

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA
MAESTRIA EN PROTECCION VEGETAL

VARIACION FISIOLOGICA Y PATOGENICA DE *Helminthosporium*
sativum P.K.B. PATOGENO DE LA CEBADA EN MEXICO.

FRANCISCO PONCE GONZALEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS ESPECIALISTA EN:

PROTECCION VEGETAL

1 9 8 6

BIBLIOTECA CENTRAL U. A. CH.

Esta Tesis fué realizada bajo el consejo particular indicado y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR



DIRECCION ACADEMICA
CHAPINGO, MEX

CONSEJERO: M.C. S.GERARDO LEYVA MIR.

ASESOR: DR. SEBASTIAN ROMERO COVA.

19304

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado, y aprobada por el jurado examinador como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
ESPECIALISTA EN PROTECCION VEGETAL

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

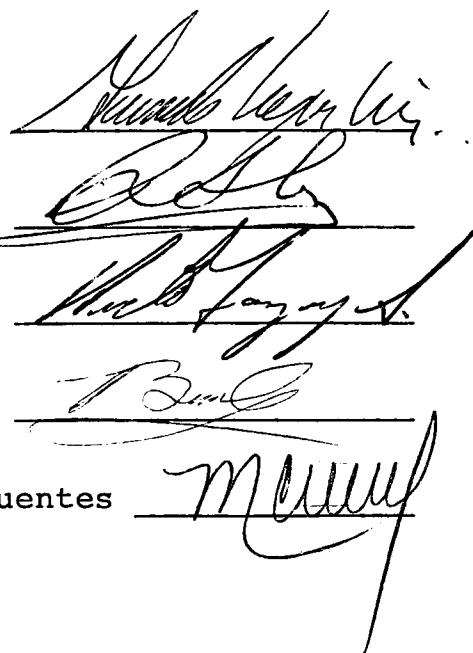
Presidente: M.C. S. Gerardo Leyva Mir

Secretario: Dr. Sebastián Romero Cova

Vocal : Dr. Héctor Iozoya Saldaña

Suplente : M.C. Benito Pinto Cortés

Suplente : M.C. Ma. Cristina López Fuentes

The block contains five handwritten signatures, each written over a horizontal line. The signatures are in dark ink and vary in style, from cursive to more formal. They correspond to the names listed in the adjacent text blocks: Gerardo Leyva Mir, Sebastián Romero Cova, Héctor Iozoya Saldaña, Benito Pinto Cortés, and Ma. Cristina López Fuentes.

DEDICATORIA

A LA MEMORIA DE MI PADRE

RICARDO PONCE PEREZ (Q.E.P.D.)
EJEMPLO DE SUPERACION.

A MI MADRE

LAZARA GONZALEZ VDA. DE PONCE
POR SU TERNURA Y CARINO,
FUENTE DE MI INSPIRACION.

A MIS HERMANOS

POR SU APOYO Y AYUDA ABNEGADA
QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO.

A MIS MAESTROS

POR HABERME LEGADO
SUS CONOCIMIENTOS.

A MIS AMIGOS

ENCUENTRO DE SINCERIDAD

A CHAPINGO

A QUIEN DEBO MI FORMACION

AGRADECIMIENTOS

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA Y AL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA, POR EL APOYO BRINDADO PARA LA REALIZACION DE MIS ESTUDIOS DE POSTGRADO.

AL DR. SEBASTIAN ROMERO COVA Y AL M.C. S.GERARDO LEYVA MIR, POR SUS - -
ORIENTACIONES Y DIRECCION EN EL PRESENTE TRABAJO.

AL DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA Y AL M.C. BENITO PINTO CORTES POR LAS SUGERENCIAS AL PRESENTE ESCRITO.

A LA M.C. MARIA CRISTINA LOPEZ FUENTES POR LA REVISION DE ESTA TESIS.

A LOS MAESTROS DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA Y EN ESPECIAL A LOS DE LA MAESTRIA EN PROTECCION VEGETAL, DE QUIENES RECIBI ACERTADOS CONSEJOS Y GRANDES CONOCIMIENTOS.

A PATY POR SU EXCELENTE LABOR MECANOGRAFICA.

A TODAS LAS PERSONAS QUE COLABORARON EN LA REALIZACION DE LA PRESENTE.

CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE CUADROS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
I INTRODUCCION	1
II REVISION DE LITERATURA	4
1. Antecedentes	4
2. Morfología	5
3. Hospedantes	7
4. Síntomas	7
5. Daños	8
6. Biología	9
7. Epidemiología	10
8. Efecto de algunas sustancias en el desarrollo de <i>H. sativum</i> ...	11
9. Toxinas de <i>H. sativum</i> ...	12
10. Interacción con otros patógenos	13
11. Variabilidad	14
11.1. Adaptación	15
11.2. Mutación	15
11.3. Heterocariosis	18
12. Control	22
12.1. Control cultural	22
12.2. Control genético	23
12.3. Control químico	23
III. MATERIALES Y METODOS	26
1. Colecta de material enfermo	26
2. Estudios de laboratorio	26
2.1. Aislamiento e identificación del patógeno	26
2.2. Cultivos monospóricos	26
2.3. Búsqueda de los 2 grupos compatibles	30
3. Estudios de variabilidad de <i>H. sativum</i> ...	32
3.1. Variabilidad <u>in vitro</u>	32

	Pág.
3.2. Variabilidad en patogenicidad	33
3.2.1. Incremento y preparación del inóculo	33
3.2.2. Inoculación	35
3.2.3. Evaluación.	35
3.3. Variación <u>in vitro</u> y patogénica de subcultivos monoconidiales.	35
3.4. Variación <u>in vitro</u> y patogénica de subsubcultivos monoconidiales.	38
3.5. Variabilidad por mutación.	39
4. Viabilidad del conidio de <i>H. sativum</i>	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	40
1. De las muestras colectadas	40
2. Estudios de laboratorio	40
2.1. Del aislamiento e identificación del patógeno.	40
2.2. Cultivos monospóricos.	40
2.3. Búsqueda de los 2 grupos compatibles.	40
3. Variabilidad de <i>H. sativum</i> generada por mecanismos asexuales.	41
3.1. Variación <u>in vitro</u> (P.D.A.), de las características culturales.	41
3.2. Variación en patogenicidad.	42
3.2.1. Inoculación.	42
3.2.2. Evaluación y análisis de resultados.	42
3.2.3. Algunas variedades que se comportaron como resis- tentes.	49
3.3. Variación <u>in vitro</u> y patogénica de los subcultivos mono- conidiales 2 y 13.	51
3.4. Variación <u>in vitro</u> y patogénica de los subsubcultivos monoconidiales.	52
3.5. Variabilidad por mutación.	55
4. Viabilidad del conidio de <i>H. sativum</i>	56
V. CONCLUSIONES.	57
VI. BIBLIOGRAFIA.	59
VII. APENDICE.	66

INDICE DE CUADROS

Cuadro

i

- 1 Origen de los 43 aislamientos de *Helminthosporium sativum*.
- 2 Aislamientos de *Helminthosporium sativum* cuyos conidios se suspendieron en agua y se colocaron en semilla salcochada para la búsqueda de los dos grupos compatibles en la primera etapa.
- 3 Aislamientos de *Helminthosporium sativum* que conformaron cada una de las suspensiones de conidios en la búsqueda de los dos grupos compatibles en la segunda etapa.
- 4 Aislamientos de *Helminthosporium sativum* escogidos para medir la variación patogénica en 10 variedades de cebada.
- 5 Escala de evaluación para *Helminthosporium* en cereales.
- 6 Variedades de cebada utilizadas como diferenciales para observar si existe variación de *Helminthosporium sativum* en condiciones de invernadero.
- 7 Tratamientos con luz ultravioleta a los que se sometió el aislamiento 8.
- 8 Grupos de patogenicidad diferente, resultado de las 20 cepas inoculadas a 10 variedades de cebada.
- 9 Características culturales en P.D.A. y patogenicidad de los subcultivos 2 y 13 en la variedad Porvenir.
- 10 Características culturales en P.D.A. del aislamiento 8 expuesto a la luz ultravioleta y su patogenicidad en la variedad Porvenir.

INDICE DE FIGURAS

Figura

ii

- 1 Escala de evaluación para el estudio de variación patogénica en *Helminthosporium sativum*.
- 2 Reacción de la variedad Porvenir al aislamiento 1 (Izquierda) y al aislamiento 20 (Derecha).
- 3 Respuesta de la variedad Mona al aislamiento 8 (Izquierda) y al aislamiento 17 (Derecha).
- 4 Respuesta de la variedad Mona (Izquierda) y de la variedad Manker (Derecha) a 20 aislamientos de *H. sativum*.

El cultivo de la cebada en México ocupa el cuarto lugar en cuanto a superficie sembrada. Dentro de las enfermedades que atacan a este cultivo, -- *Helminthosporium sativum* es una de las más importantes. El método de control más efectivo contra este patógeno es la resistencia genética, pero -- hasta la fecha no se conoce en nuestro medio, la capacidad del hongo para formar nuevas razas fisiológicas, prerequisite muy importante para iniciar trabajos dirigidos a la búsqueda de material resistente. Considerando lo anterior, se llevó a cabo el presente trabajo con el objeto de: 1.- Investigar la variación patogénica de *H. sativum* en México con base en las características fisiológicas y patogénicas, 2.- Estudiar algunos de los -- mecanismos implicados en la variabilidad que el hongo mostrara y 3.- Buscar los dos grupos de compatibilidad necesarios para la obtención de la fase -- perfecta, hipotéticamente la fuente más importante de variación.

Para este estudio se colectaron 43 muestras de material enfermo en diferentes localidades de la Meseta Central, se aisló el patógeno, se identificó, se hicieron cultivos monospóricos, a los cuales se les registraron las características culturales en P.D.A. Los 43 cultivos monospóricos se aparearon e inocularon en semillas de cebada, utilizando como base el medio de Sach-agar para la obtención del estado ascógeno. Se escogieron -- veinte cultivos y se inocularon en 10 variedades de cebada en el invernadero con el propósito de estudiar su comportamiento patogénico.

Los resultados obtenidos indican que los aislamientos de *H. sativum* probados, mostraron variación en cuanto a sus caracteres culturales en P.D.A. -- Con los 43 aislamientos apareados en el medio de Sach-agar propuesto por --

Tinline (1951) no se obtuvo el estado perfecto de *H. sativum*. La reacción de las diez variedades al ataque de los 20 aislamientos fué diferente, obteniéndose 10 grupos distintos de patogenicidad. Se encontró asimismo, - que un mismo conidio puede variar de generación en generación. La luz ultravioleta no causó variación morfológica y patogénica.

