

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS
SUPERIORES DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y MARITIMAS

PROGRAMA DE GRADUADOS

SELECCION DE MATERIAL GERMOPLASMICO
DE MAIZ (*Zea Mays* Linnaeus) MEDIANTE EL
USO DEL FILTRADO TOXICO DEL
HONGO *Fusarium moniliforme* Sheld.
BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO

TESIS

GERARDO ALFONSO ESCALANTE PEREZ

045.63
TEC.2
1982
c.2

1982

INSTITUTO TECNOLOGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY
DIVISION DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MARITIMAS
PROGRAMA DE GRADUADOS

SELECCION DE MATERIAL GERMOPLASMICO DE MAIZ (Zea mays Linnaeus)
MEDIANTE EL USO DEL FILTRADO TOXICO DEL HONGO Fusarium moniliforme
me Sheld. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD PARASITOLOGIA AGRICOLA
POR
GERARDO ALFONSO ESCALANTE PEREZ

1982

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY
PROGRAMA DE GRADUADOS

Sr. Director de la División de Ciencias Agropecuarias y Marítimas
Sr. Director del Programa de Graduados

Nos es grato recomendar la tesis elaborada bajo nuestra supervisión por el señor Ingeniero:


GERARDO ALFONSO ESCALANTE PEREZ

Intitulada:


SELECCION DE MATERIAL GERMOPLASMICO DE MAIZ (Zea mays Linn-
aeus) MEDIANTE EL USO DEL FILTRADO TOXICO DEL HONGO Fusa-
rium moniliforme Sheld. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

Se acepte como requisito parcial para optar el Grado Académico de
Maestro en Ciencias, Especialidad en Parasitología Agrícola.

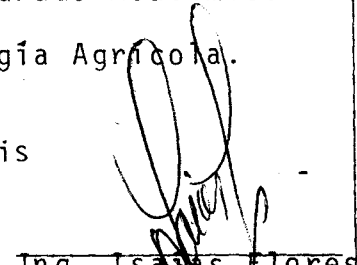
Comité Supervisor de Tesis


Ing. Homero Gaona R.
M.S., PH. D.

Asesor


Biol. Irene Mir
M.C.

Sinodal


Ing. Isarías Flores
M.S., PH. D..

Sinodal


Biol. Dieter Eckerlin S., M.S., Ph.D.


Ing. Leonel Robles Gutiérrez, M.S.

División de Ciencias Agropecuarias y Marítimas

Los datos de esta tesis sólo se podrán publicar con el permiso del
Programa de Graduados en Agricultura.

A MIS PADRES.

Sr. Eloy Remigio Escalante

y

Sra. Teresa Pérez de Escalante

Con eterno cariño y respeto y
agradecimiento.

A Mi Esposa e Hijo

Eduvigis Elena

y

Joyce Shamill

con Amor

A mis hermanos y amigos

A MI ASESOR

Dr. Homero Gaona

Por sus enseñanzas y

asesoría en este trabajo

AL Dr. Isaias Flores

Biol. Irene Mir

Por su cooperación

AL Ing. Pedro Salinas

como una respuesta

a su valiosa amistad

I N D I C E

	<u>PAGINA</u>
RESUMEN	I
INTRODUCCION	1
LITERATURA REVISADA	4
Importancia Económica y Hospederos	5
Síntomas	5
Definición de Toxinas	7
✓ Historia del Concepto	7
Características de las toxinas	8
Sustancias envueltas en enfermedades de plantas.	9
Sustancias derivadas de las plantas	9
✓ Definición de sustancias envueltas en la enfermedad	10
✓ Otros términos relacionados con enfermedad de las plantas	12
Toxinas Hospedero - especifica	13
Principales toxinas no hospedero - específicas	15
Toxinas producidas por <u>Fusarium</u> spp.	15
Productos tóxicos de naturaleza enzimática produ- cidos por <u>Fusarium</u> spp.	19
Mecanismos de Resistencia de las toxinas	21
Modo de acción de las toxinas	23
MATERIALES Y METODOS	25
Purificación y multiplicación del hongo	25
Producción del metabolito tóxico	26
Bioensayos utilizando el Filtrado tóxico	29i
Efecto del filtrado tóxico sobre la germinación. . en germoplasma de maíz y frijol.	31

	<u>PAGINA</u>
RESULTADOS Y DISCUSION	33
Desarrollo del hongo	33
Producción del metabolito tóxico	33
Evaluación de material germoplásmico de 3 geno- tipos de maíz y uno de frijol con el filtrado - tóxico del hongo <u>F moniliforme</u>	34
Cálculos Estadísticos	36
Determinación del efecto del Filtrado Tóxico . . del hongo a una concentración de 100 % sobre la germinación de la semilla de maíz y frijol . . .	49
CONCLUSIONES	50
BIBLIOGRAFIA	51
APENDICE	57

INDICE DE TABLAS

TABLA No.		PAGINA
1	Toxinas Hospedero - específicas.	14
2	Análisis de varianza de longitud radicular (promedio en cm) para el efecto de las <u>concentraciones del filtrado tóxico del hongo <u>Fusarium moniliforme</u> en plántulas de maíz (3) y frijol (1). Bioensayo en cámara - bioclimática de 25°C por 72 horas. Monterrey, N.L. 1982.</u>	37
3	Análisis de varianza de los datos promedio de longitud radicular de plantulas de 3 <u>ge</u> notipos de Maíz y uno de Frijol para el -- desgloce del Factor (b) sobre los tratamientos del factor (a)	40
4	Análisis de varianza de los datos promedio de longitud radicular de plántulas de 3 <u>ge</u> notipos de maíz y uno de frijol para el <u>des</u> glose del Factos (a) sobre los tratamien- tos del factor (b)	41
5	Tabla de doble entrada para la sumatoria de los datos promedio de longitud radicular de plántulas de 3 genotipos de Maíz y uno de -	

	frijol expuestos a diferentes concentraciones de un filtrado tóxico de <u>Fusarium moniliforme</u>	42
6	Prueba de Duncan para estudiar para un nivel dado de A (variedad) cuál es el mejor nivel de B (concentración). De los datos de longitud promedio de raíz de 3 genotipos de plántulas de maíz y uno de frijol expuestos al filtrado tóxico de <u>Fausarium moniliforme</u>	42
7	Prueba de Duncan para estudiar el efecto de un mismo nivel de concentración de la toxina entre los diferentes genotipos de Maíz y Frijol, en relación al crecimiento radicular -- después de ser sometidos a las diferentes -- concentraciones por 72 horas a 25°C. Monterrey N. L. 1982	45
8	Prueba de Duncan para el crecimiento radicular en CM para el efecto de cuatro concentraciones de la toxina del hongo <u>F. moniliforme</u> y un testigo agua sobre el crecimiento radicular en plántulas de maíz y frijol, expuestos por 72 horas	45

TABLA No.

PAGINA

- 9 Prueba de Duncan para el metabolito tóxico del hongo Fusarium moniliforme y un testigo (agua) en plántulas de tres genotipos de maíz y uno de frijol, expuestas por 72 - horas a 25°C. Monterrey, N.L. 1982 46
- 10 Presencia de necrosis en le sistema radicular en variedades de maíz y frijol por el filtrado tóxico del hongo Fusarium moniliforme de diferentes concentraciones 46
- 11 Prueba de germinación de 3 genotipos de -- Maíz y uno de frijol con la toxina del hongo Fusarium moniliforme a una concentración de 100 % y un testigo agua, expuestas durante cinco días a 25°C. Monterrey, N.L. 1982. 48

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAGINA
1 Líneas de tendencia de tres genotipos de -- máiz y de uno de frijol expuestos a 4 con-- centraciones del filtrado tóxico del hongo <u>Fusarium moniliforme</u>	38

SELECCION DE MATERIAL GERMOPLASMICO DE MAIZ (Zea mays Linnaeus) MEDIANTE EL USO DEL FILTRADO TOXICO DEL HONGO Fusarium moniliforme Sheld. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.

Gerardo Alfonso Escalante Pérez.

Homero Gaona R. 1/

R E S U M E N

El maíz constituye el alimento básico de mayor importancia en México y de casi todos los países de América. Tiene un amplio aprovechamiento en el consumo humano y animal, así como en la industria, y se le puede explotar para uno u otro aspecto ó en varios en forma de producto principal y subproducto.

Las enfermedades que afectan al maíz son muy importantes - por cuanto pueden reducir considerablemente su rendimiento y la calidad del mismo. Un ejemplo es que la pudrición de la mazorca disminuyen el rendimiento, la calidad y el valor alimenticio del grano.

Ahora bien, los daños ocasionados por las enfermedades alcanzan cifras elevadas cuando son expresadas económicamente; el monto de esas pérdidas generalmente esta en función del patógeno, el área ecológica donde se desarrolla la epifitía.

1/ Estudiante graduado y profesor asesor respectivamente.
Mayo 1982.

Uno de los métodos de combate que ha sido efectivo es el de la resistencia genética, pero ha tenido sus inconvenientes. Sin embargo, el fitomejoramiento para resistencia a enfermedades es una fase muy importante de un programa de mejoramiento de maíz. Los datos que se obtienen a nivel de campo son más reales en cuanto a comportamiento y respuesta, siempre y cuando no fallen las condiciones propicias para la presencia del agente causal de la enfermedad en estudio.

Fusarium moniliforme Sheld, que ataca el maíz, ocasionando la pudrición de las plantitas, pudrición de la caña y mazorca, y daños en las hojas, es precisamente de las enfermedades sobre la cuál se busca resistencia genética.

La capacidad de producir ciertos metabolitos por los microorganismos patógenos tóxicos a las plantas cultivadas, se ha tomado como un índice de la capacidad patógena de éstos (2), y el uso de estos metabolitos microbianos, en técnicas de selección para eliminar plantas susceptibles de grandes poblaciones y que ocupa poco espacio y tiempo, a tenido muy buena aceptación (3). Así todos los conocimientos adquiridos sobre metabolitos tóxicos y su uso en la determinación de resistencia de materiales genéticos, ha sido indispensable en el combate de enfermedades, especialmente en aquellas en que no resulta efectivo otro tipo de combate.

Son muchos pués, los investigadores que han empleado esta metodología del uso del metabolito tóxico del hongo producido sobre medio líquido, para la evaluación de material germoplásmico de algunas especies vegetales contra enfermedades causadas por distintos hongos. Todo esto, realizado a nivel de laboratorio, ahorrando, tiempo, espacio y recursos (1, 4, 5, y 6).

El objeto de este estudio fué precisamente el seleccionar material germoplásmico de maíz (Zea mays Linnaeus) mediante el uso del metabolito tóxico del hongo Fusarium moniliforme Sheld, bajo condiciones de laboratorio.

