

ÍNDICE	PÁGINA
Resumen.....	1
Introducción.....	2
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>4</b>
1.1.- Antecedentes de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , agente causal de la Sigatoka negra en plátano.....	4
1.1.1.- Taxonomía.....	4
1.2.- Ciclo de vida de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	4
1.2.2.- Fase sexual.....	5
1.2.2.- Fase asexual.....	6
1.3.- Ciclo infeccioso de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	7
1.4.- Epidemiología.....	9
1.5.- Agresividad y virulencia de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	10
1.6.- Control de la enfermedad de la Sigatoka negra.....	10
1.7.- Importancia de la Sigatoka negra.....	12
1.8.- Investigación sobre <i>Mycosphaerella fijiensis</i> realizada en México.....	13
1.9.- Justificación.....	14
1.10.- Hipótesis.....	15
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>16</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>16</b>
2.1.- Objetivo general.....	16
2.2.- Objetivo particular.....	16
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>17</b>
3.1.- Cultivo de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> en medio líquido.....	17

3.2.- Extracción de proteína.....	17
3.3.- Cuantificación de proteína.....	18
3.4.- Electroforesis.....	19
3.5.- Actividad de proteasa en gel desnaturalizante.....	19
3.6.- Actividad de proteasa en gel nativo.....	20
3.7.- Evaluación del efecto del extracto proteico de <i>M. fijiensis</i> sobre hojas de banano susceptible y resistente a la Sigatoka negra.....	20
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>21</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>21</b>
4.1.- Comportamiento del peso fresco de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> y el pH del medio de cultivo durante el ciclo <i>in vitro</i> .....	22
4.2.- Comportamiento de la conductividad del medio V8 durante el ciclo de cultivo <i>in vitro</i> de <i>M. fijiensis</i> .....	23
4.3.- Determinación del perfil de proteína intracelular durante el ciclo <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	24
4.4.- Análisis de actividad de proteasa en la proteína intracelular colectada en los diferentes días del ciclo de cultivo <i>in vitro</i> de <i>M. fijiensis</i> .....	25
4.5.- Perfil de proteína extracelular secretado durante el ciclo de cultivo <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .....	26
4.6.- Análisis de la actividad de proteasa presente en la proteína extracelular durante el ciclo <i>in vitro</i> de <i>M. fijiensis</i> .....	29

4.7.- Efecto de la proteasa extracelular de <i>M. fijiensis</i> sobre hojas de plantas de banano susceptible, resistente y papaya.....	30
4.7.1.- Banano susceptible ( <i>Enano gigante</i> ).....	31
4.7.1.- Banano tolerante ( <i>Musa balbisiana</i> ).....	33
4.7.3.- Papaya maradol ( <i>Carica papaya</i> ).....	35
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	37
Discusión.....	37
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	41
Conclusiones.....	41
Literatura citada.....	42
Anexo 1.....	50

## RESUMEN

*Mycosphaerella fijiensis* es un hongo ascomiceto que está presente en la mayoría de las plantaciones de banano y plátano del mundo. Este hongo causa la enfermedad conocida como Sigatoka negra del banano y tiene enormes repercusiones económicas debido a las elevadas pérdidas que ocasiona en la producción de banano. En nuestro grupo estamos interesados en entender los mecanismos bioquímicos y moleculares que facilitan o restringen el establecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* en las plantas de banano. En este trabajo se estableció el cultivo líquido de la cepa C1233 de *M. fijiensis* en jugo V8, con el fin de caracterizar su ciclo de crecimiento así como analizar y caracterizar el proteoma intracelular y extracelular de este hongo. Se determinó que el crecimiento *in vitro* de *M. fijiensis* comprende entre 3 y 9 días, aunque el ciclo de cultivo utilizado en este estudio fue de 21 días. Además, por medio de electroforesis en geles desnaturalizantes o nativos de 15% de poliacrilamida, se analizaron los perfiles de proteínas intracelulares y extracelulares de *M. fijiensis*; se encontró que algunas de ellas exhiben actividad de proteasa sobre gelatina. La aplicación de 20 µg del exoproteoma de *M. fijiensis* sobre hojas de plantas de banano susceptible (*Musa acuminata*, cv *enano gigante*) o tolerante (*Musa balbisiana*) desencadenó una respuesta de hipersensibilidad, que después de cuatro días concluyó en el desarrollo de necrosis en los tejidos inoculados. La necrosis causada en las hojas de banano con el exoproteoma de *M. fijiensis*, también se pudo reproducir cuando se aplicó 20 µg de una preparación de proteasa comercial. La inoculación de hojas de planta de papaya maradol (*Carica papaya*) con las mismas concentraciones del exoproteoma de *M. fijiensis* y de la proteasa comercial también desencadenó la reacción de hipersensibilidad y el desarrollo de necrosis, aunque de forma más limitada. Este resultado sugiere que las proteasas extracelulares producidas por *M. fijiensis* podrían facilitar el establecimiento de este hongo sobre las plantas de banano.