I INTRODUCCION

El cultivo de la cebada en México ocupa el cuarto lugar en cuanto a superficie sembrada, siendo ésta de 291,165 Has., es decir, solamente es superada por el maíz, trigo y sorgo. La mayor parte de la superficie cultivada se ubica en la Meseta Central (195,000 Has.), distribuídas - - principalmente entre los estados de México, Tlaxcala, Hidalgo y Puebla; es también el cultivo que más área ocupa, después del maíz, en las zonas de temporal de los Valles Altos (DGEA 1983). Del total de la superficie dedicada a la producción de esta gramínea, 281,478 Has., son destinadas a la obtención de grano y 9,687 Has., se usan para forraje.

En nuestro país, la cebada se utiliza en la industria maltera, como forraje verde y seco para el ganado, asimismo a manera de concentrado y en menor proporción para la alimentación humana (Robles 1975).

Tal y como ya se indicó anteriormente, esta planta se siembra principalmente en áreas temporales donde la escasez de lluvias y otros factores naturales, como las enfermedades, disminuyen considerablemente los rendimientos. Entre las principales enfermedades en México se encuentran: las royas, que incluye a la roya del tallo (*Puccinia graminis* fsp *hordei*), roya lineal (*P. striiformis* f. sp. *hordei*), roya de la hoja (*P. hordei*), cenicilla (*Erysiphe graminis*), escaldadura de la hoja (*Rhynchosporium secalis*), tizón bacterial (*Xanthomonas translucens*), virus del enanismo y amarillo de la cebada y las manchas foliares causadas por varias especies de *Helminthosporium*.

Leyva (1982) indica que, en México, del género *Helminthosporium* se han identificado tres especies que son patógenas a la cebada, a saber: *H. sativum*, *H. teres* y *H. gramineum*, de las cuales la primera es la más agresiva.

Zillinsky (1984) menciona que *H. sativum* es un patógeno muy peligroso de la cebada, trigo y muchos pastos; en los que causa manchas foliares, pudrición de la raíz y corona, destrucción de los nudos, tizón de la espiga y ahogamiento de plántulas.

Este hongo ataca a la cebada y al trigo severamente, en tanto que causa menos daños al centeno y avena. Otra característica de este patógeno es que tiene gran capacidad de supervivencia en tejido vegetal muerto y en el suelo.

Por otra parte, algo extremadamente importante desde el punto de vista fitopatológico, es su gran variabilidad expresada claramente por la producción de razas fisiológicas (Stakman y Harrar, 1957). Al respecto, -- Christensen, en 1926 determinó 37 razas fisiológicas.

Aquí en México a pesar de que se sospecha de la variabilidad de este patógeno, no se han realizado estudios tendientes a la determinación de razas fisiológicas, los cuales son necesarios para emprender trabajos relacionados con mejoramiento genético, que es la medida de control más adecuada contra este hongo en cebada. En consecuencia y basándonos en lo -- anteriormente citado, se llevó a cabo el presente estudio con los siguientes objetivos.

- 1). Investigar si *H. sativum* consiste de varias razas fisiológicas,

tomando como base las características fisiológicas y patogénicas de diferentes aislamientos de este hongo.

- 2). Estudiar algunos de los mecanismos implicados en la variabilidad del hongo.
- 3). Buscar los dos grupos de compatibilidad necesarios para la obtención de la fase perfecta, hipotéticamente la fuente más importante de variación.
- 4). Identificar grupos patogénicos mediante inoculación en plantas diferenciales.

II. REVISION DE LITERATURA

Antecedentes

El género *Helminthosporium* fué descrito por Link en 1809, como *Helmisporium*, tomando a *H. velutinum* como tipo. En 1821 Gray avaló la descripción, sin embargo, Person (1822) modificó la ortografía del nombre, poniéndole *Helminthosporium*. Shoemaker en 1959 menciona que el nombre de *Helminthosporium* es una variante ortográfica de *Helmisporium* y aunque más apropiada es ilegítima según el artículo 73 del Código Internacional de Nomenclatura Botánica, el cual indica que por prioridad de publicación se debe conservar el nombre original (Leyva, 1982).

En base a la forma y germinación del conidio Shoemaker (1959) divide al género en dos subgéneros, a saber: *Cylindro-Helmisporium*, en el cual agrupa a las especies con conidios cilíndricos que germinan por cualquiera de sus células y *Eu-Helmisporium*, para las especies que producen conidios en forma de huso y que germinan por las células de los extremos.

Shoemaker en 1962 (Leyva, 1982) menciona que Ito en 1930 propuso el nombre de *Drechslera* para las especies que producen conidios de forma cilíndrica y que pueden germinar por cualquiera de sus células, poniendo como tipo a *D. tritici repentis*. El mismo autor propuso el nombre de *Bipolaris* para las especies que producen los conidios fusiformes y cuyas células polares son las únicas que germinan.

Con respecto a las especies de *Helminthosporium* que atacan a la cebada aquí en México, Leyva (1982) reporta tres, a saber: *H. sativum*, *H.*

teres y *H. gramineum*. El mismo autor considera a la primera especie como la más patogénica, más distribuida y por lo tanto la de mayor importancia.

Morfología.

Conidióforos erectos, café oscuros, que salen por los estomas solos o en fascículos, multiseptados, poseen su base bulbosa y miden 6-10 micras de ancho por 140-500 micras de largo; conidios largos, ligeramente curvos, con 3 a 9 septas y miden de 105 a 120 micras de largo por 15 a 20 micras de ancho (Sprague, 1950 y Zillinsky, 1984). La fase sexual corresponde a la especie *Cochliobolus sativus* debido a que produce pseudotecios negros e irregulares, de consistencia subcoriácea y cubiertos por algunas hifas que desaparecen a medida que se acerca su maduración, el ostiolo mide de 370 a 530 micras de largo por 340 a 470 micras en su mayor anchura; las ascas son subcilíndricas, estípitas, mas o menos ensanchadas especialmente antes de la dehiscencia; bitunicadas, octosporicas, ascosporas hialinas al principio y coloreadas cuando llegan a la maduración, característicamente filamentosas, con muchas septas y dispuestas en forma helicoidal en el asca (Holliday, 1981).

La fase sexual es difícil de que se forme en la naturaleza (Nyvall, 1979 y Tinline, 1951), porque la especie es heterotálica. Kuribayashi (1929) indica que obtuvo la fase perfecta (*Ophiobolus sativus*), colocando hojas de trigo y cebada infectadas por *H. sativum* en un medio compuesto de tallos de arroz cocidos mas agar, en un tiempo de cuatro a cinco semanas.

Tinline (1951) en estudios concernientes al estado perfecto de *H. sativum* utilizó pan esterilizado de trigo, cebada, centeno, avena y dife--

rentes pastos; estos materiales fueron inoculados solos y en pares con *H. sativum*, para luego sembrarlos en el medio de Sach-agar. Después de 4-5 semanas observó la formación de pseudotecios pero sin ascas en el caso de los cultivos solos y pocas ascas en los cultivos apareados. En esta prueba dice Tinline, el substrato favorable para la formación de ascocarpos y ascas fué la paja de cebada, aunque la cantidad fué escasa.

También el autor hizo estudios con plántulas de trigo provenientes de semilla esterilizada y después inoculadas, mismas que colocó en el medio de cultivo Sach-agar; a las 4-5 semanas siguientes encontró algunos pseudotecios con muy pocas ascas y ascosporas. A esta prueba en un segundo experimento le agregó al medio de Sach las siguientes vitaminas: biotina, tiamina, riboflavina y pantotenato de calcio. Los tratamientos con vitaminas y sin ellas no difirieron en la producción de ascocarpos.

El mismo autor llevó a cabo otro experimento, que consistió en tomar semillas de cebada, esterilizarlas superficialmente, salcocharlas por 2-3 minutos, luego inocularlas por inmersión en una suspensión de conidios de 2 grupos compatibles. A las 4 semanas aparecieron abundantes pseudotecios con muchas ascas normales, por lo cual Tinline califica a este método como el mejor para la obtención de la fase perfecta de *H. sativum*.

Concluye también Tinline en base a estas y otras pruebas, que el hongo es heterotálico y que una misma cepa es capaz de producir anteridios y ascogonios pero incompatibles.

Tuite (1969) reporta que el método de semilla de cebada salcochada en medio de Sach-agar, sigue siendo el mejor para la obtención de *Cochlio*

bolus sativus.

Hospedantes.

Por orden de mención, *H. sativum* prospera mejor en la cebada que en el trigo, triticale, centeno, muchos pastos y avena (Zillinsky, 1984 y - Dickson, 1956).

Síntomas.

Zillinsky (1984) indica que *H. sativum* es el patógeno más importante de la cebada en condiciones calientes con alta humedad; asevera igualmente que el hongo ataca a la semilla en el suelo, a la corona y raíces de plántulas, a las hojas de plantas adultas y espiga, convirtiéndose por ello en un problema muy serio.

Sprague (1950) menciona que, después de las royas, *H. sativum* es el patógeno más dañino de la cebada y trigo pero si tomamos en cuenta su alto grado saprofítico, su alto grado de supervivencia y su amplio rango de hospedantes, puede convertirse en un problema muy trascendental de este cereal.

Fallas en la germinación. Debido a que el hongo vive como saprófito en el suelo, o bien puede ir en la semilla a este le es fácil atacar, invadirla al momento de la siembra, causando altos porcentajes de semillas no germinadas (Tyulina 1977).

Pudrición común de raíces. Cuando el patógeno no alcanza a pudrir el grano, puede atacar al sistema radical después de que emerge la plántula. Primero aparecen en el hipocótilo manchas pardas, pero cuando las condiciones son secas, se observa en las hojas basales un amarillamiento

seguido de lesiones cafés, de esa misma manera se muestra a nivel de la corona una pudrición que trae consigo la muerte de la plántula (Nyvall, 1979).

Manchas foliares. En plantas en etapa de crecimiento y mayormente durante el espigamiento, se presentan en las hojas, vainas y entrenudos, manchas ovales a fusiformes de color café oscuro que contrastan marcadamente con el color verde normal de la planta; estas manchas pueden coalescer y cubrir gran parte del tejido. Otra característica de diagnóstico es la abundante producción de conidios cuando hay una humedad mayor a 75% (Zillinsky, 1984). Por su parte, Nyvall (1979) señala que cuando el ataque coincide con el espigamiento, hay un mal llenado de los granos o bien quedan vanos. En condiciones favorables el ataque puede llegar hasta la espiga, provocando lo que se conoce como punta negra del grano, el cual no puede usarse como semilla porque se inhibe su germinación.

Daños.

Christensen (1926) cita que en parcelas comerciales ha encontrado niveles de infección hasta de 50%. Dosdall (1923) señala que en Minnesota *H. sativum* es el problema mas serio. Whittle (1978) registra que las pérdidas por semilla infectada en dos años fueron hasta del 15% en promedio.