El hongo se desarrolló inicialmente en medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar), hasta obtener un cultivo puro del hongo. Luego se procedió a elaborar el medio de cultivo líquido PDS (papa-dextrosa-sacarosa) sobre el cuál se iba a producir la toxina. Sobre este medio de PDS, se sembró un trozo de hongo de los cultivos puros de PDA. En el matraz donde se colocó el trozo del hongo, se introdujo también una cápsula de metal que forma parte de un agitador magnético. Este último se colocó bajo el matraz para proveer al medio de cultivo líquido con el trozo de hongo inoculado, una constante agitación a 250 rpm durante 15 días, tiempo suficiente para que el hongo desarrollado produjera la toxina. Todo fué realizado en cámara -- bioclimática a 25°C de temperatura. Terminando el tiempo se procedió a la filtración del medio de cultivo de PDS conteniendo hongo y toxina.

Para esto se empleó una bomba de vacío conectada a un --
matraz Kitasato con su embudo buchner empleándose dentro del -
último papel filtro whatman No. 1. Vertiendo el medio que con-
tenía hongo y toxina sobre el embudo y a través de la succión
de la bomba de vacío se fué recogiendo sólo el filtrado tóxico
del hongo en el matraz Kitasato. Esta operación se realizó va-
rias veces a fin de obtener la mayor limpieza del filtrado tóxi-
co del hongo. Obteniendo el filtrado, se procedió a pausteri-
zarlo a 60°C durante 30 minutos y posteriormente se almacenó
en refrigeración a 5°C para su conservación durante los bioen-
sayos a realizar.

Para evaluar la toxicidad del metabolito del hongo, se tra-
bajó con tres genotipos de maíz: NLH-5, L3xL4, L7xL8, y con uno
de frijol como diferencial. Se emplearon cuatro concentracio-
nes de la toxina de: 12.5%, 25%, 50% y 100%. Los genotipos se
sometieron a la acción del filtrado tóxico a esas diferentes --
concentraciones por un tiempo de 72 horas a 25°C. Se utiliza-
ron semillas pregerminadas colocadas sobre cajas petri conte-
niendo 15 ml. de toxina. Al medir la longitud radicular por -
concentración se observó que en las mayores concentraciones 50
y 100% hubo drástico daño sobre el desarrollo de las raíces al
punto de observarse necrosis en todas. Las concentraciones --
menores reducen también el desarrollo radicular y pueden ser
empleadas para efectos de selección de material germoplásmico.

En el análisis de varianza se obtuvieron resultados altamente significativos para los tratamientos, variedades, concentraciones y para la interacción. En las pruebas de Duncan se encontró que el Híbrido mostró ser algo más resistente que los otros genotipos, y sólo difiere en poco a L3xL4. Lo fué L7xL8 y el frijol se comportaron similar al analizarse la mejor variedad y la mejor concentración para la variedad. Las concentraciones de 12.5% y 25% diffrieron en su efecto causado daños menores pero apreciables y útiles, y las concentraciones de 50 y 100% dieron a través de las pruebas de Duncan efectos similares. Teniéndose, que a una mayor concentración de toxina -- habrá una reducción mayor del sistema radicular.

Por los datos observados en cuanto al crecimiento radicular del frijol a la concentración de 12.5% en comparación a su testigo y al efecto que ésta concentración causa en los demás genotipos de maíz, se señala que esta concentración representa el umbral de toxicidad, siendo para este estudio la más conveniente para diferencial materiales genéticos, susceptibles y resistentes al efecto del filtrado tóxico.

Para probar los efectos de la toxina al 100% sobre la germinación de la semilla de maíz y frijol, se expusieron las mismas al filtrado duante 5 días y después de esto se llevó a cabo la lectura del porcentaje de germinación, observándose que en todas, la germinación fué inhibida considerablemente al punto de

tener porcentajes de germinación todos menores de 5% en comparación con los altos porcentajes de los testigos mantenidos en agua destilada esteril.

C O N C L U S I O N E S

- 1 Fusarium moniliforme produce un metabolito tóxico en medio líquido de PDS (papa - dextrosa - sacrosa) el cuál sirve para ser empleado en la evaluación de material germoplásmico.
- 2 El metabolito tóxico producido por F. moniliforme no es específico para el maíz.
- 3 La germinación de la semilla es inhibida al exponerse al metabolito tóxico.
- 4 El desarrollo radicular es considerado el mejor índice para medir la concentración de la toxina que es significativamente activa.
- 5 Para efectuar esta y cualquier otra prueba de selección empleando el metabolito tóxico se requiere investigar la dilución para encontrar el umbral tóxico.

B I B L I O G R A F I A

- ✓ 1 Bonilla, S.P. 1981. Selección de material germoplásmico de soya (Glicine max L. Merrill) mediante el uso de la fitotoxina del hongo Fusarium oxysporum f. sp. tracheiphilum (E.F. Sm) Snyder y Hansen, bajo condiciones de laboratorio. Tesis sin publicar, I.T.E.S.M. pp. 52.
- 2 Gauman, E. 1954. Toxinas y enfermedades de las plantas. Endeavour 13: 198 - 204.
- 3 Owens, L.D. 1969. Toxins in plant disease: structure - and mode of action Science. 165 No. 3888. pp. 18 - 25.
- ✓ 4 Salinas González Sergio A. 1979. Evaluación de la resistencia de seis variedades de tomate (Lycopersicum esculentum Mill) a Alternaria solani (Ell y G. Martin) L.R. Jones y Grout, Empleando el filtrado tóxico del hongo. Tesis sin publicar, I.T.E.S.M. pp. 90.
- ✓ 5 Trápaga, J.A. 1980. Selección de material germoplásmico de trigo (Triticum aestivum L) mediante el uso de la fitotoxina del agente causal Fusarium culmorum (W.G.Sm) Sacc. bajo condiciones de laboratorio e invernadero. Tesis sin publicar. I.T.E.S.M. pp. 32, 57.

- ✓ 6 Turenne, C.H. 1977. Selección de material germoplásmico de maíz (Zea mays L) al tizón de la hoja mediante el uso de la patotoxina del agente causal Helminthosporium maydis Nisikado y Miyake. Tesis sin publicar I.T.E.S.M. pp. 72.

I N T R O D U C C I O N

El combate de enfermedades de maíz comprende el uso de híbridos resistentes o tolerantes, rotación de cultivos, saneamiento del campo, y manejo del suelo, asperciones de polvos y líquidos son efectivos en algunos casos.

Ningun híbrido o compuesto particular es altamente resistente a tolerante a todas las enfermedades. Afortunadamente, parece ser posible el desarrollo de variedades adaptadas de elevado rendimiento que sean resistentes a algunas de las principales enfermedades. El tratamiento de la semilla con productos fungicidas, puede combatir su pudrición pero no otras enfermedades. La aspersión del maíz con fungicidas para combatir las manchas de las hojas por hongos está bastante restringida a invernaderos de fitomejoramiento y algunos campos productores de semillas de gran valor. La fertilidad del suelo, el mantenimiento del buen drenaje del mismo, el mantener un pH favorable, el combate de maleza e insectos, pueden ayudar a controlar estas enfermedades aunque la efectividad de estas medidas es limitada.

Afortunadamente, las líneas puras y los híbridos de maíz difieren en su resistencia a las enfermedades.

El fitomejoramiento para resistencia a enfermedades es -- una fase muy importante de un programa de mejoramiento de maíz.

Si es posible, deberán efectuarse pruebas de resistencia en sitios donde se espera una incidencia de enfermedades extremadamente severa y uniforme y otras condiciones que conduzcan a una investigación eficiente. Sin embargo con frecuencia los estudios sobre enfermedades resultan obstaculizados debido a infecciones insuficientes o irregulares. Bajo tales circunstancias, es difícil determinar si una planta sana es resistente o ha escapado a la enfermedad. La inoculación artificial es una ayuda eficiente en el mejoramiento para la resistencia a enfermedades. Otras ayudas útiles son el mantenimiento de viveros para la resistencia a enfermedades y la manipulación de las operaciones culturales para incrementar la exposición a enfermedades (28).

Sin lugar a dudas, la evaluación y la selección de material germoplásmico a nivel de campo, suele ser lo que dá datos más reales en cuanto al comportamiento y respuesta; pero aparte del obstáculo ya mencionado se presentan otros de tipo climatológico, disponibilidad del tiempo, espacio y recursos económicos, lo que ha hecho que se busquen nuevas metodologías de evaluación que dependan menos de ciertas circunstancias y que sean iguales de valaderas en su información. Una de estas metodologías, es el uso de filtrado tóxico, donde previamente se ha desarrollado el patógeno, para la evaluación de material germoplásmico a nivel de plántula en el laboratorio donde se le -- proporcionan condiciones ideales, tanto ambientales como de manejo, así como ahorrar tiempo, espacio y recursos.

El objeto de este estudio es utilizar el filtrado del cultivo de Fusarium moniliforme Sheld en material germoplásmico de maíz representado por dos cruzaas simples y un híbrido evaluando así su resistencia al ataque del hongo, y evaluar la especificidad de la tóxima en frijol.

LITERATURA REVISADA

Fusarium moniliforme Sheld estado conidial de, Gibberella fujikuroi: (Saw) Wr, es encontrado en muchas áreas de cultivo del mundo. El hongo fué primeramente descrito sobre mazorcas de maíz rancio o mojoso en Nebraska en 1904 (42). Solamente los tipos heterotálicos son conocidos. El estado perfecto del hongo fué encontrado primero al poner en apareamiento dos tipos compatibles de Fusarium en cultivo (26, 46). En países como Guatemala, Honduras, San Salvador, Costa Rica y Venezuela, fué encontrado atacando maíz dulce produciendo una mancha necrótica en las hojas, la cuál es muy severa en áreas secas y calientes de la región del caribe (39).

IMPORTANCIA ECONOMICA Y HOSPEDEROS.-

Se ha aislado de granos almacenados, alimentos manufacturados (Harina de maíz) de donde se ha podido extraer la toxina que produce (4). Se encuentran en el suelo, raíces, residuos de plantas, y otras partes de las plantas. Tiene un amplio rango de hospederas en las cuáles causa las siguientes enfermedades: "Pudrición del pié" del arroz, "Podredumbre rosada" de la mazorca del maíz, "pudrición del tallo" y "Roya" de la hoja del maíz, "Pudrición del tallo" del sorgo, "Pudrición de la corona" del esparrago. Otros cultivos son: berenjenas, tomate, avena, algodón, caña de azúcar, pepino y trigo (14, 26, 27, 37, 47). El hongo no sólo causa daño en muchas plantas, también es parásito sobre plantas sin síntomas visibles (26).

SINTOMAS.- Ocasiona la pudrición de las raíces, la marchitez de las plantitas, pudrición de la caña y mazorca. En este caso, se observa manchones aislados de color rosado o salmón; los granos son rojizos (17).

F. moniliforme produce una podredumbre típica de granos, presentando estos muchas veces el color rojizo característico. Pero muchos granos infectados con este hongo no presentan síntomas externos. Es decir, que se encuentran inicialmente dentro de la semilla como contaminante y que posteriormente atacarán a las plantitas en desarrollo (11). Así, al ver las semillas pregerminadas o plantitas marchitas se observa la pudrición de las semillas, de los embriones y del cuello de las plantitas presentando la pudrición de los tejidos (17). Todo esto ocurre mientras existan las condiciones adecuadas de humedad y temperatura para su desarrollo.

