en invernadero, lo que se explicaría por hallarse estas en la fase asintomática de la enfermedad cuando se hicieron las mediciones. El uso de la técnica fotoacústica tiene potencial para aumentar la capacidad de caracterización de cultivos basada en la medición de este tipo de caracteres fenotípicos relacionados con la actividad fotosintética para determinar el período de incubación de la marchitez vascular al prolongar el período de observación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad del Quindío y al Ministerio de Ciencia por el financiamiento a través del Programa “Jóvenes Investigadores e Innovadores” y a Cenibanano por suministrar las muestras del hongo, así como la financiación parcial del “Programa OMICAS: optimización multiescala *in silico* de cultivos agrícolas sostenibles (infraestructura y validación en arroz y caña de azúcar)” de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali, el cual recibió un estímulo del Banco Mundial, el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia, el Ministerio de Educación, el Ministerio de Industria y Turismo de Colombia, y el ICETEX (FP44842-217-2018).

Contribución de los autores

FGD: coordinación de experimentos, análisis de datos, redacción del manuscrito, diseño de esquemas y gráficas; MBZ: experimentos, análisis estadístico y redacción del manuscrito. Los dos autores contribuyeron a la revisión del documento y autorizaron su presentación para publicación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Aristizábal, M. (2008). Evaluación del crecimiento y desarrollo foliar del plátano hondureño enano (Musa AAB) en una región cafetera colombiana. *Agron*, **16** (2): 23-30.
- Ashraf, M. H. P. J. C., Harris, P. J. (2013). Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*. **51** (2): 163-190. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>
- Barja, P. R., Mansanares, A. M., Da Silva, E. C., Magalhães, A. C. N., Alves, P. L. C. A. (2001). Photosynthesis in eucalyptus studied by the Open Photoacoustic technique: Effects of irradiance and temperature. *Acoust Phys*. **47** (1): 16-21. Doi: 10.1134/1.1340073
- Cayón-Salinas, D. G. (2001). Evolución de la fotosíntesis, transpiración y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (Musa AAB Simmonds). *Infomusa (FRA)*. **12** (15): 10.
- De Sain, M. & Rep, M. (2015). The role of pathogen-secreted proteins in fungal vascular wilt diseases. *Int J Mol Sci*. **16** (10): 23970-23993. Doi: 10.3390/ijms161023970
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., Staver, C. P. (2018). Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Front Plant Sci*. **9**: 1468. Doi: 10.3389/fpls.2018.01468
- Dong, X., Xiong, Y., Ling, N., Shen, Q., Guo, S. (2014). Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by Fusarium. *World J Microbiol Biotechnol*. **30** (4): 1399-408. Doi: 10.1007/s11274-013-1564-1