En un estudio para ver el incremento en la infección de semillas de cebada por *H. sativum* durante cuatro ciclos, Mangan (1979) notó que en el primer ciclo la infección fué mínima en la semilla, pero al cabo de los cuatro años la infección en la semilla fué mayor al 50%.

En experimentos realizados en Brasil por Diehl (1979) sobre los agen

tes causales de la pudrición común de la raíz del trigo, concluye que *H. sativum* ocupó el 60% de los aislamientos de los muestreos realizados, en contraste con *Fusarium oxysporum* que sólo se encontraba en el 5%, *F. gramineum* 5%, *Rhizoctonia*, *Alternaria* y *Curvalaria* 2%.

Biología.

Huang y Tinline (1976) en un estudio histopatológico determinaron que no existen diferencias en el proceso de infección entre el trigo y la cebada, a pesar de que en el campo existe desigualdad muy marcada en cuanto a resistencia de estos cereales a la pudrición común de la raíz causada por *H. sativum*. Indican también que la penetración del hongo fue vía pelos epidermales, estomas y células rectangulares, resultando infectados la corteza de los tallos y tejido endodérmico, mismos que se mostraron -- destruidos.

En un estudio relacionado con la localización de *H. sativum* en el cariópside de la semilla de trigo y su posterior impacto en la germinación Teplyakov, en 1977 encontró que las semillas de trigo infectadas tanto artificial como naturalmente por el patógeno, poseían el micelio del hongo sólo en la pared de la cariópside y que en la germinación el micelio -- se halló 3 días después en la radícula y 5 días más tarde en el coleóptilo.

Bisen y Channy (1983) reportaron que después de observar los estados iniciales de infección por *H. sativum* en hojas de trigo, la especie germinó a las 4 horas, el apresorio se desarrolló a las 8 horas en la pared -- celular de la epidermis, la hifa causó la infección inicial en las células adyacentes, la germinación bipolar se obtuvo entre 12 y 16 horas y a

las 24 horas el citoplasma del hospedante se volvió granular debido a la patogénesis.

Epidemiología.

Dosdall (1923) indica que el micelio del hongo es capaz de crecer a una temperatura de 1 a 37°C, con un óptimo 28°C. Los conidios en agua - destilada germinan en un rango de 6 a 39°C, pero el óptimo está entre 22 y 32°. El tubo germinativo penetra a los tejidos de la hoja desde los - 12 a los 34°C, pero las infecciones más severas ocurren de 22 a 30°C. - Sin embargo a temperaturas arriba de los 30°C las lesiones se desarrollan rápidamente después de la inoculación.

Con respecto al pH, la espora por lo general germina mejor en medios alcalinos que en ácidos. No obstante, tiene un amplio rango de pH. Estudios en invernaderos indican que hay mayor efecto de la infección de la - raíz y corona en condiciones muy secas o muy húmedas, que cuando el suelo contiene la humedad adecuada para el desarrollo de la planta. En experimentos conducidos durante un año se encontró que no hubo correlación entre la fertilidad del suelo y el desarrollo de la enfermedad, aunque en - distintos tipos de suelo se obtuvieron porcentajes desiguales de daño por el patógeno, lo cual se debe a su grado de retención de humedad y temperatura (Dosdall, 1923).

Sprague (1950) dice que *H. sativum* esporula abundantemente cuando el tiempo es caliente y la humedad alta. Sin embargo, las epifitias se presentan cuando, intercalado ocurre un período de sequía. Algo similar señala Nyvall (1979) al indicar que, las plantas bajo condiciones de estrés por sequía, temperatura alta, con deficiencia en nutrimentos y daños por

insectos chupadores, son altamente susceptibles a dicho hongo.

Nema y Joshi (1973) apuntan que los factores ambientales que tienen mayor influencia en el desarrollo de la enfermedad son la temperatura y la humedad; arguyen que detectaron mayor infección a 28°C que a 22 y 25°C, además, señalan que las plantas en floración son más susceptibles que las plantas jóvenes. Esto último también fue señalado por Bidari y Govindu en 1975.

Durynina y Velikanov (1974) notaron que la incidencia de *H. sativum* fue mínima cuando se fertilizó adecuadamente con fósforo y potasio, mayor al usar nitrógeno y fósforo, o también potasio, pero cuando no se fertilizó, o únicamente se hizo con nitrógeno la incidencia fue máxima. En lo que respecta al nitrógeno, Saur y Schonbeck (1976) indican que al aumentar los niveles de nitrógeno hubo un crecimiento lineal en la severidad de la enfermedad.

Efecto que tienen algunas sustancias en el desarrollo de *H. sativum*.

Timon et al. en 1974 concluyeron que algunos aminoácidos y otras - sustancias extraídas de la raíz del trigo alteran el desarrollo, esporulación y características culturales del hongo; además, reducen marcadamente su virulencia en plántulas de trigo y la sensibilidad del conidio a la fungistasis en el suelo.

Ismail y Michalikova (1977) al probar el efecto de los ácidos salicílicos y gálicos, encontraron que éstos estimulan fuertemente la germinación de los conidios de *H. sativum*. Por su parte Saur (1979) observó que el fungicida sistémico "ethirimol", incrementa la germinación del conidio

sobre las hojas, al igual que estimula la penetración y colonización del micelio en el follaje. Al comparar la fructificación del patógeno en hojas tratadas con ethirimol y hojas no tratadas, se vió que ésta tuvo lugar a los 12 y 17 días, respectivamente. Este autor también aisló la toxina de *H. sativum*, la cual aplicada al hospedante reprodujo síntomas -- idénticos a los causados por el hongo. A esta toxina también la aplicó en plantas tratadas con ethirimol y plantas no tratadas y observó que hubo reacciones patológicas más fuertes en las tratadas que en las no tratadas.

Toxinas de *H. sativum*.

Vavenkow (1974) al estudiar la acción de la toxina de *H. sativum*, de terminó que dicha substancia causa esterilidad del polen en trigo, por -- esa razón incrementa la severidad de infección. Shchekochkhina (1975) in dica que *H. sativum* forma substancias inhibitorias a el desarrollo de --- plántulas, y que el metabolito más tóxico se produce durante el desarro-- llo micelial activo en un número limitado de azúcares en el medio. Men-- ciona también que las propiedades nutritivas del medio y las característi cas fisiológicas de el patógeno, son factores importantes que influyen so bre el grado de toxicidad del metabolito.

Yadaf (1981) analizó los filtrados de *H. sativum*, encontrando que el hongo secreta citoquininas in vitro; posteriormente analizó estos filtra dos por cromatografía y detectó la presencia de 2 substancias activas. -- Menciona luego que la secreción in vitro de citoquininas por *H. sativum*, sucede durante los estados iniciales de la patogénesis.

Interacción con otros patógenos.

Adlakha y Raychaudhuri (1975) al observar la interacción entre *H. sativum* y el virus mosaico estriado del trigo (WMSV), notaron que el número y tamaño de manchas causadas por el hongo se incrementaron cuando las 3 variedades estudiadas se inoculaban con el WMSV de 10 a 20 días antes. Infectando el trigo primero con *H. sativum* y poniendo luego el WMSV, no hubo efecto en el porcentaje de infección, período de incubación y expresión de síntomas del WMSV.

Tinline (1977) reporta que en inoculaciones al trigo con *Cochliobolus sativus* solo y combinado con *Fusarium culmorum* y *F. acuminatum*, no hubo supresión de las dos especies de *Fusarium* cuando *C. sativus* se inoculó primero, pero cuando los fusarios se infectaron primero, no hubo desarrollo subsecuente de *C. sativus*. También Ledingham (1942) demostró el antagonismo entre *F. culmorum* y *H. sativum* cuando los inoculó simultáneamente sobre trigo, además, indica que la germinación de los conidios de *H. sativum* es inhibida por la presencia de *F. culmorum*.

Scardaci, (1981) después de estudiar el antagonismo de *Bipolaris sorokiniana* (= *H. sativum*) y *F. culmorum*, menciona que el patógeno que se inocula primero evita las infecciones y colonización subsecuente del que se inocula después, siempre y cuando se inoculen juntos al momento de la siembra. Este mismo comportamiento no sucede cuando las inoculaciones - (aunque juntos) se realizan 21 días posteriores a la siembra.

Existen otros organismos que son antagónicos a *H. sativum* pero que no son patógenos, como *Trichoderma viride*, *T. lignorum*, *Epicoecum purpurascens*, *Pseudomonas viscosas* y algunos actinomicetos (Scardaci, 1981).

Variabilidad (Stakman y Christensen, 1953).

Se sabe que muchas especies de hongos patógenos son genéticamente complejas, lo cual a nadie debe sorprender ya que muchas de las plantas cultivadas sobre las que viven los patógenos son igualmente complejas.

La manera en que los hongos manifiestan su variabilidad, es mediante la formación de RAZAS FISIOLÓGICAS. El término "raza fisiológica" se refiere a un biotipo o grupo de biotipos de una especie o variedad, que pueden distinguirse con facilidad por sus caracteres fisiológicos, entre los que se incluye la patogenicidad.

La determinación de la variabilidad fenotípica, esto es, los cambios temporales de apariencia y comportamiento debidos al ambiente, es relativamente fácil cuando los organismos pueden cultivarse en medios artificiales, por cuanto los factores ambientales afectan el desarrollo del hongo, no al medio. Las determinaciones similares son más difíciles cuando el hongo crece en plantas vivas porque el ambiente afecta al patógeno, al hospedante y a las interacciones mutuas.

La variabilidad fenotípica causada por los nutrimentos, temperatura y otros factores, es a menudo tan grande como para ocultar las diferencias genéticas entre biotipos y razas, cuando son determinados parcialmente por caracteres culturales y por la patogenicidad. Es esencial, por consiguiente, estandarizar los medios y otras condiciones con grados variables de exactitud, según cual sea el hongo y los objetivos de la investigación. Antes de extraer conclusiones sobre la diferencia genética de los aislamientos, es necesario, como primer requisito, determinar los límites de la variabilidad fenotípica (Stakman y Christensen, 1953). A con

tinuación se discute un poco sobre algunos mecanismos de variación.

Adaptación.

El término adaptación en el sentido en que aquí se da, expresa la capacidad que posee un biotipo para adquirir algo que originalmente no podía hacer bien. Muchos trabajos se han realizado, al respecto, y argumentan que sí se presenta este tipo de variabilidad. Contrastantemente también un gran número de experimentos arrojan resultados contrarios a este tipo de variabilidad (Stakman y Christensen, 1953).

Los hongos utilizados en los experimentos de adaptación deben ser genéticamente puros, pues en caso contrario lo que aparenta ser una adaptación de un solo biotipo puede deberse al efecto selectivo de las variedades de plantas hospedantes sobre una población mezclada. Esto parece explicar las conclusiones erróneas a que llegaron algunos de los primeros investigadores del problema. En aquel tiempo poco se sabía de la genética de los hongos y era natural que los resultados se interpretaran equivocadamente.