La pudrición del tallo del maíz es una enfermedad caracterizada por la gradual determinación de los tejidos parenquimatosos del tallo, eventualmente manifestado como un visible decaimiento del parenquima (16).

El hongo penetra al tallo directamente o puede entrar a la planta a través de heridas tal como las que pueden hacerse por granizo. La raíz puede también venir infectada de inóculo del suelo, o la infección puede venir por granos contaminados o a través de las hojas basales (31).

F. moniliforme produce una apresoria globular y penetra a las raíces jóvenes por perforación directa de la epidermis celular. La hifa se extiende de allí en adelante inter y intra celularmente, la hifa penetra y cruza el conducto vascular; la lisis de la pared es causada por una típica acción enzimática. Esta lisis trae la pudrición en la raíz. El hongo actua como un patógeno primario (45). En muchos casos el punto de contacto entre el hongo y la pared de la célula del hospedero es indicado por un crecimiento globular el cuál es rico en pectinas (44).

El caracter sistémico del hongo hace que este desplace por los vasos del xilema y de allí va tallo arriba a la vez que va desarrollando micelio y conidias y gomas que van obstruyendo los vasos evitando el transporte fluido del agua lo que conduce a la marchitez y muerte de la plantula sobre la cuál se desarrollarán nuevas conidias que germinan y forman el inóculo secundario (3).

El hongo produce también toxinas, como veremos más tarde, enzimas pectolíticas y celulíticas que ayudan a debilitar las paredes de los vasos, rompimiento de las tilosas que se forman en cantidades excesivas en las plantas enfermas (22).

.DEFINICION DE TOXINA.-

Se da el nombre de toxina a cualquier compuesto producido por un microorganismo que sea tóxico a las plantas (13). Otros autores (24) consideran como toxinas todas las sustancias producidas por el patógeno incluyendo las enzimas. Sin embargo, en Fitopatología la toxina es definida como una sustancia no enzimática que daña a las células de las plantas o altera su metabolismo (20). Según estas definiciones y otras, las toxinas son metabolitos producidos por los microorganismos patógenos a las plantas que inducen disturbios a las mismas de diferente índole (1) aunque en patología en término vá más allá señalando que también causan daño a los animales y al hombre (24).

HISTORIA DEL CONCEPTO.-

El concepto de toxina fué introducido por los trabajos de los hermanos Tulasnes, botánicos (1815 - 18885), en el tiempo en que la etiología de varias enfermedades vegetales era todavía incierta, pero ya flotando la idea de que las enfermedades eran debido a sustancias producidas por los patógenos. La patología vegetal de los hermanos Tulasnes se cambió a la patología vegetal De Bary (1831 - 1888). Este último en 1886 pudo reproducir la pudrición suave al aplicar un extracto esteril de tejidos de zanahoria podridos a tejidos sanos de la misma planta. Este estudio y los resultados de otras investigaciones de enfermedades de plantas fueron el principio del concepto de Toxina en --

patología vegetal. Pero la confirmación de la relación de la toxina con la enfermedad y el señalamiento de que los microorganismos son patógenicos si son toxigénicos o capaces de formar toxinas que penetren en el tejido del hospedero dañándolo, correspondió a Gauman en 1954 (20).

CARACTERISTICAS DE LAS TOXINAS.-

La propiedad de un microorganismo de producir toxina y la actividad de la toxina son factores de importancia en la capacidad del organismo de producir la enfermedad. A esto sólo hay que agregarle el hecho de que la toxina debe ser considerada -- como difusible y translocables, y también debe ser considerada activa a bajas concentraciones. Así, para que una toxina pueda ser considerada que sea la causa de una enfermedad específica - debe presentar las siguientes condiciones:

- Cuando son aplicadas a una planta susceptible a bajas con centraciones, producirá todos o casi todos los síntomas característicos de la enfermedad. Pero también puede ocurrir que varias toxinas cada una cause diferentes síntomas en una misma enfermedad.
- Toxina y patógeno un rango similar de hospederos y las plantas inmunes o altamente resistentes sería poco afectadas por el hospedero.
- La patogenicidad del organismo estaría correlacionada con su capacidad para producir la toxina (razas debilmente patogénicas producirán menos toxinas).

SUSTANCIAS ENVUELTAS EN ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS.-

Sustancias derivadas del patógeno: encontramos las fitotoxinas y vitotoxinas, que son compuestos de alto peso molecular; compuestos inorgánicos e orgánicos: alifáticos, aromáticos alicíclicos, heterocíclicos. Son hospedero-específico y hospedero-no específico. Son activos sobre meristemas, parénquima, hojas, tallos, raíces, flores. Actúan como antimetabolitos, enzimas inhibitorias, agentes quelatizantes, agentes pseudoplasmolizantes, y causan en la hospedera, clorosis, necrosis y marchitez.

Sustancias derivadas del patógeno: Otras son: Fitoagresivas y vivoagresivas. Su modo de acción es a través de enzimas (Cutinasas, enzimas macerativas, fenoloxidasas, enzimas degradativas de lignina); reguladores del crecimiento (promotores del crecimiento, inhibidores del crecimiento); metabolitos determinados (ácidos nucleicos, principios de inducción de tumores).

SUSTANCIAS DERIVADAS DE LAS PLANTAS.-

- 1.- Productos de tejidos alterados o degradados por el patógeno donde se encuentran productos tóxicos y no tóxicos. Su naturaleza química y origen proviene de subproductos de celulosa y sustancias pepticas, lignina.

2.- Productos de los procesos de defensa de las plantas.

Compuestos fenólicos, resinas, mucilagos, pigmentos, gomas. Su modo de acción es inhibidores de enzimas, antimetabolitos, fitoalexinas, reguladores de crecimiento.

3.- Productos de células y tejidos degenerados y muertos.

Son compuestos tóxicos y no tóxicos. Su naturaleza química es etileno, amonio, aminas, ácidos orgánicos, sustancias melaninas.

DEFINICIONES DE SUBSTANCIAS ENVUELTAS EN LA ENFERMEDAD.

Fitotoxinas: Se aplica a los metabolitos microbianos que interfieren o alteran el metabolismo de las células de las ---- plantas y además dañan el sistema simplástico. Estas suelen ser producidas por el organismo sobre la superficie del hospedero o fuera de ella, por ejemplo en el suelo (23). Dentro de estas se incluyen tanto las producidas por las plantas como las que perjudican a la planta, es decir; Fitotoxinas de plantas superiores, Fitotoxinas microbiales (microplasma, bacterias, algas y hongos), Fitotoxinas animales (entomotoxinas y nematotoxinas).

Las fitotoxinas son productos de parásitos que inducen -- poco o ninguno de los síntomas usuales causados por el patógeno vivo. No son específicos para el hospedero y no hay ninguna relación entre la producción de la toxina y la virulencia del patógeno (41, 48).

Vivotoxinas: Toxina producida por un hospedero infectado por un patógeno, la cuál no es por sí misma el agente inicial de la enfermedad, ejemplo: el etileno (24, 34, 43).

Patotoxinas: Es aquella substancia tóxica que causa todos los síntomas de la enfermedad aunque este presente o no el patógeno. Es decir, la toxina es responsable de todos los síntomas de la enfermedad. El mejor ejemplo de una patotoxina es victoriana producida por el hongo Helminthosporium victoriae.

Se han considerado cuatro criterios para que una patotoxina este implicada en la enfermedad, éstos son:

- La toxina aplicada en las bajas concentraciones en un hospedero susceptible produce todos los síntomas característicos de la enfermedad.
- El patógeno y la toxina muestran especificidad o susceptibilidad.
- La habilidad del patógeno para producir la toxina esta directamente relacionada con su habilidad para causar la enfermedad.
- Sólo una toxina es responsable de todos los síntomas de la enfermedad.

Solamente unas pocas toxinas han llenado este criterio han sido encontradas (50).

La patotoxina que es responsable de la expresión de los síntomas de la planta enferma, no debe este término usarse - - como sustituto de vivotoxina a menos que sean vivotoxinas hospedero-específica y se relacionan con la virulencia del patógeno y causan todos los síntomas de la enfermedad (24).

Este término patotoxina ha sido criticado ya que el mismo fué propuesto para hablar de una forma amplia de productos tóxicos de un patógeno, de una planta o de la interacción patógeno-hospedero. Sin embargo, se ha usado mal, restringiendo su concepto a la simple hipótesis de que una toxina (X) causa la enfermedad (Y), y se señala que la falla empezó probablemente a que se tomo la toxina Victoriana producida por H. victorinae como un claro ejemplo de patotoxina (49).

Fitoagresivas y Vivoagresivas.- Substancias derivadas del patógeno que no son toxinas en bajas concentraciones, pero si está en relación con la patogénesis y la expresión de los síntomas (24).

OTROS TERMINOS RELACIONADOS CON ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS.

Exotoxinas: Son difusibles que se eliminan por las células que las producen al medio circundante en que crecen las -

bacterias. Este medio puede ser el contenido de una lata de -
conservas contaminado con Clostridium botulinum, por ejemplo,
o la corriente sanguínea como el caso del báculo de la Difteria
que crece en la garganta humana. (43).

Endotoxinas: Toxinas intracelulares formados en las ce-
lulas bacteriales y que no es liberada hasta que la célula - -
muere. Son sustancias complejas que contienen fosfolípidos,
hidratos de carbono y proteínas (43).

TOXINAS HOSPEDERO - ESPECIFICAS.-

Son las sustancias producidas por el microorganismo pató-
genos, las cuales son selectivamente tóxicas a las plantas -
susceptibles a dicho patógeno (24, 49).

TABLA 1. TOXINAS HOSPEDERO-ESPECÍFICAS (1979) (52)

Hongo	Hospedera	La referencia
<u>Alternaria kikuchiana</u>	Peral japonés	1933
<u>Helminthosporium victoriae</u>	Avena	1947
<u>Periconia circinata</u>	Grano de sorgo	1961
<u>H. carbonum</u> raza 1	Maíz	1965
<u>Alternaria mali</u>	Manzana	1966
<u>Alternaria citri</u>	Mandarina	1966
<u>H. sacchari</u>	Caña de azúcar	1969
<u>H. maydis</u> raza T	Maíz	1970
<u>Phyllosticta maydis</u>	Maíz	1973
<u>Corynespora cassicola</u>	Tomate	1975
<u>A. alternata</u> f. s.p.		
<u>Lycopersici</u>	Tomate	1976
<u>A. fragariae</u>	Fresa	1978
<u>A. Citri</u>	Limón	1979
<u>A. longipes</u>	Tabaco	1979

Principales toxinas hospedero-específicas: Lo más relevante es que la especificidad implica que la toxina no tiene efecto en las plantas resistentes o plantas no hospedera. Y se determinan así aquellas toxinas que a ciertas concentraciones dañan sólo plantas susceptibles, pero a más altas concentraciones dañan también plantas resistentes. Estas toxinas pueden ser comparables con los compuestos químicos (herbicidas selec

tivos) los cuales aplicados directamente matan a cierta plantas sin afectar a otras (37, 43).

