

PRODUCCION DE *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*, EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Bárbara Velasco Ulloa, Victor Albores Flores, Ma. de Lourdes Adriano Anaya, Miguel Salvador Figueroa.
Area de Biotecnología. Facultad de Ciencias Químicas. U.N.A.CH. Carr. a Puerto Madero Km. 2.
Tapachula, 30700, Chiapas
E-mail: msalvad@montebello.unach.mx

Palabras clave: *ascosporas*, *biomasa*, *Mycosphaerella fijiensis*,

Introducción. Los cultivos de plátanos y bananos tienen gran importancia en la economía y dieta básica de muchos países del mundo. Una de las principales preocupaciones de los productores de banano y plátano es el control de enfermedades, ya que estas Musaceas son afectadas por diversas enfermedades foliares, entre las que se encuentran la Sigatoka Negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. La Sigatoka Negra apareció por primera vez en las islas Fiji en 1963. Entre 1977 y 1980 se diseminó por el sur de México y por toda América Central. El control de la enfermedad se efectúa por medios químicos y hasta el momento no se ha desarrollado ninguna variedad resistente de bananos o plátanos comercialmente aceptable. Los estudios de laboratorio realizados hasta la fecha se han enfocado primordialmente a describir el desarrollo del tubo germinativo y el efecto de la humedad relativa y temperatura en dicho proceso. Este trabajo es parte de un programa global para la detección a etapas tempranas de *M. fijiensis* por medio de técnicas inmunológicas.

Ojetivo: Desarrollar y optimizar un medio de cultivo que permita la producción de biomasa de *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*.

Materiales y métodos Para el aislamiento del patógeno, se utilizaron hojas de banano que mostraron todos los síntomas de la enfermedad. Algunas muestras se examinaron inmediatamente y otras se incubaron en cámara húmeda durante 24 horas a temperatura ambiente. Se obtuvieron cultivos monospóricos en medio de cultivo formulado con Agar al 2% . Las esporas se transfirieron a tres medios de cultivo (A.D.P., Agar V8, y Agar Mycophil) con el fin de observar su desarrollo y esporulación. Para optimizar la producción de *M. fijiensis* se utilizó un medio de cultivo líquido (caldo de papa) adicionado con glucosa, el cual tuvo que ser suplementado con un complejo vitamínico. Se empleo un diseño experimental, variando las concentraciones de carbohidratos, 10g dextrosa/ L (d0) y 15g dextrosa/ L (d1), en una dilución caldo de papa - agua 1:2 (C0) , 1:3 (C1) y 1:4 (C2). Se inoculó 1cm² de la colonia y se incubó a 28°C, en un rango de pH entre 6 y 7 y 200rpm, durante 16 días. Se evaluó la cantidad de biomasa (peso seco), variación de pH, y azúcares reductores.

Resultados y discusiones. Tanto el aislamiento del patógeno como su crecimiento, resultaron muy complicados debido a la serie de factores que influyen en su purificación, así como a la escasez de bibliografía que permita tener un mejor manejo del microorganismo. Sin embargo, se obtuvo una buena descarga de ascosporas, con una germinación observada a las 24 horas. La concentración óptima del

complejo vitamínico en el medio de cultivo líquido fue de 0.5%, en la cual se observó que produce la mayor cantidad de biomasa. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos. Se observa que el mejor tratamiento fue aquel que utilizó una dilución 1: 3 del extracto de papa y 15g/L de dextrosa. En dicho tratamiento la biomasa máxima se alcanzó después de 12 días de cultivo. De los resultados obtenidos en los tratamientos donde se empleó extracto de papa diluido 1:2 se puede observar un efecto inhibitorio de éste mientras que en los tratamientos que emplean diluciones 1: 4 se observa un efecto de limitación. Por lo tanto, habrá que determinar cual o cuales componentes están realizando dichas funciones.

Tabla 1. Resultados correspondientes a las evaluaciones

	Día	Biomasa g/L	pH	Azúcares red. Total. g/L	Azúcares red. Dir. g/L
C0d0	0	0.196	5.91	13.8	9.8
	16	6.21	7.43	0	0
C0d1	0	0.192	5.86	17.8	16.0
	16	2.34	6.27	12.6	13.6
C1d0	0	0.116	5.80	14.6	10.5
	16	6.66	8.24	0	0
C1d1	0	0.164	5.74	18.0	14.8
	16	8.27	8.10	0	0
C2d0	0	0.062	6.2	14.2	9.8
	16	4.03	6.81	5.9	4.5
C2d1	0	0.045	6.07	22.0	17.0
	16	4.36	6.81	9.1	6.2

Conclusiones. Con este trabajo se cuenta ahora con una metodología para la producción de biomasa de *M. fijiensis* a nivel de laboratorio, así como como la formulación del medio que se requiere para optimizar su crecimiento.

Bibliografía.

- 1.-Jacome, L.H., W. Schuh, y R.E. Stevenson. 1991. Effect of temperature and relative humidity on germination and germ tube development of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Phytopathology. 81: 1347-1350.
- 2.-Pineda, J.B., A. Carrasco y R. Cardona. 1997. Presencia de la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) en las principales zonas plataneras de Venezuela. Bioagro.
- 3.-Gonzalez, M. 1999. Metodología para la manipulación y cultivo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*. Manejo integrado de plagas. 53: i-iv.