Aunque no puede afirmarse categóricamente que los hongos parásitos - no se adaptan nunca a variedades resistentes de plantas, se ha visto que pueden adaptarse o adquirir tolerancia a ciertos compuestos químicos sin llegar a mutar. Esto no se puede seguir especulando, se requiere de una investigación muy intensa para llegar a resolver este problema (Stakman y Christensen, 1953).

Mutación.

Es un cambio mas o menos brusco en el material genético de la célula

el cual es transmitido en forma hereditaria a la progenie. Muchos hongos fitopatógenos mutan y existen pruebas de que la mutación difiere mucho - con las especies y con las condiciones ambientales entre las que se incluyen algunos agentes mutagénicos.

Se han observado más comúnmente mutantes en cultivos sobre medios nutritivos sólidos donde se presentan a menudo en forma de sectores o man--chones notables en las colonias. Muchos, sin embargo, no se notan, ya - sea porque el medio en que se forman no es apropiado para su crecimiento o porque la mutación de los caracteres fisiológicos y de patogenicidad se presentan sin que haya un cambio de apariencia, o también a causa de que algunos mutantes pueden quedar ocultos por el crecimiento de la línea ge-nitora (Stakman y Christensen, 1953).

La mutación de los hongos puede suceder en la mayoría de los caracte-res fisiológicos y morfológicos. El cambio se produce en uno o muchos de ellos y ser de distinta magnitud. La mutación es común en los caracteres culturales entre los que se incluyen el color, la topografía y consisten-cia de las colonias, dirección del crecimiento, naturaleza del margen, - zonado, variación, tipo de crecimiento y grado de esporulación. Hay tam-bién mutación en los caracteres fisiológicos, tales como la producción de enzimas, la reacción a los compuestos químicos conocidos, a las sustancias tóxicas a las exigencias de temperatura, el efecto se observa a menudo en los caracteres morfológicos, principalmente en la forma, tamaño y color de las esporas, órganos de fructificación y formas de resistencia. También es común la mutación en el vigo sexual y en la patogenicidad.

Es más difícil observar la mutación de la patogenicidad que de los -

caracteres culturales, pero cuando la primera ocurre aquella se pierde - parcial ó totalmente; sólo en forma ocasional hay una ganancia. En el caso de *H. sativum*, Stakman y Christensen en 1953 indican que el hongo produce muchos mutantes pero son poco patogénicos. Buxton (1960) señala que la mayoría de los hongos imperfectos son haploides y las mutaciones en patogenicidad en un haploide se expresan inmediatamente, a menos que haya - epistasis o se modifique por otros factores. El mismo Buxton en 1959 reporta que *Fusarium oxysporum* fs. *pisi* sometido a la luz ultravioleta no - aumentó su virulencia conservándose igual a la raza original.

Referente a los factores que influyen en la mutación, en algunos hongos, el número visible de mutantes producidos cambia con los diferentes - medios. No se sabe en todos los casos si ésto es el resultado de distintas variaciones en la mutación o una disimilar visibilidad en los diversos medios de cultivo. Algunos azúcares, sales de potasio, de uranio, de algunos metales pesados y otros compuestos químicos, aumentan el número de mutantes visibles. Tanto las temperaturas elevadas como las bajas pueden -- también ocasionar mutantes, lo cual depende de las especies o biotipos del hongo. La luz ultravioleta, las radiaciones y algunos productos de bacterias son también agentes mutagénicos.

La estabilidad de los mutantes difiere enormemente. Algunos conti-- núan mutando grandemente, otros son más o menos constantes y hay muchos - grados intermedios. Varios mutantes de *H. sativum*, *H. oryzae*, *H. carbo-- num*, *Gibberella zeae* y *Fusarium lini*, han sido cultivados durante años - junto con sus líneas progenitoras y conservan sus caracteres distintivos. Algunos permanecen constantes en diversos medios durante varios años y -

también conservan sus caracteres culturales distintivos. No obstante -- otros hongos continúan mutando abundantemente (Stakman y Christensen, -- 1953).

Heterocariosis.

Es aquella condición en la cual las hifas o sus células contienen -- núcleos diferentes, lo cual puede efectuarse independientemente del sexo. De las recientes e iniciales investigaciones de Hansen y Snyder, surge -- que es común en muchos hongos cuyo estado sexual no se conoce, es decir, en los hongos imperfectos. La heterocariosis es el resultado de fusiones entre hifas de diferentes genotipos (Buxton, 1960).

En una rama hifal que se inicia con un solo núcleo, puede producirse una mutación en el transcurso de las sucesivas divisiones nucleares y terminar en heterocariosis.

Dickinson, cultivó juntos un *Fusarium* rojo y uno blanco, luego separó las puntas de las hifas provenientes de las que se habían fusionado y las pasó a agar nutritivo. Algunas de ellas produjeron colonias rosadas; sin embargo, los subcultivos eventualmente produjeron colonias rojas y -- blancas sugiriendo entonces, que, los núcleos de las líneas rojas y blancas estuvieron asociados por algún tiempo y luego se disociaron. De esto se deduciría que un heterocarionte es solamente una asociación temporal de núcleos separados, y aunque la heterocariosis es precursora del parasexualismo, de ninguna manera podría funcionar como un sistema de recombinación permanente entre distintos caracteres genéticos. Empero, gracias a la recombinación parasexua (Pontecorvo 1956), es decir, a un sistema de recombinación genética que opera sin gametangios, pueden originarse nue--vos individuos fisiológicos y patogénicos. Estas surgen (Buxton, 1960) --

por intercambio cromosómico, por inversiones cromosómicas o por mecanismos similares a los del intercambio genético en los núcleos diploides.

Muchos heterocariontes se forman por anastomosis entre tubos germinativos de esporas genéticamente diferentes, o bien, por anastomosis entre hifas adultas en algún momento posterior a la germinación. Los núcleos emigran por los puentes entre las hifas anastomosadas de los distintos componentes monocarióticos haploides. La iniciación de la heterocariosis es relativamente fácil de explicar, pero los mecanismos y cambios fisiológicos fundamentales para que tal condición se perpetúe, no son conocidos -- (Buxton, 1960).

Buxton (1956) demostró que *Fusarium oxysporum* fsp *pisi* produjo nuevas razas fisiológicas en el laboratorio por recombinación somática y cariótica pero no pudo determinar si esos heterocigotes diploides se produjeron -- por intercambio de material genético o haplodización. Watson y Luig (citados por Day, 1959) indican que la recombinación somática en royas, es responsable en gran parte de la producción de nuevas razas fisiológicas.

La heterocariosis debe distinguirse de la condición dicariótica en la cual se encuentran dos núcleos de sexo contrario y se dividen mitóticamente durante el desarrollo del hongo, de modo que todos los derivados de un núcleo dado tienen también los factores de sexo opuesto, los cuales se conservan así hasta la cariogamia y se separan en la meiosis.

Para saber si las esporas polinucleadas son heterocarióticas, hay que determinar cómo se originaron esos núcleos. Graham consigna que en el género *Helminthosporium* los núcleos de una espora no se derivan de un núcleo padre, por lo tanto hay evidencias de que la espora multinucleada es hete-

rocariótica; en cambio, Hrushovetz's indica que de los conidios de *H. sativum* sólo germina una célula y las demás se desintegran; por eso, aunque haya núcleos genéticamente diferentes, cada uno de éstos no puede dar origen a un heterocarionte, pero los tubos germinativos de esas esporas monocarióticas, genéticamente diferentes pueden anastomosarse y producir un heterocarionte. Por otra parte, Roane reporta que los conidios de *H. caribonum*, se originan de un conidióforo uninucleado y consecuentemente, todos los núcleos del conidio son iguales (Buxton, 1960).

Buxton en 1956 y 1960 dice que en base a sus estudios encontró que la recombinación parasexual discutida por Pontecorvo (1956) en hongos no fitopatógenos, también opera en *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, como una forma de producir nuevas razas fisiológicas; menciona también que, los heterocariontes de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* no aumentan la virulencia, pero tampoco permanece constante.

Christensen en 1926 realiza el primer estudio sobre especialización fisiológica de *H. sativum* y concluye que se originaron 37 formas fisiológicas de *H. sativum*, las cuales se pueden distinguir por las siguientes características culturales: velocidad de crecimiento, elevación del micelio, producción de conidios, zonación y color del micelio, entre otras, además, aunque todas las formas atacaron semillas, plántulas, follaje, tallos y partes florales de trigo y cebada, su grado de ataque indicó que también fueron diferentes en patogenicidad.

Frecuentemente hubo mitación o heterocariosis en algunas formas de *H. sativum*. El mutante o heterocarionte se dispuso como un sector aparte, algo dissociado del resto del crecimiento en el medio de cultivo. Dicho -

fenómeno sucedió con más frecuencia en los cultivos monospóricos.

Se presentaron algunas formas fisiológicas que mutaron rápidamente y otras que no mutaron. Asimismo, los mutantes difirieron de sus progenitores en morfología, caracteres culturales y patogenicidad.

Christensen (1929) al analizar la influencia de la temperatura en la frecuencia de mutaciones de *H. sativum*, determinó que dicho factor tiene gran efecto en la frecuencia de mutación de este hongo. Asevera que la temperatura óptima para la mutación de *H. sativum* es de 25 a 27°C y no ocurre mutación a temperaturas mayores a 30°C y menores a 15°C. El autor precisa también que algunos mutantes conservaron sus características durante 4 años de estudio cuando se cultivaron en el hospedante y medio de cultivo; este hecho supone que esos cambios no fueron meramente fenotípicos.

Helminthosporium gramineum ataca considerablemente a la cebada y aunque no tiene un alto potencial saprofítico su capacidad de variación es muy grande. Así tenemos que el mismo Christensen (1934) determinó más de 125 razas en base a características culturales en medio de cultivo, pero al inocular 16 variedades de cebada separó más de 20 razas fisiológicas de acuerdo al grado de virulencia. Igualmente indica Christensen que la luz ultravioleta, disminuyó la capacidad de fructificación en algunas razas e indujo la producción de variantes.

La bacteria *Bacillus mesentericus* en medios artificiales sólidos o líquidos, produce una sustancia que reduce el desarrollo, incrementa la producción de conidios, inhibe o retarda la germinación, causa desarrollo anormal de la hifa e induce la mutación en ciertas razas de *H. sativum* --

(Christensen, 1940).