PRINCIPALES TOXINAS NO HOSPEDERO - ESPECIFICAS.

Una toxina no tiene que mostrar necesariamente la misma especificidad que el patógeno que la produce. La especificidad de un patógeno podría ser debida a un número de factores como la habilidad para penetrar al hospedero particular o inhabilidad para crecer o producir toxinas en los tejidos hospederos. Estas toxinas se han clasificado como fitotoxinas, o productos que inducen poco o ningún efecto de los síntomas -- causados por el patógeno vivo (48). Así se puede mencionar las toxinas relacionadas con las enfermedades vasculares, como las producidas por *Fusarium* spp. Las toxinas de Fusariosis no actúan solamente en el huesped específico que la forma. La -- serie de plantas sensibles a una toxina particular es considerablemente mayor que la serie de huespedes de los parásitos productores de toxinas (20, 21). A parte de las toxinas -- producidas por *Fusarium*, están las producidas por: Verticillium albo - atrum, Asochita chrysanthemi, Pyricularia spp, Rhizoctonia solani, Bipolaris oryzae y Cephalosporium gregatum (34).

TOXINAS PRODUCIDAS POR Fusarium spp.

Fusarium spp causa marchitez vascular en muchas especies de plantas, las toxinas producidas por el patógeno no son como

señalamos anteriormente hospederas - específicas y se caracterizan por causar oclusión vascular asociado con producción de enzimas hidrolíticas (15).

Las toxinas de Fusarium spp están consideradas en las presentes en dos grupos de parásitos, uno en la cuál la acción de la toxina actúa directamente sobre los tejidos que circundan - el foco de infección, es decir; que el lugar de la enfermedad coincide más o menos con el de la infección como el caso de - Alternaria solani y que son llamadas de corto alcance; y el -- perteneciente a Fusarium spp son el de las toxinas con largo - alcance, en donde hay separación entre el lugar de la infección y el área de aparición de los síntomas (20).

ACIDO FUSARICO.- El ácido fusárico es denominado butilpi colínico, es producido por varias marchiteces causadas por F. oxysporum, f. lycopersisi, vasinfectum y cubense en tomate, algodón y plátano respectivamente (42). En otro trabajo mencionan que puede ser producida por Gibberella fujikuroi, F. oxysporum, f. neveum, batatos, y nicotianae, F. heterosporium, F. solani, F. moniliforme y Nectaria cinnabarina (29, 34). Fué aislado por primera vez en 1934 como un producto metabólico del hongo F. heterosporium Ness (24).

Puede causar necrosis intercostal de las hojas, cambios en la permeabilidad de la membrana celular, reducción de la respiración, necrosis de tejidos corticales y epinastia de peciolo (22, 333).

Las condiciones nutricionales requeridas para la producción de ácido fusárico no parecen muy específicas, la relación C/N aproximada de 5: 1, y el Zn, se han considerado esenciales para su desarrollo (29).

El ácido fusárico está formado por un quelato débil y un ión metálico inhibe la acción de la catalasa de la raíz y propicia la pérdida de electrolitos (36). A bajas concentraciones puede inhibir a la polifenol - oxidasa u otras enzimas o - puede reaccionar con derivados fenólicos (24).

Finalmente, el ácido es detectado en medio de cultivo después de seis días en concentraciones de 200 mg/litro y en mayores cantidades después de veinte días (24).

VASINFUSCARINA.- Esta es una toxina que fué aislada de un medio de cultivo denominado Richard's en el cuál se desarrolló una cepa de hongo Fusarium lycopersici y nombró vasinfuscarina. Esta toxina al evaluarla produjo los síntomas típicos de las marchiteces vasculares. El mismo autor refirió que igual toxina es producida por Giberella fujikuroi y Fusarium vasinfectum (20).

LICOMARASMINA.- Es también producida por Fusarium spp y aislada de F. oxysporum F. lycopersici, F. melonis y F. vasinfectum. Su efecto en la planta es la alteración de la permea-

bilidad de la célula del hospedero y también tiene una acción coagulante en el protoplasma y todo esto es el resultado de la acción tóxica inicial. Esto no está bien definido, pero se ha señalado que la misma actúa en la formación de quelatos de - - hierro los cuales son llevados a las hojas donde el exceso de estos tiene una acción fitotóxica. (20, 34).

La phytoniveina y phytolicopersina son toxinas de importancia, aisladas de dos formas de *Fusarium* a saber: f. niveum y f. licopersici respectivamente (20).

ZEARALENONE O F- 2.- Es un metabolito natural producido por *Fusarium roseum*, *Fusarium tricinctum* y *Fusarium moniliforme*. Este actúa como una micotoxina al causar daño a los animales. Causa el síndrome estrogénico en cerdos en muchas de las principales áreas de cría de cerdo del mundo. La enfermedad comprende varios disturbios de los órganos y procesos productivos y aunque es más común en cerdos, también se ha reportado en: ratones, conejos, corderos, pavos, pollos y ganado. (7, 35).

Zearalenone, diacetoxyscirpenol y Toxin T-2, fueron aisladas de granos de maíz dulce infectado en el campo por *Fusarium moniliforme* Sheld. Pero de las tres toxinas Zearalenone se encontró con mayor cantidad. El cultivo en vitro del hongo - también produjo las tres toxinas (23).

De aislamiento hechos en granos de cebada en cultivos en 1971, 1973 y 1974 se encontraron Fusarium culmorum y Fusarium moniliforme y ambas produjeron la toxina zearalenone (25).

La toxina diacetaxyscirpenol fué también aislada de cultivos de Fusarium equiseti (Cda) Sacc y se reportó ser muy tóxica a dosis. Fusarium equiseti ataca los granos de cereales y es una especie muy tóxica (6). A pesar de que Fusarium moniliforme también produce toxinas tóxicas demostrado en laboratorio, se señala que los brotes de envenenamiento en los campos no son debidos a esta especie (6).

PRODUCTOS TOXICOS DE NATURALEZA ENZIMATICA PRODUCIDOS POR Fusarium spp.

El concepto de que la marchitez y necrosis en las enfermedades vasculares eran el resultado en primer lugar del taponamiento de elementos del dilema con hifas, gomas y tilosis, fué sustituido durante los últimos veinte años por la evidencia de que una toxina es el factor de la enfermedad. Pero mientras se va desarrollando la infección y se produce más toxina, también se incrementan la formación de gomas y tilosis hasta que el taponeamiento de los vasos ocurre como un factor secundario e importante de la enfermedad vascular (52) .

Las enfermedades vasculares causadas por Fusarium spp se ha asociado también con la producción de enzimas como la pectina-metilesterasa, las cuáles tienen un papel muy importante en el taponamiento de los vasos vasculares, ya que la degradación

de las sustancias pécticas de las paredes celulares por la acción de estas enzimas trae como consecuencia la formación de tapones de material péctico que causan la obstrucción de los tejidos conductores. Entre otros síntomas típicos de la fusariosis, se encuentra la epinástia producida por el etileno; la coloración café de los tejidos vasculares la cuál es debido a la acción enzimática de las polifenoloxidasas que oxidan los compuestos fenólicos a melaninas (33). Así al comparar savias de plantas sanas con savia de plantas enfermas atacadas por *Fusarium*, han encontrado en la savia del material enfermo, mayor cantidad de fenoles oxidables, que como dije anteriormente son responsables del enegrecimiento vascular (9).

En las plantas expuestas a un filtrado de *Fusarium*, se encontró en el interior de los vasos unos tapones de material denso que impedían el paso del agua, mismos que se determinaron como trastornos a la planta causados por poligalacturonasa y pectin depolimerasa. Así mismo, se cree que la celulosa producida por el patógeno puede ser un factor en el síndrome de la enfermedad. La péctina tiene la propiedad de inducir la formación enzimática cuando se agrega al medio de cultivo donde se desarrolla *Fusarium*. En base a esto se encontró que al cultivar *Fusarium* en tejido de variedades resistentes y susceptibles, se producen tres cantidades más de pectin-polimerasa cuando el hongo creció en variedades susceptibles en compara-

ción a los tejidos de variedades resistentes. Esto indica --
que la resistencia a *Fusarium* puede deberse a la inhibición --
de la formación de enzimas pécticas del hongo por factores --
resistentes en los tejidos del huésped (10).

MECANISMOS DE RESISTENCIA A TOXINAS.-

La habilidad de una planta para permanecer relativamente sin afectarse por una enfermedad debido a las propiedades inherentes que posee, se denomina resistencia. Son posibles varios grados de resistencia. La resistencia total se denomina inmunidad, la cuál es absoluta; siendo la resistencia y la susceptibilidad relativas. Así una planta puede variar de susceptibilidad extrema a alta resistencia o inmunidad total. Las propiedades físicas de las plantas, como las oberturas naturales, pilosidad, pared exterior áspera, cubierta cerosa de los tallos y sustancias químicas producidas por la planta pueden ser la -- causa de inmunidad. La tolerancia sería la habilidad de la -- planta para soportar la invasión del patógeno y manifestar sólo síntomas o daños moderados, esta planta crece y produce normalmente. Todos estos diferentes grados de resistencia pueden ser modificados considerablemente por los patógenos y los productos de éstos. Los mecanismos de resistencia pueden ser por medio de sustancias principalmente las fenólicas. Pero aparte de los polifenoles otras sustancias antibióticas especialmente las fitoalexinas juegan un papel protector. Se habla de la ha-

bilidad de los tejidos resistentes a inactivar las toxinas -- e igualmente de la falta de sitios sensibles a las toxinas en los tejidos resistentes; igualmente donde hay mecanismos de resistencia son casos extremos de susceptibilidad donde la planta es muy sensible a la toxina, pero estas plantas son rápidamente eliminadas de la población (38).

La cutícula y otras barreras físicas y químicas para penetración, la presencia de inhibidores preformados, la producción de inhibidores, y la habilidad para establecer un metabolito compatible entre hospedero y patógeno pueden todos ser importantes para la resistencia de algunas plantas bajo ciertas condiciones. Bajo condiciones particulares, estas -- podrían ser de rara ocurrencia en la naturaleza, ninguno de los anteriores sería adecuado (30).

Además se cuenta con el manejo de la resistencia genética a las enfermedades como medio de combate biológico más importante que puede encontrar el hombre. La resistencia genética a las enfermedades dependen de su origen, de sus mutaciones que se han conservado en una población o acumulado en ella y que en un momento dado representa la diferencia, entre que una planta muera sin llegar a reproducirse o se reproduzca mejor que las demás. Es pues un tipo de variación que está ya en la población (5).

MODO DE ACCION DE LAS TOXINAS.-

Aún son desconocidos los mecanismos que conducen a la alteración de la permeabilidad de las membranas plásmicas; varias toxinas son venenos de plasma por cambio de permeabilidad contribuyendo a la aparición de los síntomas de las enfermedades varias toxinas de la Fusariosis, como la licomarasmina y el ácido fusárico inclusive, pueden formar compuestos y así --- bloquear en el huésped iones metabólicos esenciales para la vida: pueden actuar, pues como antimetabólitos (20).

