

SEP

SEIT

**DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN TECNOLÓGICA
AGROPECUARIA**

INSTITUTO TECNOLÓGICO AGROPECUARIO No. 2
“Ing. José Alberto Navarrete Ruiz”

AGRESIVIDAD PATOGENICA DE AISLAMIENTOS DE
Mycosphaerella fijiensis Y SU CARIOTIPO ELECTROFORÉTICO

T E S I S

que presenta:

NÉSTOR EDUARDO RAIGOSA FLORES

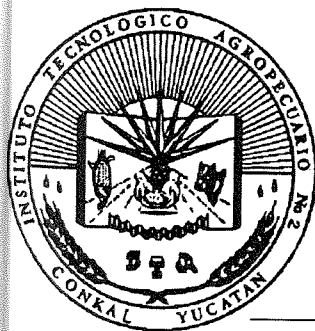
Como requisito parcial para obtener el título de:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Conkal, Yucatán, México

2004

BIBLIOTECA CICY



ÍNDICE

	Página
Índice de cuadros	vii
Índice de de figuras	viii
Resumen	ix
Abstract	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades de la familia Musácea	3
2.2 Origen y diversidad del género <i>Musa</i>	3
2.3 El género <i>Musa</i>	4
2.4 Generalidades del cultivo del banano y plátano	7
2.5 Importancia de los bananos y plátanos en México	8
2.6 Aspectos generales de la Sigatoka negra	10
2.6.1 Importancia	10
2.6.2 Distribución	11
2.6.3 Taxonomía de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	13
2.6.4 Biología y ciclo de vida de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	13
2.6.5 Sintomas	17
2.6.6 Epidemiología	18
2.7 Agresividad y virulencia de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	19
2.8 Control de la enfermedad	20
2.9 Investigación sobre la Sigatoka negra en México	21
2.10 Cariotipo electroforético	21
2.11 Variabilidad del número y tamaño molecular en hongos patógenos	23
III. OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo general	25
3.2 Objetivos específicos	25
IV. HIPÓTESIS	26
V. MATERIALES Y MÉTODOS	27
5.1 Material biológico empleado	27
5.2 Aislamiento del patógeno	27
5.3 Identificación molecular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	29
5.4 Extracción de ADN	29
5.4.1 Determinación de la concentración de ADN	30
5.5 Reacción en Cadena de la Polimerasa	31
5.6 Caracterización de agresividad en los aislados de <i>M. fijiensis</i>	32
5.6.1 Producción de micelio	32
5.6.2 Inoculación artificial de plantas de Enano-gigante	33
5.6.3 Caracterización de la agresividad en tres aislados de <i>M.</i>	

<i>fijiensis</i>	33
5.7 Obtención del cariotipo molecular de <i>M. fijiensis</i> , utilizando el sistema CHEF	35
5.7.1 Obtención de masa micelial	36
5.7.2 Elaboración de bloques de agarosa "plugs" de micelio	36
5.7.3 Preparación del gel y condiciones de corrida, para la electroforésis	37
5.7.4 Tinción del gel	38
5.8 Estimación del tamaño genómico de <i>M. fijiensis</i>	38
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
6.1 Aislamiento monoascosporico	39
6.2 Identificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa	41
6.3 Inoculación de plantas de banano con <i>M. fijiensis</i>	43
6.4 Agresividad patogénica de aislados de <i>M. fijiensis</i>	43
6.5 Estimación del cariotipo molecular de <i>M. fijiensis</i>	46
6.5.1 Obtención de "plugs" de micelio	46
6.6 Estimación del número y tamaño genómico de tres aislados de <i>M. fijiensis</i> , con diferente grado de agresividad patogénica	46
VII. CONCLUSIONES	52
VIII. LITERATURA CITADA	53
ANEXOS	61
Anexo 1. Preparación de medios de cultivo y soluciones	61
Anexo 2. Formato para dar seguimiento al desarrollo de la enfermedad	62
Anexo 3. Desarrollo sintomatológico de 11 aislados de <i>M. fijiensis</i>	63

RESUMEN

La actividad bananera presenta problemas debido en parte a la Sigatoka negra, enfermedad inducida por el hongo ascomiceto *Mycospharella fijiensis*, que ocasiona un rápido deterioro del área foliar, dando como consecuencia una disminución en la producción y maduración prematura. El control de esta enfermedad se basa en el uso de fungicidas, lo cual conlleva a elevar los costos de producción, a deteriorar el ambiente y a provocar daños a la salud. Aunado a esto, algunas poblaciones del patógeno han desarrollado resistencia a varios fungicidas. Este hongo presenta una variabilidad patogénica debido entre otros factores a su diversidad genética y a la habilidad para atacar diferentes hospedantes. Conocer su biología, así como las características moleculares de este patógeno, podrían contribuir al desarrollo de nuevas modalidades de control. El análisis del cariotipo electroforético del hongo, es parte clave de estos estudios básicos y que se pueden realizar mediante la técnica de Electroforesis de Campo Pulsante (PFEG). El presente estudio consistió en aislar líneas monoascospóricas de *M. fijiensis*, a partir de plantas de banano infectadas con este patógeno. Para confirmar la identidad de los aislados, se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), empleando oligonucleótidos específicos para *M. fijiensis*. Los aislados se inocularon artificialmente, en plantas ex vitro de banano de un cultivar susceptible, Enano-Gigante (*Musa acuminata*, subgrupo Cavendish), para determinar el nivel de agresividad se consideró la severidad o grado del daño y el tiempo después de la inoculación, se seleccionaron tres aislados que manifestaron diferentes grados de agresividad; alta, media y ligera, para analizar su cariotipo electroforético y determinar si existe entre ellas un polimorfismo en la longitud y el número de cromosomas. En complemento a este estudio los aislados fueron crecidos en medio líquido para comparar y medir su rango de variación en 20 días de crecimiento.