De la cebada variedad Kindred se aisló una nueva raza de *H. sativum*, la cual formó, en P.D.A., micelio rosado y este produjo conidios muy parecidos en tamaño, forma y septación a los de las razas comunes. La temperatura para desarrollo de micelio y germinación de esporas también fué la misma. Los mismos síntomas que causan las razas comunes, de esporas también son inducidos por este nuevo biotipo. De la misma manera, la variante en cuestión ataca los mismos hospedantes que las ya conocidas, además del maíz y las variedades consideradas como resistentes a los biotipos de conidios negros. En conclusión esta nueva raza resultó mucho más especializada que las comunes (Pond, 1952).

Control.

Evidentemente que cualquier estudio relacionado con un patógeno, ya sea tendiente a su identificación, distribución, daños, etc., siempre el objetivo final es lograr un combate adecuado, o bien, proponer alternativas de control que eviten pérdidas económicas y que redundan en la merma de la producción. Enseguida se explican algunos tipos de control que marca la literatura revisada sobre este patógeno.

Control Cultural.

Afanas'eva (1977) reporta que la fertilización con nitrógeno mas fósforo, incrementan la microflora saprofítica causando un decremento en número de conidios de *H. sativum* en el suelo. Por su parte Diehl (1979) indica que en cultivos continuos de trigo-soya la severidad de la pudrición común de la raíz causada por *H. sativum* es grande, mientras que dejando de cultivar mediante ese sistema los cultivos mencionados, por 3 ó

4 años, el daño no es significativo, de igual forma sucede cuando se siembra en suelos vírgenes. Basado en estos hallazgos el autor propone que la rotación de cultivo con algunas hortalizas o alfalfa por más de 4 años la incidencia del hongo es mucho menor. Reis (1983) menciona que al quemar los residuos de trigo o cebada según sea el cultivo, la cantidad de conidios desciende significativamente.

Control Genético.

Este tipo de control según Zillinsky (1984) y Dickon (1956) es la mejor alternativa para contrarrestar los daños de este hongo. Al respecto, Piening (1973) estudió la respuesta diferencial de 10 variedades de cebada al ataque del hongo de la pudrición común de la raíz y determinó en sus resultados que las variedades Bonanza, Centinela y Jubile fueron poco afectadas.

Aquí en México, Leyva (1982) señala que no se obtuvo material de cebada completamente resistente a *H. sativum*, no obstante las variedades -- Manker, Arivat y Mona, fueron ligeramente susceptibles.

Control Químico.

El uso de sustancias químicas para el combate de organismos parásitos de las plantas, ha tenido mucho auge a través de los años; los fungicidas a su vez han evolucionado por cuanto se sigue avanzando en el conocimiento de la fisiología de los hongos. La aplicación de fungicidas en cultivos extensivos ha tenido un uso mínimo, no porque estos productos no controlen eficientemente al patógeno, sino que la poca redituabilidad del cultivo no hace costear aumentar los costos de producción. Por eso en la producción de cereales el uso de fungicidas se concreta a tratamientos a la semilla para evitar daños a esta y posteriormente a la plántula.

Bidari (1975) probó 6 fungicidas in vitro en contra de *H. sativum*; - de éstos, 4 fueron prometedores, pero el Brestan inhibió mas el crecimiento, diferenciándose significativamente del Duter, Captan y Ziride. La -- concentración de éstos fué de 0.4%. Terekhova (1976) indica que trata- - mientos a la semilla con Vitavax 75% a razón de 2.5 kg/ton. y Quinolato 3 kg/ton. dan adecuada protección en contra de *H. sativum* en cebada.

Sing y Mehrotra (1979) señalan que al probar 20 fungicidas in vitro a concentración de 200 ppm contra *H. sativum*, la mayoría de éstos inhibieron el desarrollo micelial en un 70%. Minussi et al. (1980) reportan, que al evaluar los fungicidas captan, quintozeno y el producto experimental WL - 47675 contra *H. sativum* a dosis de 1, 10 y 100 p.p.m. se detectaron diferencias en la inhibición del desarrollo entre los diferentes fungicidas, dosis e interacciones fungicidas-dosis. A 1 p.p.m. el quintozeno redujo bastante el desarrollo micelial, aunque no fué estadísticamente diferente al captan. A 10 y 100 p.p.m. el WL 47675 mostró mayor poder inhibitorio seguido del quintozeno y captan.

Los efectos de 14 fungicidas fueron evaluados in vitro contra *H. sa-*
tivum por Sing y Virk (1980) después de observar la germinación de los - conidios y desarrollo micelial, todos fueron efectivos, pero sólo el thi-
ram y carboxin no resultaron fitotóxicos, es decir, son los que ellos con-
sideran como efectivos para este hongo.

Luz y Vieira (1982) reportan que los fungicidas más efectivos en tra-
tamientos a la semilla para suprimir el desarrollo de *C. sativus* son el -
nuarimol y fenapanil, en cambio, semillas tratadas con triadimefon y tri-
forine no fueron diferentes en comparación a las no tratadas, en cuanto a

la reducción de la infección. Tanto el fenapanil como el nuarimol persis tieron y protegieron a la planta 30 días después de la siembra, por esta razón los autores concluyen que con estos fungicidas es posible proteger al cultivo en etapas tempranas de desarrollo y en caso de que se presen-- ten infecciones en etapas posteriores, hacer otra aplicación con esos mis mos productos.

Gordon et al. (1985) probaron diversos fungicidas y dosis en trata-- mientos a la semilla para el control de *Drechslera graminea* [=H. *grami-- neum*] y en base a los resultados obtenidos, dicen que los mejores fungici das son imazalil, el producto experimental C.G.A. 64251 y el ideprodione.

MATERIALES Y METODOS

1. Colecta de Material Enfermo.

Para la realización del presente trabajo se colectaron 43 muestras de material enfermo con la sintomatología típica de la enfermedad en diferentes localidades de la Meseta Central (Cuadro 1) y se trasladaron en bolsas de plástico al laboratorio de Micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

2. Estudios de Laboratorio.

2.1. Aislamiento e identificación del patógeno.

El patógeno fué aislado mediante las técnicas comunes en el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (P.D.A.). Una vez purificados los aislamientos de las diferentes muestras, se hicieron observaciones sobre el crecimiento del hongo en P.D.A., también se examinaron sus características en preparaciones temporales y permanentes para con ello llegar a su identificación, apoyándonos para esto en la descripción de Drechsler (1923), Dickson (1956) y Leyva (1982).

2.2. Cultivos monospóricos.

Después de identificar el hongo, se procedió a establecer los cultivos monospóricos de cada uno de los aislamientos citados; para tal caso tomamos conidios de cada muestra con un asa bacteriológica, éstos los colocamos en un tubo de ensaye con agua estéril, homogenizamos y pusimos una gota de dicha suspensión en una caja de petri con agua agar a la cual dimos movimientos giratorios para dispersar los conidios. A las 48 horas germinaron los conidios y los transferimos al medio de P.D.A. Del creci-

Cuadro 1. Origen de los 43 aislamientos de H. sativum.

No.de Aislamiento	Localidad	Estado	Cultivo atacado
1	San Mateo Atenco	México	Cebada
2	San Mateo Atenco	México	Cebada
3	San Mateo Atenco	México	Cebada
4	San Mateo Atenco	México	Cebada
5	San Mateo Atenco	México	Cebada
6	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
7	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
8	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
9	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
10	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
11	Carretera Apizaco-Tlaxco	Tlaxcala	Cebada
12	Tlacateopan*	México	Cebada
13	Tlacateopan*	México	Cebada
14	Tlacateopan*	México	Cebada
15	Tlacateopan*	México	Cebada
16	Tlacateopan*	México	Cebada
17	Tlacateopan*	México	Cebada
18	Tlacateopan*	México	Cebada
19	Tlacateopan*	México	Cebada
20	Tlacateopan*	México	Cebada
21	Tlacateopan*	México	Cebada

* El alto número de muestras en este lugar se debió al gran número de variedades de cebada establecidas ahí por el I.N.I.F.A.P.

Cuadro 1. (Continuación)...

No.de Aislamiento	Localidad	Estado	Cultivo atacado
22	Santa Mónica	México	Cebada
23	Edif.Economía,Chapingo	México	Cebada
24	Sn. Martín, Chapingo	México	Cebada
25	Xaltepa, Chapingo	México	Cebada
26	Sn.Juan sur, Chapingo	México	Cebada
27	San Juan Nte. Chapingo	México	Cebada
28	I.N.I.F.A.P. El Horno, Chapingo.	México	Cebada
29	Colegio de Postgraduados Montecillos.	México	Trigo
30	Zumpango	México	Cebada
31	Tizayuca	Hidalgo	Cebada
32	Sierra Hermosa	Hidalgo	Cebada
33	Ayotla	México	Cebada
34	Acozac	México	Cebada
35	Intermedio Ayotla-Acozac	México	Cebada
36	La Venta	Puebla	Cebada
37	San Martín Texmelucan	Puebla	Cebada
38	Carretera Calpulalpan- Tlaxco.	Tlaxcala	Cebada
39	Carretera Calpulalpan- Tlaxco.	Tlaxcala	Cebada
40	Carretera Calpulalpan- Tlaxco	Tlaxcala	Cebada

Cuadro 1. (Continuación)...

No.de Aislamiento	Localidad	Estado	Cultivo atacado
41	San Francisco Tepoxozuca	México	Cebada
42	Hacienda Zoapila	Tlaxcala	Cebada
43	Hacienda Zoapila	Tlaxcala	Cebada

miento monoconidial de cada cultivo una parte se transfirió a tubos de ensayo con P.D.A. en donde se les agregó aceite mineral con el fin de preservarlos por más tiempo y utilizarlos en estudios posteriores. Con la otra parte se iniciaron los estudios de búsqueda de los dos grupos compatibles para la obtención del estado perfecto y estudiar la variabilidad del hongo, que se originase por hibridación.

2.3. Búsqueda de los dos grupos compatibles.

El objetivo de obtener la fase perfecta fué para estudiar la patogenicidad de cultivos monoascospóricos de una misma asca y de un mismo pseudotecio y ver si existe variación al respecto.

Según Tinline (1951) una forma de obtener el estado perfecto de *H. sativum* es apareando dos grupos compatibles en un medio de cultivo de Sach-agar con granos de cebada salcochados. El procedimiento utilizado para tal caso fué el siguiente:

1. Se remojó semilla de cebada en agua estéril durante 4 horas.
2. Una vez seca dicha semilla se trató con cloruro de mercurio 1:1000 por 5 minutos.
3. Se lavó la semilla con agua estéril 3 veces para quitarle los residuos de $Hg Cl_2$.
4. Se salcochó la semilla en agua hirviendo por 2 minutos, con el propósito de matar el embrión.
5. Esos granos se sumergieron en una suspensión de conidios compuestos por varios aislamientos y con 4 repeticiones. Cuadro 2.
6. Se colocaron las semillas en un matraz con medio Sach-Agar - - (Cuadro 1 del Apéndice) con un pH de 5.0 incubamos a 24°C y esperamos 7

semanas.