Un incremento en la pérdida de electrolitos y de compuestos orgánicos es el efecto de la victoriana, toxina producida por H. victorae. Pero su efecto varía con la concentración de la misma y tiempo de exposición (23). Se presenta también en tejidos enfermos por acción de toxinas un incremento en la respiración y transpiración, y reducción de la fotosíntesis - como una consecuencia mayor (51).

En la toxina producida por Phoma exigua var. inoxidabilis, llamada citocalasina B, ésta interfiere con la división citoplasmática, inhibición de los movimientos celulares y provoca la extrusión del núcleo. Alternaria tenuis produce un metabolito difusible que ocasiona reducción de clorofila dentro de la lesión en forma de halo, aumento de nitrógeno y diferencias cuantitativas y cualitativas en proteínas solubles (32); Sclerotinia homeocarpa produce una toxina que causa hipertrofia y necrosis en raíces de lechuga (12).

Fusarium moniliforme produce una toxina que ocasiona atrofia en la raíz, daño en las hojas en el cultivo del maíz; en el tabaco aplicado en hojas presentó clorosis intervenal, necrosis, atrofia; en raíces de pepino y coleoptilo de trigo, ambos fueron inhibidos (8).

M A T E R I A L Y M E T O D O S

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología del Programa de Graduados en Agricultura del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM).

El trabajo consistió en tres pasos: El primero de ellos -- fué la obtención, purificación y multiplicación del hongo. El -- segundo, fué la extracción de la toxina del mismo, y el último la evaluación de material germoplásmico de maíz a través de -- bioensayos donde se incluyeron varias concentraciones, aplicándose sobre semillas pregerminada y sin germinar, aparte de estudiar su efecto en otra especie vegetal como es el frijol para -- establecer con ella comparación, realizándose con él los mismos bioensayos que con el maíz.

El hongo plenamente identificado como Fusarium moniliforme Sheld a través de las características de su micelio, color, crecimiento, conidias (macroconidias y microconidias), etc., se pasó a medios de cultivos para aumentar la cantidad del mismo. -- La purificación se llevó a cabo mediante transferencia del micelio a caja petri con medio PDA (papa, dextrosa, agar). Medio en el cual también se multiplicó. La cantidad de PDA en las cajas -- petri en donde se cultivó el hongo fué de 15 ml y estas cajas -- bien cerradas se llevaron a una cámara bioclimática en donde se colocaron a incubar a temperatura de 25°C por un tiempo de cinco --

días.

Para eliminar y prevenir contaminaciones con bacterias en todas las transferencias se procedió a colocarle al medio de cultivo PDA un antibiótico (Streptomycin) agregando a un litro de medio la cantidad de 16 ml al 0.5% lo cual permitió el desarrollo del hongo puro. El medio de cultivo fué previamente esterilizado durante quince minutos a 15 libras de presión y 120°C de temperatura, cuando el medio se enfrió lo considerable sin llegar a gelificar, se agregó la streptomycin. Luego después se realizaron las siembras del hongo. Por razones de garantía se conservaron varias cajas petri con hongo a temperatura adecuada, por si acaso se hacia necesario recurrir a ellas.

Luego que esta primera fase ya estaba dada por la purificación y la suficiente producción de hongos se procedió al segundo paso de la segunda fase de la investigación.

PRODUCCION DEL METABOLITO TOXICO

Una vez tenido el hongo en cultivo puro, se inició el proceso para la producción y posterior extracción de la toxina a través de filtrado. El medio de cultivo empleado para esta fase, fué PDS (papa, dextrosa, sacarosa), el cual es un medio de fácil preparación y económico. Su composición es la siguiente: infusión de 200 grs de papa, dextrosa 20 grs, sacarosa 10 grs, todo esto aforado en un litro de agua destilada. El haber utiliza

do la concentración de 10 grs/1 litro de sacarosa para evitar posibles interferencias entre la presión osmótica del medio y el metabolismo del hongo, fué porque en la observación de un trabajo anterior aquí realizado, esta fué la concentración más aceptable para el género *Fusarium* y se procedió sin ningún con tratiempo.

La forma de preparación del medio fué la siguiente: Se pesó la cantidad requerida de papa, se lavo y luego sin quitar le la cascara se corto en varios pedazos y se puso en un matraz de 3.000 mls conteniendo agua destilada. Esto se puso a calentar a fuego lento hasta llegar a hervir, y se le fué reponiendo agua para reponer la evaporada y evitar derrames al hervir. Luego se filtro con tela bastante fina recogiendo la parte líquida, misma a la que se le agregaron las cantidades mencionadas de Dextrosa y Sacarosa, aforandose a un litro, pero de este medio se prepararon dos litros, de los cuales 200 ml se colocaron en dos matraces de 250 ml, y todo fué luego esterilizado. Estos matraces pequeños sirvieron para hacer observaciones del desarrollo del hongo sin agitación.

Tanto en los matraces de 250 como en el de 3.000 mls se procedió ha agregarles también streptomycin como se hizo en la primera fase de desarrollo del hongo a fin de evitar posibles contaminaciones con bacterias.

Teniendo ya el medio de cultivo líquido se procedió a in

ocular con el hongo Fusarium moniliforme, y para esto se hizo la inoculación en un cuarto equipado con luz ultravioleta para esterilizar, a fin de procurar las contaminaciones, utilizando dentro del mismo un mechero cuya flama fué mantenida siempre - al borde de la boca del matraz.

Del micelio del hongo desarrollado en caja petri, se tomó un trozo de tres centímetros de diámetro, mismo que se colocó dentro del matraz conteniendo el medio de cultivo líquido, - e igual procedimiento se hizo para los matraces de 250 ml. Después de la inoculación, al matraz de 3.000 ml se le introdujo una cápsula de metal, previamente esterilizada, que forma parte de un agitador magnético eléctrico marca Thomas Magne Matic Stirrer modelo 15. Con este agitador se logra un movimiento -- circular, al cual fué sometido el hongo durante quince días a 250 rpm. Este se instaló dentro de la cámara bioclimática donde estaban ya colocadas las condiciones para el desarrollo del hongo.

Pasado este período de quince días se procedió a filtrar para separar el micelio. Para realizar el filtrado se empezó - directamente empleando la bomba de vacío a la cual se le agregó un matraz Kitasato con su respectivo embudo Buchner con papel filtrado Whatman número uno; toda la operación se repitió tres veces. Los materiales empleados para filtrar fueron previamente esterilizados. La operación fué rápida, aunque si se le agregan más matraces Kitasato unidos por varias conexiones

Se hace en un tiempo considerablemente menor.

Obtenido el filtrado tóxico se procedió a la pasteurización del mismo colocándose a 60°C por treinta minutos y luego - fué almacenado en refrigeración a 5°C.

BIOENSAYOS UTILIZANDO EL FILTRADO TOXICO

Ya con el filtrado, se procedió a la evaluación de material germoplásmico de maíz, empleándose el Híbrido de cruzas -- (L7 x L8) (L3 x L4) NLH - 5 y las cruzas que lo forman L7 x L8 y L3 x L4, además de semillas de frijol como diferencial. El - maíz empleado pertenece al Banco Genético del Campo Experiment-- tal del ITESM y son parte del Programa de Investigación de maíz de la misma Institución.

La genealogía de las líneas mencionadas, es la siguien-- te: La línea tres es una S₂ de la variedad Carmen, la línea si te y ocho son S₃ de la variedad NLVSI que a su vez también se - seleccionó de la variedad Carmen que es una variedad criolla -- del Estado de Tamaulipas. La línea cuatro es una S₂ que se deri vó de la colección Tamaulipas T₂₄.

Primero, se colocó semilla a pregerminar de todo el materi al germoplásmico. Estas semillas se desinfectaron con una so- luc ión de cloralex al 4% durante cuatro minutos con el fin de - eliminar cualquier contaminación superficial que pu diera conte

ner la semilla, y luego se lavó con agua destilada estéril a fin de eliminar los residuos de cloralex que hubieren.

Las semillas lavadas se colocaron sobre charolas de metal, la cual traía una toalla de papel en el fondo humedecido con agua destilada estéril sobre la cual se colocaron las semillas teniendo la precaución de colocarlas con el embrión hacia abajo, y fueron cubiertas con otro papel humedecido por arriba. Las charolas junto con las semillas de los diferentes materiales fueron colocadas en cámara bioclimática a 25°C bajo condiciones de obscuridad durante 60-72 horas dependiendo de la precocidad de germinación de cada material. Lo que queríamos aquí era que la semilla tuviera una longitud radicular de dos centímetros.

La cantidad de semilla que se colocó a pregerminar dependió de datos preliminares obtenidos respecto a porcentaje de germinación y a la cantidad de semilla que se necesitaba y se obtenía en cierto tiempo que tuvieran la longitud de dos centímetros.

Así una vez germinadas las semillas, se seleccionaron aquellas que tuvieran dos centímetros de longitud radicular primaria, y se colocaron cinco semillas de cada uno de los materiales con el embrión hacia abajo por cada caja petri. A las cajas petri con anterioridad se les había colocado un papel fieltro Whatman número uno en el interior y se habían esterilizado a --

quince libras durante quince minutos (120°) en olla de presión. Cuando las semillas se colocaron en las cajas petri, estas ya contenían 15 ml. del sustrato de los diferentes tratamientos.

Una vez puestas las semillas en las cajas petri, se colocaron en la cámara bioclimática a 25°C, bajo condiciones de obscuridad por 60 horas tiempo en el cual los testigos ya presentaban suficiente desarrollo radicular en comparación con los demás tratamientos, y se procedió a tomar los datos de longitud radicular y posible necrosis en los tratamientos.

Para este bioensayo se utilizaron cinco semillas pregerminadas de dos centímetros de longitud radicular por repetición, y un total de tres repeticiones, empleándose un diseño completamente al azar, haciéndose observaciones de dos factores, por un lado el material germoplásmico que consistió en tres tipos de maíz y uno de frijol y por el otro el factor sustrato que incluye los cinco tratamientos que son: 0, 12.5, 25, 50 y 100%.

EFFECTO DEL FILTRADO TOXICO SOBRE LA GERMINACION EN GERMOPLASMA DE MAIZ Y FRIJOL.

El objeto de esta prueba fué determinar el efecto que tiene el filtrado tóxico a concentración del 100% sobre la

germinación de las semillas de los materiales de maíz y de frijol.

En cajas petri conteniendo el papel filtro y ya esterilizadas, se procedió a colocar 15 ml de toxina al 100%. Sobre cada caja petri se colocaron cinco semillas de cada material, empleando tres repeticiones y de igual manera se procedió para el testigo, sólo que a este se le colocó agua destilada estéril. Estos tratamientos se mantuvieron en cámara bioclimática a una temperatura de 25°C por cinco días evaluándose al final del bioensayo el porcentaje de germinación.