- Dong, X., Wang, M., Ling, N., Shen, Q., Guo, S.** (2016). Potential role of photosynthesis-related factors in banana metabolism and defense against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Environ Exp Bot.* **129**: 4-12. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.01.005
- Ducruet, J. M., Peeva, V., Havaux, M.** (2007). Chlorophyll thermofluorescence and thermoluminescence as complementary tools for the study of temperature stress in plants. *Photosynthesis Research.* **93** (1-3): 159-171. Doi: 10.1007/s11120-007-9132-x
- Ghag, S. B., Shekhawat, U. K., Ganapathi, T. R.** (2015). *Fusarium* wilt of banana: biology, epidemiology and management. *Int J Pest Manag.* **61** (3): 250-63. Doi: 10.1080/09670874.2015.1043972
- Gordillo-Delgado, F., Marín, E., Calderón, A.** (2016). Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. *International Journal of Thermophysics.* **37** (9): 92. Doi: 10.1007/s10765-016-2101-x
- Gordillo-Delgado, F., Zuluaga-Acosta, J., Marín-Gallego, B. J.** (2019). Inoculación de nanopartículas de TiO₂-Ag en semillas de espinaca. *Informador Técnico.* **83**: 90-99. 10.23850/22565035.1659.
- Gordon, T. R.** (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annu Rev phytopathol.* **55**: 23-39. Doi: 10.1146/annurev-phyto-080615-095919
- Han, T., Vogelmann, T. C., Nishio, J.** (1999). A photoacoustic spectrometer for measuring heat dissipation and oxygen quantum yield at the microscopic level within leaf tissues. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* **48** (2-3): 158-165. Doi: 10.1016/S1011-1344(99)00042-1
- Herbert, S. K., Han, T., Vogelmann, T. C.** (2000). New applications of photoacoustics to the study of photosynthesis. *Photosynth Res.* **66** (1-2): 13-31. Doi: 10.1023/A:1010788504886
- Herbert, S. K., Biel, K. Y., Vogelmann, T. C.** (2006). A photoacoustic method for rapid assessment of temperature effects on photosynthesis. *Photosynth res.* **87** (3): 287-294. Doi: 10.1007/s11120-005-9009-9
- Hou, H. J., Sakmar, T. P.** (2010). Methodology of pulsed photoacoustics and its application to probe photosystems and receptors. *Sensors.* **10** (6): 5642-5667. Doi: 10.3390/s100605642
- Liu, S., Li, J., Zhang, Y., Liu, N., Viljoen, A., Mostert, D., Sheng, O.** (2020). Fusaric acid instigates the invasion of banana by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense TR4. *New Phytol.* **225** (2): 913-929. Doi: 10.1111/nph.16193
- Lorenzini, G., Guidi, L., Nali, C., Ciompi, S., Soldatini, G. F.** (1997). Photosynthetic response of tomato plants to vascular wilt diseases. *Plant Sci.* **124** (2): 143-152. Doi: 10.1016/S0168-9452(97)04600-1
- Järvi, S., Gollan, P. J., Aro, E. M.** (2013). Understanding the roles of the thylakoid lumen in photosynthesis regulation. *Frontiers in Plant Science.* **4**: 434. Doi: 10.3389/fpls.2013.00434
- Madroño, L. J., Corredor-Rozo, Z. L., Escobar-Pérez, J., Velandia-Romero, M. L.** (2019). Next generation sequencing and proteomics in plant virology: how is Colombia doing? *Acta Biológica Colombiana.* **24** (3): 423-438. Doi: 0.15446/abc.v24n3.79486
- Malkin, S. & Canaani, O.** (1994). The use and characteristics of the photoacoustic method in the study of photosynthesis. *Annual review of plant mol biol.* **45** (1): 493-526.
- Marín-Ortiz J. C., Gutiérrez-Toro N., Botero-Fernández V., Hoyos-Carvajal L.M.** (2020). Linking physiological parameters with visible/near-infrared leaf reflectance in the incubation period of vascular wilt disease. *Saudi Journal of Biological Sciences.* **27** (1): 88-99. Doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.007
- Moreno, S. G., Vela, H. P., Álvarez, M. O. S.** (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica.* **27** (4): 119-129.
- Ploetz, R. C., Haynes, J. L., Vázquez, A.** (1999). Responses of new banana accessions in South Florida to Panama disease. *Crop Prot.* **18** (7): 445-449. Doi: 10.1016/S0261-2194(99)00043-5
- Pshibytko, N. L., Zenevich, L. A., Kabashnikova, L. F.** (2006). Changes in the photosynthetic apparatus during *Fusarium* wilt of tomato. *Russ J Plant Physiol.* **53** (1): 25-31. Doi: 10.1134/S1021443706010031
- Rai, A. K., Mathur, D., Singh, J. P.** (2001). Photoacoustic Spectroscopy, a Nondestructive Method for Sensitive Analysis of Disease in Plants. *Instrum Sci Technol.* **29** (5): 355-366. Doi: 10.1081/CI-100107228
- Sánchez-Rocha, S., Vargas-Luna, M., Gutiérrez-Juárez, G., Huerta-Franco, R., Olalde-Portugal, V.** (2008). Benefits of the Mycorrhizal Fungi in Tomato Leaves Measured by Open Photoacoustic Cell Technique: Interpretation of the Diffusion Parameters. *Int J Thermophy.* **29** (6): 2206-2214. Doi: 10.1007/s10765-008-0411-3

- Singh, V. K., Singh, H. B., Upadhyay, R. S.** (2017). Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant physiol bioch.* **118**: 320-32. Doi: 10.1016/j.plaphy.2017.06.028
- Vargas-Luna, M., Madueño, L., Gutiérrez-Juárez, G., Bernal-Alvarado, J., Sosa, M., González-Solis, J. L., Campos, P.** (2003). Photorespiration and temperature dependence of oxygen evolution in tomato plants monitored by open photoacoustic cell technique. *Rev Sci Instrum.* **74** (1): 706-708. Doi: 10.1063/1.1517753
- Spiegel, M.** (2009). *Estadística*. (4a. ed.) McGraw-Hill Interamericana. <http://crai.referencistas.com:2078/?il=608>
- Veljović-Jovanović, S., Vidović, M., Morina, F., Prokić, L., Todorović, D. M.** (2016). Comparison of photoacoustic signals in photosynthetic and nonphotosynthetic leaf tissues of variegated *Pelargonium zonale*. *Int J Thermophys.* **37** (9): 91. Doi: 10.1007/s10765-016-2092-7
- Wu, H. S., Bao, W., Liu, D. Y., Ling, N., Ying, R. R., Raza, W., Shen, Q. R.** (2008). Effect of fusaric acid on biomass and photosynthesis of watermelon seedlings leaves. *Caryologia.* **61** (3): 258-268. Doi: 10.1080/00087114.2008.10589638
- Ye, S. F., Yu, J. Q., Peng, Y. H., Zheng, J. H., Zou, L. Y.** (2004). Incidence of Fusarium wilt in *Cucumis sativus* L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates. *Plant Soil.* **263** (1): 143-150. Doi: 10.1023/B:PLSO.0000047721.78555.dc
- Zakhidov, E. A., Kokkharov, A. M., Kuvondikov, V. O., Nematov, S. K., Saparbaev, A. A.** (2012). Photoacoustic spectroscopy of thermal relaxation processes of solar energy in the photosynthetic apparatus of plants. *Applied Solar Energy.* **48** (1): 62-66. Doi: 10.3103/S0003701X12010161
- Zakhidov, E. A., Kokkharov, A. M., Kuvondikov, V. O., Nematov, S. K., Tazhibaev, I. I.** (2019). A Low-Frequency Photoacoustic Spectrometer with an RGB Light-Emitting Diode for Evaluating Photosynthetic Activity in Plant Leaves. *Acoust Phys.* **65** (1): 90-95. Doi: 10.1134/S1063771019010172