Cuadro 2. Aislamientos de *H. sativum* cuyos conidios se suspendieron en agua y se colocaron en semillas salcochadas para la búsqueda de los dos grupos compatibles en la primera etapa.

Suspensión de Conidios	Aislamientos incluidos
A	8*, 2, 13, 16 y 6
B	14, 10, 4, 21 y 1
C	19, 7, 17, 3 y 20
D	5, 9, 11, 12 y 18
E	8, 2, 13, 16, 6
	A
	+
	14, 10, 4, 21 y 1
	B
F	19, 7, 17, 3, 20
	C
	+
	5, 9, 11, 12, 18

* Estos números corresponden al número de aislamiento en el Cuadro 1.

Esta primera prueba para la búsqueda de los grupos compatibles, sólo incluyó aislamientos de las primeras muestras colectadas; además, el incluir varios en cada suspensión se debió a que era muy infuncional realizar apareamientos de 2 en 2, ya que las combinaciones entre ellos, hubieran sido muy numerosas. Tanto en esta primera etapa como en la segunda la elección de los aislamientos para cada suspensión fué completamente al azar.

Cuando se obtuvieron los 43 aislamientos, se realizó otra prueba para la búsqueda de los grupos compatibles. El procedimiento para este caso fué casi igual al anterior, sólo que en lugar de inocular la semilla mediante inmersión, ésta se colocó en los matraces con medio de Sach-agar

un poco antes de llenar las cajas de petri (Romero, 1985); entonces se colocaron gotas de las diferentes suspensiones (Cuadro 3), en las cajas con medio Sach-Agar y semillas. También el pH del medio fué de 5.0, la temperatura de incubación de 24°C. Se hicieron 4 repeticiones y se esperó 7 - semanas.

Cuadro 3. Aislamientos de *H. sativum* que conformaron cada una de las suspensiones de conidios en la búsqueda de los dos grupos compatibles en la segunda etapa.

Suspensión de Conidios	Aislamientos incluidos
A	1, 42, 30, 23 y 38*
B	28, 19, 41, 36 y 5
C	33, 43, 32, 14 y 39
D	37, 34, 25, 21 y 9
E	6, 26, 29, 17 y 3
F	16, 40, 27, 35 y 18
G	7, 41, 43, 13 y 29
H	2, 36, 23, 4 y 20
I	1, 29, 10, 12 y 31

* Estos números corresponden al número de aislamientos en el Cuadro 1.

3. Estudios de variabilidad de *H. sativum*.

3.1. Variabilidad in vitro.

Con el propósito de investigar la variabilidad en las características culturales de *H. sativum* en P.D.A., se tomaron los 22 aislamientos monospóricos que corresponden a los primeros 22 del Cuadro 1; a éstos se

les registraron las características de diámetro de la colonia, color de la colonia, bandeado o zonado, a los 12 días después de hacer la siembra en P.D.A.

3.2. Variabilidad en patogenicidad.

De los 43 aislamientos, se tomaron veinte los cuales se usaron para medir su variación en patogenicidad (Cuadro 4). Los criterios usados para escoger estos cultivos fueron: 1) Que procedieran de áreas con diferentes características climáticas que pudieran afectar la relación patógeno hospedante y 2) Que fueran de una misma área, para observar si en ese mismo microclima existe variación. Para esta prueba se escogieron 10 variedades de cebada como diferenciales, las cuales ya habían sido evaluadas por Leyva (1982), (Cuadro 6).

Los materiales a los que ya se hizo mención fueron proporcionados gentilmente por el Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) de el Batán, México. Estos cultivares fueron sembrados en el invernadero en macetas de plástico con un diámetro de 14 cm y 15 cm de profundidad. De cada variedad se sembraron 20 macetas con el fin de tener una maceta con 8 plantas para cada aislamiento monospórico, de esa manera se tuvieron en el invernadero 200 macetas con 8 plantas cada una.

3.2.1. Incremento y Preparación del Inóculo.

Los cultivos seleccionados (Cuadro 4), se sembraron y purificaron en cajas de petri con el medio de P.D.A., usando 4 cajas para cada uno de los 20 aislamientos. Una vez que el hongo esporuló y lleno las cajas, se tomaron las estructuras de éste raspando con un portaobjetos sobre el medio y se colocaron en agua estéril para luego licuar. La suspensión

Cuadro 4. Aislamientos del H. sativum escogidos para medir la variación pato-
génica en 10 variedades de cebada.

No. de Aislamiento asignado en el -- Cuadro 1	No. Progresivo de los 20 aislamien- tos seleccionados	Origen del Aislamiento
2	1	San Mateo Atenco, México
4	2	San Mateo Atenco, México
8	3	Carretera Apizaco-Tlaxco, Tlax.
42	4	Hacienda Zoapila, Tlaxcala.
12	5	Tlacateopan, Méx.
14	6	Tlacateopan, Méx.
17	7	Tlacateopan, Méx.
29	8	Colegio de Postgraduados, Montecillos, Méx.
22	9	Sta. Mónica, Méx.
39	10	Carretera Calpulalpan-Tlaxco, Tlaxcala.
41	11	Sn.Fco. Tepoxozuca, Méx.
23	12	Edif. Economía, Chapingo, Méx.
27	13	Sn. Juan Nte. Chapingo, Méx.
28	14	I.N.I.F.A.P. El Horno, Chapin- go, Méx.
32	15	Sierra Hermosa, Hgo.
31	16	Tizayuca, Hgo.
24	17	Sn. Martín, Chapingo. Méx.
37	18	Sn. Martín Texmelucan, Pue.
34	19	Acozac, Méx.
33	20	Hyotla, Méx.

de conidios se ajustó a 26,000 conidios por c.c.

3.2.2. Inoculación.

Cuando se obtuvieron las suspensiones de conidios ajustadas a la concentración indicada, se inocularon las plantas de cebada al mes de que estas habían emergido, usando un atomizador manual en donde previamente se les adicionaban 2 gotas de Tween 20 para lograr mayor adherencia de los conidios a la planta. En estas inoculaciones se buscó que cada maceta tuviera un mojado total. Ya inoculadas las plantas, permanecieron en cámara húmeda por 24 horas y después de transcurrido ese tiempo, se colocaron en los bancales del invernadero.

3.2.3. Evaluación.

A los diez días después de la inoculación se realizó la lectura de los síntomas, usando la escala de calificación propuesta por James (1971) con algunas modificaciones (Fig. 1 y Cuadro 5). De estos resultados se hizo el examen comparativo entre aislamientos dentro de una misma variedad y el comportamiento de las variedades de cada uno de los cultivos.

3.3. Variación in vitro y patogénica de subcultivos monoconidiales.

De las inoculaciones realizadas, se tomaron muestras de los daños de los cultivos 2 y 13 que corresponden al número de aislamiento 4 y 27, respectivamente. De cada uno de éstos se hicieron 5 subcultivos monoconidiales y se les midieron sus características culturales en P.D.A., así como su patogenicidad. La metodología empleada en este caso fué igual a la empleada en la primera inoculación y evaluación, sólo que aquí únicamente se utilizó la variedad Porvenir por tener una respuesta adecuada a esos

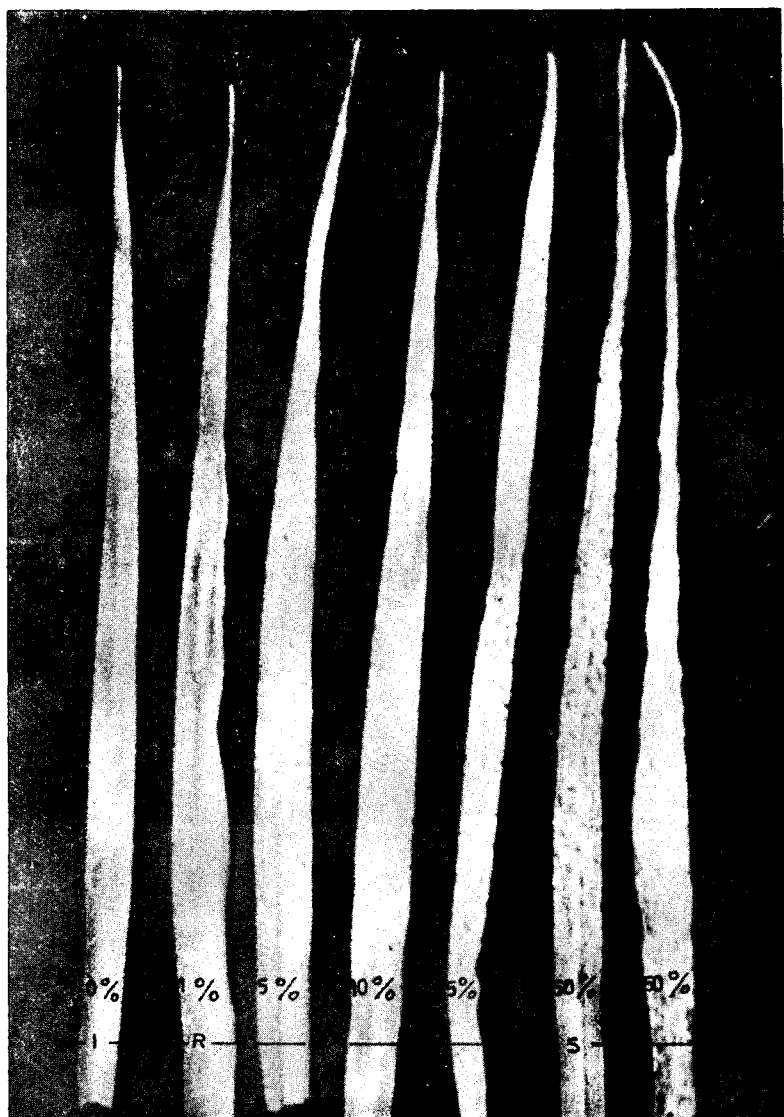


Fig. 1. Escala de evaluación para el estudio de variación patogénica en *Helminthosporium sativum*. Los números en la figura indican el porcentaje de daño. I=Inmune, R=Resistente, T=Tolerante y S=Susceptible. Para mejor comprensión ver el Cuadro 5.

Cuadro 5. Escala de evaluación (modificada) para *Helminthosporium* en cereales*.

Indice	Porcentaje	Calificación	Observaciones
0	0%	Inmune	Sin manchas y sin áreas cloróticas.
1	1%	Resistente	Una o dos manchas por hojas.
2	5%	Tolerante	5% de la hoja con mancha o necrosis.
3	10%	Tolerante	10% de la hoja con manchas o necrosis.
4	25%	Susceptible	25% de la hoja dañada.
5	50%	Muy susceptible	50% de la hoja dañada.
6	50%	Altamente susceptible	50% de la hoja dañada.