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

DESARROLLO DEL HONGO

El hongo empleado, Fusarium moniliforme se desarrollo optimamente en el medio de cultivo utilizado el cual fué PDA- (papa-dextrosa-agar), a la temperatura de 25°C mantenida en cámara bioclimática. Su crecimiento micelial fué abundante y apropiado para realizar las siembras posteriores, con porciones del mismo.

Una de estas porciones fueron colocadas sobre matraces - de 250 ml sobre un medio líquido de PDS (papa-dextrosa-sacrosa), al cual no se puso en agitación y su intención era - observar el desarrollo del mismo bajo condiciones de reposo. En este se observó desde el segundo día de siembra la - formación del micelio alrededor de los trozos colocados, y - en los subsiguientes días el crecimiento se hizo mayor hasta cubrir toda la superficie del medio de su micelio característico. Las condiciones en la que se desarrolló fueron - las mismas que el de PDA.

PRODUCCION DE METABOLITO TOXICO

Para la obtención de filtrado del cultivo del hongo que contiene el metabolito tóxico, se siguió la misma técnica - basada en la experiencia de otros investigadores que han -

trabajado con diversos hongos y quienes encontraron que la mayor producción de metabolito tóxico se obtiene en cultivos con movimientos.

En cuanto a la obtención del filtrado tóxico entonces, se debe hacer notar que el procedimiento seguido fué satisfactorio, pues el medio empleado el PDS, aparte de dar buenos resultados, es mucho más fácil de elaborar que otros medios empleados para lograr lo mismo. Además es bastante económico.

La técnica de emplear el matraz Kitasato conectado a una bomba de vacío es mucho más eficiente en cuanto a la rapidez del filtrado absorbiendo menos tiempo que el empleado por filtración sólo que a través de papel filtro, donde se emplea mucho papel e inclusive se corre el riesgo de pérdida de filtrado y contaminaciones. Con el matraz Kitasato y varias conexiones colocadas a la bomba de vacío, en tan sólo unas horas se puede filtrar perfectamente todo, dando unas dos o tres repeticiones para eliminar el mínimo residuo de material fungoso. El papel Whatman número uno y tres emplearse en este sentido.

EVALUACION DE MATERIAL GERMOPLASMICO DE TRES GENOTIPOS DE MAIZ Y UNO DE FRIJOL CON EL FILTRADO TOXICO DE HONGO Fusarium moniliforme.

Con el objeto de determinar cuál concentración de filtrado tóxico del cultivo de Fusarium moniliforme era la más adecuada para tratar plántulas de diferentes genotipos de maíz y así determinar su resistencia al hongo se siguió el método estándar de bioensayos con plántulas colocadas al filtrado tóxico y ver su efecto en el desarrollo radicular y la presencia de necrosis. El desarrollo radicular ha sido considerado el mejor índice para medir la concentración de la toxina que era significativamente activa, sin embargo se dice que para el caso de concentraciones pequeñas del metabolito tóxico se señalan como más efectivos los cambios en permeabilidad de las células de las plantas susceptibles.

El objetivo de este bioensayo fue el de evaluar, bajo condiciones de laboratorio y en un tiempo corto (72 horas), la variación existente en relación con la resistencia y susceptibilidad al efecto del metabolito tóxico de un patógeno en genotipos de maíz y frijol.

La semilla empleada antes de poner a germinar fue desinfectada con cloralex al 4% durante cuatro minutos, este procedimiento fue suficiente para no tener contaminaciones en las mismas durante todo el bioensayo. Cuando las semillas tenían los dos centímetros que se requieren fue seleccionada y fueron ubicadas en cajas petri de acuerdo a los tratamientos. Las cajas petri con papel filtro previamente esterilizadas, se les colocó 15 ml de cada concentración: 100%, 50%, 25%, 12.5% y agua destilada estéril. Se hizo tres repeticiones por cada tratamiento y a cada caja petri se le colocaron cinco semillas pregerminadas con el embrión hacia abajo. Se utilizó un factorial con arreglo combinatorio-

distribución completamente al azar, para tratamientos, y todo cenizo en la cámara bioclimática por 72 horas, tiempo en el cual los testigos tenían una longitud radicular bastante apreciable y se realizaron las lecturas correspondientes que eran. determinar y tomar nota de la presencia y ausencia de necrosado. Para el primer caso, los datos de longitud se encuentran en la Tabla A del apéndice con todos sus valores y el análisis de varianza del mismo se puede ver en la Tabla 2.

Calculos Estadísticos.- Según la prueba de F. calculada para los tratamientos como para las variedades, las concentraciones y la interacción son altamente significativas en comparación con la F. tabulada a F05 y F01. Contando este análisis de varianza con un coeficiente de variabilidad igual a C.V. = 4.25% lo cual habla de la confiabilidad de los datos.

Existiendo interacción se ve que los factores no son independientes, las líneas de tendencia de la Figura 1 así lo demuestran, cuando se grafica relacionado crecimiento radicular promedio vs concentraciones del filtrado tóxico del hongo. En estos casos las variedades se comportan diferentes en concentraciones diferentes. En vista de esto se estudió en la tabla de doble entrada para un nivel dado de A (variedad); - cual es la mejor concentración y para una misma concentración dada cual vendría siendo la mejor variedad. Se realizó entonces el análisis de varianza para cada variedad y análisis de varianza para cada concentración, para ver cual es el comportamiento de cada uno de los tratamientos de cada factor. Además

TABLA 2. Análisis de varianza de longitud radicular (promedio en centímetros) para el efecto de las concentraciones del filtrado tóxico del Hongo Fusarium moniliforme en plántulas de maíz (3) y Frijol (1). Bioensayo en cámara - bioclimática a 25°C por setenta y dos horas. Monterrey, N.L. , 1982.

Causas	GL	SC	CM	FC	Fos	Fol
✓ Tratamientos	(19)	(437.8699)	23.0458	37.4363++	1.84	2.37
✓ Variedades ¹	3	15.9638	5.3213	8.6440++	2.84	4.31
✓ Concentraciones ²	4	399.0998	99.7745	162.0768++	2.61	3.83
✓ Interacción	12	22.8063	1.9005	3.0872++	2.00	2.66
✓ Error	40	24.6251	0.6150			
Total	59	462.495				

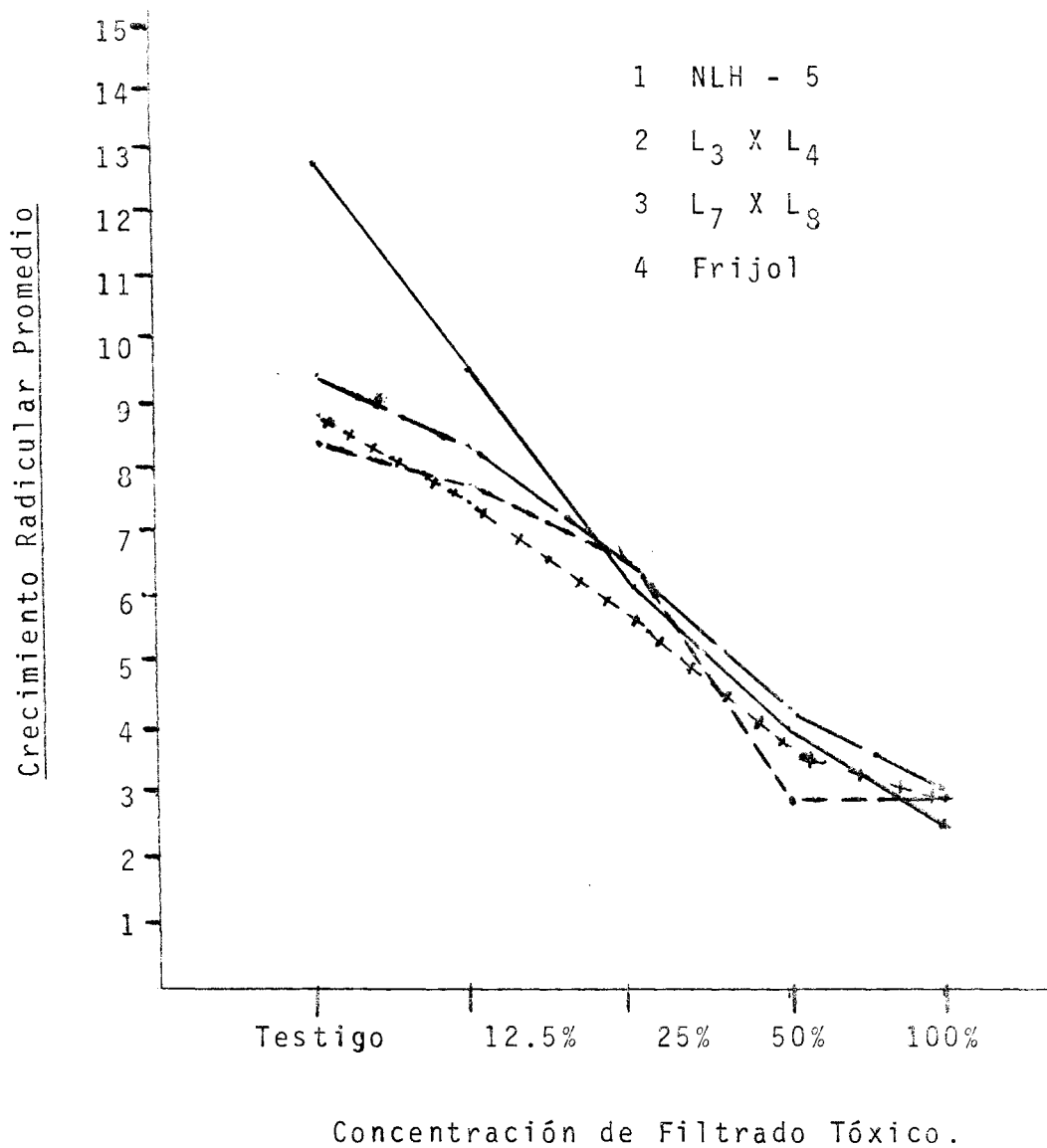
C.V. = 4.284

++ Diferencia altamente significativa

1 NLH - 5 , L₃ X L₄ , L₇ X L₈ , Frijol.

2 0 , 12.5% , 50% , 25% , 100%

FIGURA 1.- Líneas de tendencia de tres genotipos de maíz y uno de frijol expuestos a cuatro concentraciones de Filtrado tóxico del hongo Fusarium moniliforme.



se realizó la prueba de Duncan para saber cual es la mejor variedad y también para determinar cual es la mejor concentración.

En el análisis de varianza por variedad indicado en la tabla 3, se observa una diferencia altamente significativa - vista en la F. calculada en comparación con la F05 y F01, tanto para el maíz como para el frijol. Es decir entre la longitud radicular de cada variedad en las diferentes concentraciones.