* Tomado de James, C.V. 1971. An illustrated series of assesment Keys - for plant Diseases, their preparation and usage. Can. Plant Dis. Surv. Vol. 51, No. 2.

Cuadro 6. Variedades de cebada utilizadas como diferenciales para observar si existe variación de *H. sativum* bajo condiciones de invernadero.

No.	Variedades	Uso	Origen
1	Cerro Prieto	Malta y Forraje	Mexicana
2	Centinela	Malta	Mexicana
3	Porvenir	Malta	Mexicana
4	Promesa	Malta	Mexicana
5	Puebla	Malta	Mexicana
6	Zoapila	Malta	Mexicana
7	Arivat	Malta	Extranjera
8	Clipper	Malta	Extranjera
9	Manker	Malta	Extranjera
10	Mona	Malta	Extranjera

dos aislamientos. El propósito de estas observaciones es el de ver si alguno de ellos cambió en la F_2 .

3.4. Variación in vitro y patogénica de los subcultivos Monocoidiales.

De las lesiones causadas por los subcultivos (F_2), se tomaron muestras para hacer otros 5 subcultivos monospóricos de cada uno y observar si existe variabilidad tanto en caracteres culturales como en patogenicidad - en la F_3 sobre la variedad Porvenir (Cuadro 3 del Apéndice). También en esta prueba se utilizaron las técnicas ya mencionadas.

3.5. Variabilidad por Mutación.

El aislamiento número 8 considerado en la primera inoculación con patogenicidad media, fué sometido a radiaciones de luz ultravioleta a una intensidad de 375 nm, con 5 tratamientos los cuales se indican en el Cuadro 7. Este ensayo tuvo como finalidad observar si los rayos ultravioleta y el tiempo de exposición causan alguna mutación en el hongo y con ello variación en el mismo.

Cuadro 7. Tratamientos con luz ultravioleta a los que se sometió el aislamiento número 8.

Tratamiento	1	Sin influencia de luz ultravioleta.
"	2	Con influencia de luz ultravioleta 1 minuto.
"	3	Con influencia de luz ultravioleta 3 minutos.
"	4	Con influencia de luz ultravioleta 5 minutos.

4. Viabilidad de los conidios de *Helminthosporium sativum*.

También con el propósito de ver la variación y además el de analizar la viabilidad de los conidios de *H. sativum*, se conservó una suspensión de conidios en agua destilada a la intemperie durante 9 meses; al terminar este tiempo, se asperjó dicha suspensión sobre la variedad Porvenir, siguiendo las técnicas de inoculación y evaluación ya citadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. De las muestras colectadas.

De las 43 localidades que se muestrearon, se determinó que en todas había presencia de *H. sativum* atacando plántulas, hojas, tallos y espiga, tal y como lo especifican Dosdall (1923), Leyva (1982) y Zillinsky (1984). De esos lotes muestreados, los pertenecientes a la Hacienda Zoapila fueron los más fuertemente atacados por la enfermedad.

2. Estudios de laboratorio.

2.1. Del aislamiento e identificación del patógeno.

El medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar con periodos normales - de luz y obscuridad y al ambiente de laboratorio, resultó muy eficiente - para el crecimiento y esporulación de *H. sativum*, como lo indica Leyva -- (1982). En base a las descripciones de: Drechsler (1923), Dickson (1956) y Leyva (1982) se resolvió que el hongo en estudio se trataba de *Helminthosporium sativum* P.K.B.

2.2. Cultivos monospóricos.

La técnica utilizada y proporcionada por Romero (1985), fué adecuada para obtener cultivos a partir de un solo conidio, ya que aparte de fácil, separa muy bien las esporas. El medio de cultivo Agua-Agar pobre en nutrientes, da un crecimiento lento de los tubos germinativos, de los conidios lo cual evita la unión con otros. Este cultivo tiene pocos carbohidratos, por lo tanto evita la contaminación con otros microorganismos al momento de las siembras.

2.3. Búsqueda de los dos grupos compatibles.

Para tal caso seguimos el procedimiento indicado por Tinline (1951).

Después de cuatro semanas inspeccionamos periódicamente la siembra en el medio de cultivo por otras tres semanas más. No se formaron los pseudotecios ni ascas al aparear los primeros veinte aislamientos. El autor mencionado obtuvo pseudotecios y ascas entre 4 y 5 semanas.

En la segunda prueba en donde ya se aparearon los 43 aislamientos, después de 7 semanas tampoco se formó el estado perfecto. Esto indica que tal vez en las diferentes combinaciones realizadas entre las distintas cepas no pudieron haber coincidido los dos grupos de compatibilidad, o bien, que hayan existido alteraciones en los reactivos y/o fallas en el procedimiento. También es posible que aquí en México no tengamos los dos grupos de compatibilidad y por ello, fué imposible obtener la fase ascógena. Esta última justificación es más probable, porque en otros países sucede lo mismo con otros hongos, por ejemplo con *Phytophthora infestans*, agente causal del tizón tardío de la papa y el tomate (Smoot et al. 1958).

Ya se había planteado anteriormente que de las ascas obtenidas en la fase perfecta se harían cultivos monoascospóricos para observar el efecto de la recombinación sexual sobre la variabilidad del hongo, pero como no se obtuvo el estado sexual del patógeno, no fue posible realizar esos estudios.

3. Variabilidad de *H. sativum* generada por mecanismos asexuales.

3.1. Variación in vitro (P.D.A.) de las características culturales.

Tomando en cuenta las características culturales, una misma raza fisiológica puede tener fenotipos diferentes e incluso, distintas razas parecen iguales fenotípicamente lo cual depende del medio de cultivo y el ambiente (Stakman y Christensen, 1953). Indican también estos autores que

las diferencias fenotípicas persisten por pocas generaciones, por eso cuando se clasifican grupos de aislamientos basándose en estas características deberán hacerse después de que hayan crecido por mas de 2 generaciones bajo condiciones idénticas. Así a los resultados de los primeros 22 aislamientos que desarrollaron en P.D.A. no se les dió mucha importancia, no obstante, en el Cuadro 2 del Apéndice se pueden observar grandes diferencias en las características culturales registradas, así como en las Figs. 1 y 2 del Apéndice.

La gran variación que se presentó en los diferentes aislamientos, confirma que el hongo es muy variable tal y como lo especifica Christensen en 1926 al detectar 37 razas fisiológicas que tuvieron características distintas al desarrollarse en P.D.A.

3.2. Variación en patogenicidad.

3.2.1. De la inoculación.

El método de inoculación con el atomizador manual y pulverización al follaje fue efectivo, ya que a los diez días después, cuando se registró la capacidad patogénica de los diferentes cultivos en la colección de las 10 variedades de cebada, hubo plantas que tuvieron mas del 90% de infección, produciendo todas las cepas probadas los síntomas típicos de la enfermedad. Con esto se comprueba lo escrito por Leyva en 1982.

3.2.2. Evaluación y análisis de resultados.

Observando los resultados de las evaluaciones, encontramos que el grado de ataque fue variable, es decir, hubo variedades que se comportaron como resistentes (R), tolerantes (T) ó susceptibles (S), dependiendo desde luego de la agresividad del patógeno y de la vulnerabilidad

de la planta.

En el Cuadro 8 puede observarse la respuesta de una sola variedad al ataque de los 10 grupos de patogenicidad distinta resultantes; así mismo, el grado de ataque diferencial de una sola cepa respecto a las 10 variedades.

Analizando el Cuadro referido y en base a los 20 aislamientos estudiados en las 10 variedades utilizadas, observamos que sí existe variación patogénica de la población de *H. sativum* ya que se obtuvieron 10 grupos con patogenicidad diferente, lo cual no indica que sean igualmente 10 razas fisiológicas. Estos resultados confirman lo indicado por Christensen (1926), en cuanto a que el hongo es muy variable, lo cual se debe probablemente a que es capaz de agredir a la planta en cualquier etapa de su desarrollo, dañando semillas, plántulas, tallos, hojas y espiga, además - del amplio rango de hospedantes, alto grado de supervivencia en residuos - de cosecha y como saprófitos.

Los diez grupos de patogenicidad encontrados en los 20 aislamientos estudiados fueron desde no patogénicos hasta altamente patogénicos. A continuación se analiza cada uno de dichos grupos.

Grupo 1. Corresponde a la muestra 3 de San Mateo Atenco, México. Es considerado como grupo único y uno de los menos patogénicos, tal y como se muestra en el Cuadro 8. En la Fig. 2 se puede ver la reacción de la variedad Porvenir a este aislamiento, en donde se comportó como tolerante y en cambio fué muy susceptible al aislamiento 20 que se colectó en - - Ayotla, México.

Cuadro 8. Grupos de patogenicidad diferente, resultado de las 20 cepas inoculadas a 10 variedades de cebada.

Grupos de Patogenicidad diferentes.	Variedades	Cerro Prieto	Centinela	Porvenir	Promesa	Puebla	Zoapila	Arivat	Cipper	Manker	Mona
1		T	T	T	S	T	T	T	T	T	S
2			S	S	S	S	S	S	S	T	S
3		T	T	T	S	S	S	S	S	T	S
4		S	S	S	T	S	S	S	S	S	S
6		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7		T	T	T	T	T	S	S	T	T	S
9		T	S	S	T	T	S	S	S	T	S
11		T	S	S	S	S	S	S	S	S	S
14		T	S	S	S	S	T	S	S	S	S
17		R	T	R	T	T	R	T	T	R	T

Simbología: I = Inmune
 R = Resistente
 T = Tolerante
 S = Susceptible



Fig. 2. Reacción de la variedad Porvenir al aislamiento 1 (Izquierda) y al aislamiento 20 (Derecha).



Fig. 3. Respuesta de la variedad Mona al aislamiento 8 (Izquierda) y al aislamiento 17 (Derecha).

Grupo 2. Se refiere a la muestra 4 de las que se colectaron en San Mateo Atenco, incluye además, a la muestra 1 de Tlacateopan, C.P.- Montecillos y San Martín Texmelucan. Este grupo es de los más agresivos. En la Fig. 3 se observa el aislamiento 8 que es de este grupo, al que la variedad Mona se comportó como susceptible, en cambio, al aislamiento 17 fué tolerante.

Grupo 3. Constituido únicamente por el aislamiento de la carretera Apizaco - Tlaxco. Se considera de patogenicidad media. El Grupo 4 esta compuesto por los cultivos de la Hacienda Zoapila y Ayotla, es de alta patogenicidad.

El grupo 6 está constituido por los aislamientos: Tlacateopan muestra 3, carretera Calpulalpan-Tlaxco, Edificio de Economía, San Juan Norte, Sierra Hermosa y Acozac. Es el que agrupa más aislamientos y el más patogénico. El grupo 7, solo se representa por la muestra 6 de Tlacateopan y es poco patogénico.