En el análisis de varianza por concentración se muestra una diferencia significativa solo para toxina al 12.5% al F05, presentándose no significancia para las demás concentraciones, (tabla 4). Esto indica que la concentración menor causa un efecto leve sobre el crecimiento radicular, siendo en algunos casos su longitud comparable con la del testigo, pero aún así los síntomas de los efectos de la toxina se hacen palpables - a esta concentración, hay en esta concentración una ligera resistencia de las variedades de estudio. Las demás concentraciones causan efectos algo más drásticos sobre las raíces, especialmente la concentración de 50 y 100 %.

En la tabla 5, es una tabla de AXB o de doble entrada para estudiar los efectos A, B y la interacción. Hallándose en -- esta la sumatoria de los datos promedios de longitud radicular de los tres genotipos de maíz y frijol expuestos a las diferentes concentraciones del filtrado tóxico. De este cuadro -

TABLA 3.- Análisis de varianza de los datos promedios de - - longitud radicular^{1/} de plántulas de tres genotipos de maíz y uno de frijol, para el desglose del Factor (b)^{2/} sobre los tratamientos de Factor (a)^{3/}.

CAUSAS	GL	SC	CM	FC	F05	F01
NLHS	4	199.8238	49.9559	81.1499**	2.61	3.83
L3 X L4	4	78.4787	19.6197	31.87**	2.61	3.83
L7 X L8	4	73.7864	69.7863	113.3606**	2.61	3.83
Frijol	4	79.81733	19.9543	32.41**	2.61	3.83
Error	40	24.6251	0.6156			

1/ De cinco plantulas por repetición

2/ Filtrado tóxico. Varias concentraciones

3/ Genotipos de maíz: NLH-5, L₃ x L₄, L₇ x L₈ y genotipo de frijol.

TABLA 4.- Análisis de Varianza de los datos promedio de longitud radicular¹, de plántulas de tres genotipos de maíz y uno de frijol para el desglose de Factor (a)² sobre los tratamientos del Factor (b)³.

CAUSAS	GL	SC	CM	FC	F05	F01
TOXINA 100	3	0.999.7	0.333	0.5409 NS	2.84	4.31
TOXINA 50	3	2.4246	0.8082	1.3128 NS	2.84	4.31
TOXINA 25	3	1.009	0.3363	0.5464 NS	2.84	4.31
TOXINA 12.5	3	7.5789	2.5263	4.1038 *	2.84	4.31
DESTILADO	3	87.7738	12.5912	20.4535 **	2.84	4.31
ERROR	40	24.6251	0.6156			

1. De cinco plántulas por repetición
2. Genotipos de maíz: NLH-5, L₃ X L₄, L₇X L₈ y uno de frijol.
3. Filtrado tóxico de Fusarium moniliforme a diferentes concentraciones.

TABLA 5.- Tabla de doble entrada pra la sumatoria de los datos promedios de longitud radicular de plántulas de tres genotipos de maíz y uno de frijol expuestos a diferentes concentraciones de un filtrado tóxico de Fusarium moniliforme.

VARIEDAD	CONCENTRACIONES					Por \bar{X} Variedad
	0	12.5	25	50	100	
NLHS	12.66	9.08	6.13	3.95	2.50	6.86
L3 X L8	Ø 22	8.23	6.5	4.1	3.3	6.27
L7 X L8	8.81	7.01	5.93	3.60	2.76	5.63
FRIJOL	8.03	7.7	6.67	2.93	2.76	5.62
X Por concentración.	9.68	8.02	6.29	3.65	2.83	

TABLA 6.- Prueba de Duncan para estudiar para un nivel dado de A (variedad) cual es el mejor nivel de B (concentración). De los datos de longitud promedio de raíz de tres genotipos de plántulas de maíz y uno de frijol expuestos al filtrado tóxico de Fusarium moniliforme.

VARIEDAD	CONCENTRACIONES			
	12.05	25	50	100
NLH-5	9.08	6.13	3.95	2.50
L3 X L4	8.23	6.5	4.1	3.3
L7 X L8	7.01	5.93	3.60	2.76
FRIJOL	7.7	6.67	2.93	2.76

tomamos los datos para realizar la prueba de Duncan para estudiar el nivel dado de A (variedad) cual es la mejor concentración.

En la tabla 6, en la cual según los datos presentados, tanto las concentraciones de 50 y 100 % para todas las variedades resultaron ser similares en su efecto, al igual que las concentraciones de 12.5% y 25% para la cruce $L_7 \times L_8$ para el frijol. El híbrido y la cruce $L_3 \times L_4$ tuvieron efectos o respuestas diferentes a concentraciones de 12.5% y 25%.

Con lo anterior podemos asumir que si nosotros queremos aplicar la toxina a manera que nos cause el efecto deseado sin dañarnos totalmente el tejido, podemos dejar de emplear las concentraciones más altas para este caso, es decir la de 50 y 100 % y utilizar según sea el caso, 12.5% y 25% o una sola de ellas para $L_7 \times L_8$ pues nos van a reportar efectos similares apreciables. Y las mismas concentraciones pero con efecto diferente sobre la longitud radicular para el Híbrido NLH-5 y la cruce $L_3 \times L_4$.

En la misma Tabla 5 de doble entrada, se sacaron los datos concernientes para realizar el estudio a través de Duncan de encontrar para una misma concentración dada cual vendría siendo la mejor variedad. En la Tabla 7 está representando el estudio del mismo, donde se observa que para las concentraciones dadas de 25%, 50% y 100%, las variedades se comportan

similares; sólo se establecen diferencias en cuanto a la respuesta dada para la concentración de 12.5%, habiendo para la misma, un menor efecto sobre el híbrido, y algo mayor sobre la cruz $L_3 \times L_4$, y las demás. En este caso el híbrido se comportó más resistente para esta concentración.

Lo anterior concuerda cuando señalamos que las concentraciones de 12.5% tenían un efecto diferente sobre el Híbrido y la cruz $L_3 \times L_4$; ahora sabemos que este efecto va a ser menor en cuanto a la concentración 12.5 % por el híbrido.

Para saber cual es la mejor variedad de las estudiadas en cuanto a su respuesta a las diferentes concentraciones a las que fueron sometidas se lleva a cabo un estudio empleando - - Duncan en el que se tomaron en cuenta las medidas de longitud radicular las cuales se compararon en las variedades.

En la Tabla 8, nos muestra este estudio y se observa que tanto la cruz $L_7 \times L_8$ y Frijol presentan similar respuesta, siendo las mejores el híbrido NLH-5 y la cruz $L_3 \times L_4$ cuyas respuestas fueron diferentes y vuelven a diferenciarse de - las otras dos.

Siguiendo la misma metodología se estudio cual era la - - mejor concentración comparando las medias dadas por cada una de ellas. Estos datos son tomados de la Tabla 5, y su análisis presentado en la Tabla 9, donde se observa que para este

TABLA 7.- Prueba de Duncan para estudiar el efecto de un mismo nivel de concentración de la toxina Fusarium moniliforme entre los diferentes genotipos de maíz y frijol, en relación al crecimiento radicular después de ser sometidos a las diferentes concentraciones por 72 horas 25°C. Monterrey, N.L. 1982.

VARIETADES	CONCENTRACIONES			
	12.5%	25 %	50%	100%
NLH-5	9.08	6.13	3.95	2.50
L ₃ X L ₄	8.23	6.5	4.1	3.3
L ₇ X L ₈	7.01	5.93	4.60	2.76
FRIJOL	7.7	6.67	2.93	2.76

TABLA 8.- Prueba de Duncan para el crecimiento radicular en centímetros para el efecto de cuatro concentraciones de la toxina del hongo Fusarium moniliforme y un testigo agua sobre el crecimiento radicular de las plántulas de maíz y frijol, expuestas por 72 horas.

VARIETADES	\bar{x}
NLH - 5	6.86
L ₃ X L ₄	6.27
L ₇ X L ₈	5.63
FRIJOL	5.12

caso todas las concentraciones se comportaban diferentes, pero es de agregarse que a medida que se aumenta la concentración, aumenta el efecto del metabolito sobre el crecimiento radicular de todas las variedades. En los datos de la Tabla A del apéndice puede verse este efecto en los promedios tomados de las cinco semillas puestas en las cajas petri por concentración y en las repeticiones de las mismas. Igual observación puede hacerse en la Tabla 5 de doble entrada donde los valores decrecen de izquierda a derecha.

Como mencioné anteriormente, aparte de observarse el efecto del filtrado tóxico del hongo Fusarium moniliforme sobre el crecimiento radicular a las diferentes concentraciones, también quería ver si existía la presencia de necrosis en las mismas. Esto se resume en la Tabla 10 donde se representa con un signo positivo la presencia de necrosis y con un signo negativo la ausencia de la misma. De acuerdo con lo mismo; en general las concentraciones de 50% y 100% causan necrosis sobre las raíces y en grado menor la de 25% para la cruz $L_3 \times L_4$ y las concentraciones de 25% y 12.5% para la cruz $L_7 \times L_8$.

Esto no quiere decir que la presencia de necrosis sea síntoma de susceptibilidad, ya que hay que contar con el alto potencial de la toxina. Ni que su ausencia sea considerado resistencia, pues según lo que se ha estudiado en los análisis anteriores demuestran que existen efectos sin haber presencia de necrosis.

TABLA 11. Prueba de germinación de tres genotipos de maíz y uno de frijol con la tóxima del hongo Fusarium - moniliforme a una concentración del 100% y un testigo agua, expuestas durante cinco días a 25°C , Monterrey, N.L. 1982.

VARIEDAD	TESTIGO	TOXINA AL 100%
NLH - 5	90 %	4 %
L3 X L4	85 %	3 %
L7 X L8	85 %	3 %
FRIJOL	70 %	0 %

Determinación del efecto del filtrado tóxico del hongo - - Fusarium moniliforme a una concentración de 100% sobre la germinación de las semillas de maíz y frijol. Para observar el efecto del filtrado tóxico del hongo a su concentración mayor (100%) sobre el poder de germinación de las semillas de diferentes genotipos de maíz y frijol, después de cinco días de aplicación de la toxina, se procedió a dar lectura de los resultados evaluados en porcentaje la germinación de los mismos. En la Tabla II se puede observar que a esa concentración de 100% la germinación fué - - inhibida en todos los genotipos, y los pequeños porcentajes que se observan realmente no prosperaron al dejarseles más días expuestos a la toxina. Los testigos de cada variedad muestran el contraste que hubo entre los tratamientos al 100% en relación a los porcentajes de germinación.

C O N C L U S I O N E S

- 1 Fusarium moniliforme produce un metabolito tóxico en medio líquido de PDS (papa - dextrosa - sacrosa) el cuál sirve para ser empleado en la evaluación de material germinoplásmico.
- 2 El metabolito tóxico producido por F. moniliforme no es específico para el maíz.
- 3 La germinación de la semilla es inhibida al exponerse al metabolito tóxico.
- 4 El desarrollo radicular es considerado el mejor índice para medir la concentración de la toxina que es significativamente activa.
- 5 Para efectuar esta y cualquier otra prueba de selección empleando el metabolito tóxico se requiere investigar la dilución para encontrar el umbral tóxico.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Agrios, N.G. 1969. Plant Pathology. Academia Press. pp. 288, 295.
- 2.- Alexopoulos, J.C. 1977. Introducción a Micología. Editorial universitaria de Buenos Aires. p. 324.
- 3.- Barnett, A.L., Barry B. Hunter. 1972. Illustrated genera of Imperfect Fungi. Third edition. Burgess Publishing Company. p. 126.
- 4.- Bottalico, A. 1977. Presence de Fusarium moniliforme - Sheld in maize (zeamays L). kernels as a Phytopathological and Mycotoxicological problem in Italy II. Mycotoxicological aspects. Review of Plant Pathology 56(9) 793.
- 5.- Brauer, O. 1978. Fitogenética Aplicada. Editorial Limusa, México. pp. 21, 167, 363.
- 6.- Brook, P.J., Waite, E.P. 1966. Fungus toxins affecting Mammals. Annual Review of Phytopathology. pp. 171, 187.
- 7.- Christensen, M. Clyde, Kanfmon, Henry H. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Editorial PAX, México. pp. 109-130.
- 8.- Cutler, H.G., R.J. Cole., B.K. Blankenship., J.W. Kirksey & B. Dupnik, jr. 1972. Metabolite from, Toxic effect produced by - Fusarium moniliforme. Phytopathology vol. 62 p. 752.
- 9.- Davis, D. 1953. The role of enzymes in the etiology of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology 43: 470 (Abs).
- 10.- Deese, D.C., y M.A. Stanman. 1960. Role of pectic enzymes in griseptibility and resistance to Fusarium and Verticillium wilts of -

- plants. *Phytopathology* 50: 633.
- 11.- Dickson, G.J. 1959. *Entermedades de las plantas de gran cultivo.*- Saivat Editores S.A., Barcelona, pp. 100-111.
 - 12.- Diamond, A.E., y P.E. Waggoner. 1953. *un the nature and role of - vivo toxins in plant disease.* *Phytopathology* 43: 229-235.
 - 13.- Endo, K.M., I. Malca. y E.M. Krsusman. 1964. *Dejencration of the apical meristem and apex of bentgrass roat by a Fungal toxin. -* *Phytopathology* 54: 1175-1176.
 - 14.- Endo, R.M., E.C. Burkholder. 1971. *The associated of Fusarium moniliforme with the crown rot complex of sparagus.* *Phytopathology* 61: 891.
 - 15.- Fisher, K.D. 1965. *Hydrolytic enzyme and toxin production by - sweetpotato fusaria.* *Phytopathology* 55: 396-398.
 - 16.- Foley, C.D. 1962. *Systemic intection of corn by Fusarium moniliiforme.* *Phytopathology* 52: 870-872.
 - 17.- Futrell, M.C., Marcia Kilgore. 1969. *the mode of action of Fusarium moniliforme on seedling of zea mays.* *Phytopathology* 59: - 114.
 - 18.- Garcia Alvarez, Manuel. 1975. *Patologia vegetal práctica.* Editorial Limusa, México. pp. 83, 93.
 - 19.- Gardner, J.M., Scheffer, R.P. Higginbotham, M. 1974. *Effects of - nostspecific toxins on electropotential of plant cells.* *Plan Phy siol.* 54: 246-249.
 - 20.- Gauman, E. 1954. *Toxinas y entermedades de las plantas.* *Endeavour.* 13: 198-204.
 - 21.- Gauman, E. 1957. *Fusaric acid as a wilt toxin.* *Phytopathology* 47: 342-357.

- 22.- Gauman, E. 1958. The mechanisms of fusaric acid injury. Phytopathology 48: 670-686.
- 23.- Chosai, S., Biswas, K.S. Sirvastava, U.K. Chakrabarti, K.C. - - Chaudhary. 1978, Toxic substances produced by Fusarium V: Occurrence of Zearalenone, Diacetoxyscirpenol, and T-2 in Moldy corn infected with Fusarium moniliforme Sheld. Journal of Pharmaceutical Sciences 67: 1768-1769.
- 24.- Grantini, A., Wood, K.K.S., A. Balic. 1972. Phytotoxins in plant disease Academic Press. Londres. pp. 1-13, 35-69, 71-90, 139-153, 191-209, 251-272.
- 25.- Hacking, A., Rosser, W.R., Dervish, M.T. 1976. Zearalenone-producing species of Fusarium on barley seed. Annals of applied Biology 84 (1) 7-11.
- 26.- Hsieh, H.W., S.N. Smith., W.C. Snyder. 1977. Mating Groups in Fusarium moniliforme. Phytopathology 67: 1041-1043.
- 27.- Joffe, A.Z., Ausher, R., Palti, J. 1974. Distribution and pathogenicity of Fusarium species associated with onion in Israel. Review of plant Pathology vol. 53(4) p. 550.
- 28.- Jugenheimer, W.R. 1981. Maíz. Variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Editorial Limusa. pp. 402, 410, 417, 419.
- 29.- Kesaban, R, N.N. Prasad. 1974. Production in vitro of fusaric acid by muskmelon wilt pathogen as influenced by certain chemicals. Labden, parte B12 (2): 67-69. Resumen de Rev. Plant Pathology 56 (1) 1977.
- 30.- Kuc, J. 1966. Resistance of plants of infectious agents. Annual Rev. Microbiology 20: 337-370.

- 31.- kucharek, I., Ihor Kommedahl. 1966. Kernel infection and corn Stalk rot caused by Fusarium moniliforme. - Phytopathology 56: 983-984.
- 32.- kuo, M. y R.P. Scheffer. 1964. Evaluation of fusaric acid as a factor in development of Fusarium wilt. Phytopathology 54: 1041-1044.
- 33.- Ludwig, R.A. 1960. Toxins in Plant Pathology. Horsfall, J.G. y A.E. Dimond (Editores). Vol. II Academic Press N.Y. and London. pp. 314-357.
- 34.- main, C.E. 1967. Response to parasites. Annual. Rev.- Plant Physiol. 18: 419-438.
- 35.- Mirocha, Chester J., Clyde M. Christensen. 1974. Toxic Fungus metabolites. Annual Review of Phytopathology - 12: 310-313.
- 36.- Owens, L.D. 1969. Toxins in plant disease: structure and mode of action. Science. 165 No. 3888. pp. 18-25
- 37.- Pascal P. Pirone, Bernard D, Dodge, Harold W, Rickett. 1960. Diseases and Pest of ornamental plants. Third edition the Roland Press Company. New York. pp. 195,- 650,662.
- 38.- Pringle, R.B. y R.P. Scheffer. 1964. Host-Specific - plant toxins. Annual Review Phytopathology 2: 133-156.
- 39.- Schieber E., A.S. Muller. 1968. A leaf blight of corn (zea mays) incited by Fusarium moniliforme. Phytopathology 58: p.554.
- 40.- Solama, A.M., Misnricky, A.G. 1974. Seed transmission - of maize wilt fungi with special reference to Fusarium

- moniliforme Sheld. Review of Plant Pathology Vol. 53 -
(6) p. 461.
- 41.- Strobel, G.A. y D.E. Mathre. 1979. Phytotoxins produced
by plant parasites. Annual Review Plant Physiol. 25: -
541-566.
- 42.- Sumner R, Donald. 1968. Ecology of corn Stalk rot in -
Nebraska. Phytopathology 58: 755-760.
- 43.- Farr, S.A. 1972. Principles of plant pathology Winge--
hester. Press 632 p. 229-241.
- 44.- V, Paul. 1976. Root rot of maize caused by Fusarium -
moniliforme. Review of Plant Pathology 55(11). p. 996.
- 45.- Volker, P. 1976. On the mechanisms of penetration and
spread of Fusarium moniliforme (Sheld) S n & H in the-
roots of Zea mays L. Review of Plant Pathology 55(1) -
p. 36.
- 46.- Voornees, R.K. 1933. Gibberella moniliforme on corn. -
Phytopathology 23: 368-367.
- 47.- Warren, L.H., Thor Kommendanl. 1973. Root-infecting -
species of Fusarium in soil and in the root Rhizosphe-
res, and residues of oats. Phytopathology 63: 1401-1403.
- 48.- Wheeler, H., H.H. Luke. 1963. Microbial toxins in plant
disease. Annual Review. Microbial. 17: 223-242.
- 49.- Wheeler, H. 1975. Plant pathogenesis toxins. Ed. Sprin-
ger. Verlag. N.Y. Heidelberg.
- 50.- Wright Douglas, E. 1968. Toxins produced by Fungi. Annual
Review of Microbiology. pp. 269-277.

- 51.- Yarwood, C.E. 1967. Response to parasites. Annual Review Plant Physiol. 18: 419-438.
- 52.- Yoder, U.C. 1980. Toxins in Pathogenesis. Annual Review Pnytopathology 18: 103-129.

A P E N D I C E

TABLA A. Promedio de longitud radicular de plántulas de maíz y frijol en tres repeticiones del metabolito tóxico de Fusarium moniliforme.

VARIEDADES	CONCENTRACIONES					
NLH-S	100	2.56	2.46	2.50	7.52	2.50
	50	4.10	3.85	3.90	11.85	3.95
	25	6.80	5.90	5.70	18.4	6.13
	12.5	7.50	9.95	9.80	27.25	9.08
	Test.	14.7	11.3	12.	38	12.66
L ₃ X L ₄	100	3.4	3	3.5	9.9i	3.3
	50	3.80	4.1	4.4	12.3	4.1
	25	6.4	6.5	6.3	19.5	6.5
	12.5	8.9	7.70	8.1	24.7	8.23
	Test.	12.5?	5.95	9.2	27.67	9.22
L ₇ X L ₈	100	2.64	2.66	3	8.3	2.76
	50	3.6	3.7	3.51	10.81	3.60
	25	5.5	5.9	6.1	17.8	5.93
	12.5	7.22	6.88	7.1	21.2	7.01
	Test.	8.66	8.78	9	26.44	8.81
FRIJOL	100	2.5	2.8	3	8.3	2.76
	50	2.9i	3.1	2.80	8.8	2.93
	25	6.9i	6.7	6.4	20	6.67
	12.5	6.9i	8.7	7.5	23.1	7.7
	Test.	7.8	8.2	8.1	24.1	8.03

TABLA B. Tabla de A X B o de doble entrada para estudiar los efectos del Factor A (Variedad), de B (Concentraciones) y de la interacción AB. Conteniendo los datos de longitud radicular de plántulas de maíz y frijol, expuestas a 4 concentraciones del filtrado tóxico del hongo.

VARIETADES	CONCENTRACIONES					T. X Va.	\bar{X}
	0	12.5	25	50	100		
NLH-S	38	27.25	18.4	11.85	7.52	103.02	20.604
L3 X L4	27.67	24.7	19.5	12.3	19.9	94.07	18.814
L7 X L8	26.44	21.2	17.8	10.81	8.3	84.55	16.91
FRIJOL	24.1	23.1	20	8.8	8.3	84.3	16.86
TOTAL POR CONCENTRACION	116.21	96.25	75.7	43.76	34.02	365.94	

Centro de Información-Biblioteca



30002005344348