El grupo 9 compuesto sólo por el cultivo de Santa Mónica, es de patogenicidad media lo mismo que el grupo 11 que lo componen San Francisco Tepexozaca y Tizayuca.

Grupo 14 formado sólo por la colecta de INIFAP, El Horno, Chapingo. Se catalogó como patogénico.

El aislamiento de San Martín Chapingo constituye el grupo 17 el cual no es patogénico.

Examinando cada uno de los 10 grupos de patogenicidad distin

to se puede discutir lo siguiente:

El grupo más patogénico y que a su vez es el mayor dentro de estos 20 es el representado por Tlacateopan, Méx. muestra 3 al cual fueron altamente susceptibles todas las variedades. Le siguió en patogenicidad el grupo de San Mateo Atenco, Méx. muestra 4. Por otro lado el grupo menos patogénico, lo representa San Martín Chapingo, al cual las variedades Cerro Prieto, Porvenir, Zoapila y Manker se comportaron como resistentes; las otras variedades fueron tolerantes. Otro también poco patogénico fué el de San Mateo Atenco, Méx. muestra 2, al cual fueron susceptibles solo 2 variedades.

Es necesario indicar que en el caso del grupo que representa únicamente Tlacateopan, Méx. muestra 6, al que sólo se comportaron como susceptibles 3 variedades, se inoculó puro micelio ya que no formó conidios, pero cuando se pusieron en cámara húmeda trozos de cebada ya inoculados y con síntomas, sí hubo producción de conidios.

Fué posible notar que cepas procedentes de una misma región, como los de San Mateo Atenco, Méx., Tlacateopan, Méx., y Chapingo, Méx., se comportaron patogénicamente diferente. Los tres aislamientos de Tlacateopan exhibieron distinta patogenicidad, por ejemplo la muestra 3 fué altamente patogénica y la muestra 6 sólo atacó a 3 variedades. Este aspecto se nota más en los aislamientos de Chapingo, ya que mientras que las colectas del edificio de Economía y San Juan Nte. fueron muy virulentas, la correspondiente a San Martín no fué virulenta. Como se explica esto, los tres lugares mencionados son Centros Experimentales del CIMMYT y/o INIFAP, lo cual permite introducir gran número de variedades de cebada y

trigo a los cuales ataca este patógeno; además ahí también se trabaja con mucha aplicación de herbicidas. Esta situación promueve grandes poblaciones de *H. sativum*, por lo tanto al coincidir 2 razas que atacan a diferente variedad, por anastomosis (Pontecorvo, 1956 y Buxton 1960) y después - por intercambio de material genético forman nuevas razas. Stakman y Christensen (1953) señalan que los productos químicos provocan mutación. Los herbicidas aplicados en esas áreas pueden originar mutantes, los que si son patogénicos se convierten en nuevas razas fisiológicas.

También sucedió el caso contrario, porque las cepas de Tizayuca, Hgo. y San Fco. Tepexozuca fueron iguales y su ambiente no es el mismo, aparte de la distancia que existe entre éstos.

Con el presente trabajo queda claro que si existe variación de *H. sativum* en México, pero como es que se ha dado esa variación. Christensen en 1926, argumenta que la mutación y la adaptación son probablemente los mecanismos principales por los que este hongo varía. Es posible -- que en este caso como ya explicamos anteriormente, sí exista mutación, -- máxime cuando Christensen (1929) indica de *H. sativum* tiene un óptimo de temperatura para mutar entre 25 y 27°C.

Otra forma de explicar este fenómeno, es que debido a las altas poblaciones del patógeno exista recombinación somática y cariótica, ya que este mecanismo según Buxton (1956) es el responsable de la generación de nuevas razas fisiológicas de *Fusarium oxysporum fsp pisi*. También Watson y Luig citados por Day (1959), dicen que este mismo proceso es el responsable de la variación en royas.

La recombinación somática o la anastomosis en *H. sativum* son fáciles de suscitarse, para dar un heterocarionte, pero para que este permanezca como tal es muy difícil y sólo se puede explicar mediante la recombinación parasexual, esclarecida por Pontecorvo en 1956, quien dice que después de la heterocariosis, viene la multiplicación de núcleos diploides junto con haploides, de tal manera que aunque en un número muy bajo se puede formar un núcleo diploide heterocigótico, en este, por accidente hay -- un entrecruzamiento (crossing-over) de material genético, lo cual da origen a nuevas combinaciones y con ello nuevas razas fisiológicas.

Graham, citado por Buxton (1960), señala que el conidio de *H. sativum* es heterocariótico y por ello tiene gran capacidad de formar nuevas razas fisiológicas. Hrushovetz's (1960) comparte esta idea, pero dice que sólo una célula es la que germina. Este reporte no está bien fundamentado, ya que por todos es conocido que los conidios de *H. sativum* germina por las células de los extremos.

Roane, citado por Buxton (1960), opina que el conidio de *H. carbonum* no posee núcleos con distintos genotipos, porque este es originado de un solo núcleo del conidióforo, por eso aunque germine por las dos células sus hifas son genéticamente iguales. Este también puede ser el caso de *H. sativum*.

3.2.3. Reacción de algunas variedades que se comportaron como resistentes.

Leyva (1982) observó que las variedades Manker, Arivat y Mona fueron ligeramente susceptibles a *H. sativum*. En el presente estudio se confirma lo expuesto por el citado autor en cuanto a la variedad Manker ya

que fue tolerante a la mayoría de los grupos de patogenicidad encontrados (Fig. 4). Pero las variedades Mona y Arivat solo fueron tolerantes a los grupos patogénicos 17 y 1 y 17, respectivamente, mismos que se consideraron como grupos de patogenicidad únicos y los menos virulentos.



Fig. 4. Respuesta de la variedad Mona (Izquierda) y de la variedad Manker (Derecha) a 20 aislamientos de *H. sativum*.

Es necesario hacer notar que la variedad Manker en el estudio de Leyva (1982) presentó cierto grado de resistencia a *H. sativum*, *H. gramineum* y *H. teres*, comportamiento que sugiere que esta variedad posee resistencia múltiple, por lo que es conveniente seguir estudiando su comportamiento tanto a éste como a otros patógenos.

El mismo autor reporta a la variedad Cerro Prieto como susceptible, sin embargo, en el presente estudio se comportó como tolerante a un número mayor de grupos patogénicos que la misma variedad Manker (Cuadro 8). Esto sugiere seguir estudiando a esta variedad, mas aún cuando sabemos que también es utilizada para forraje.

Los grupos que ocuparon el segundo lugar en patogenicidad fueron el 2 y el 11. La variedad Manker fue tolerante al grupo 2 y susceptible al grupo 11, pero la variedad Cerro Prieto fué susceptible al grupo 2 y tolerante al grupo 11 (Cuadro 8). Estas dos variedades fueron susceptibles al grupo de patogenicidad más virulento.

3.3. Variación in vitro y patogénica de los subcultivos monoclinales 2 y 13.

La variación en características culturales de los aislamientos desarrollados en P.D.A. fue nula en el caso de la cepa 2 (Cuadro 9), pero en la cepa 13 el subcultivo 13.3. produjo una colonia de color grisáceo (Cuadro 9). Cuando se midieron las características de patogenicidad en la variedad Porvenir, todos fueron virulentos a excepción de el 13.3. al cual dicho cultivar se comportó como tolerante (Cuadro 9). Esto indica que en la F_2 hubo variación en patogenicidad. En este caso estuvieron correlacionados el color más claro con el de la colonia bajo grado de patogenicidad. Aquí sucedió lo contrario a lo especificado por Pond (1952), porque él encontró que un aislamiento de micelio claro y conidios de fuego -- fué mucho más agresivo que las razas comunes de micelio negro.

Como es que se presentó esta variación a partir de un solo conidio. Existen muchas maneras; una es la que indica Graham al mencionar

que la espora multinucleada sea heterocariótica y las células que germinan den origen a hifas genéticamente distintas, y por lo tanto de patogenicidad diferente. Otra forma sería de que el conidio haya resultado de un conidióforo dependiente de una hifa heterocariótica, la que a su vez, se generó por anastomosis, tal y como lo indican Pontecorvo (1956) para *Aspergillus niger* y Buxton (1960) para *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*; se deduce que hubo únicamente heterocariosis porque al parecer en esta generación aún no sucedía el intercambio genético, lo cual se explica en los resultados de la siguiente generación.

Una última forma de entender la variabilidad mencionada es que aunque el conidio se haya formado a partir de un solo núcleo del conidióforo, tal y como lo indica Roane (citado por Buxton 1960) para *H. carbo--num*, los dos tubos germinativos genéticamente iguales, durante su desarrollo pueden mutar (Christensen, 1929), más aún cuando se sabe que este fenómeno se presenta en *H. sativum* entre 25 y 27°C con mucha frecuencia; de esa manera, al ocurrir la anastomosis, (Fig. 3 del Apéndice) luego la heterocariosis y enseguida el cruzamiento genético, o una inversión cromosómica, puede originarse una nueva raza fisiológica; así como se presenta en *A. niger* y *F. oxysporum* f. sp. *pisi* según Pontecorvo (1956) y Buxton (1956).

3.4. Variación in vitro y patogénica de los subsubcultivos monoclonidiales 2 y 13.

De los 10 subcultivos mencionados se hicieron otros 5 subcultivos de cada uno, obteniéndose 50 subsubcultivos. El Cuadro 3 del Apéndice nos muestra la gran variación en características culturales en P.D.A. de los 50 subsubcultivos; también en ese mismo Cuadro se resumen la reacción pato

génica de cada uno en la variedad Porvenir. Los subsubcultivos 2.3.4., - 2.4.3. y 13.3.5. fueron muy poco virulentos ante dicho cultivar, todos los demás fueron de patogénicos a muy patogénicos. También se pudo notar que la cepa 13 presentó variación en la F_2 , en cambio la cepa 2 varió hasta la F_3 . La variación en la F_2 de el aislamiento 13 se mantuvo, al menos en un subsubcultivo, en la F_3 (Cuadro 4 del Apéndice).

Ante estos resultados se puede decir lo siguiente: En el inciso anterior se indica que en la F_2 y para el caso de el subcultivo 13.3., posiblemente haya existido heterocariosis, ya que si se hubiera presentado el intercambio genético señalado por (Pontecorvo, 1956) o la inversión cromosómica que reporta (Buxton, 1956), los 5 subcultivos del 13.3, es decir; 13.3.1., 13.3.2., 13.3.3., 13.3.4. y 13.3.5., hubiesen conservado la misma coloración y ese bajo poder patogénico que se manifestó en F_2 ; pero como únicamente el subsubcultivo 13.3.3. mostró dichas características, en este, si se presentó la recombinación parasexual y en los restantes sólo hubo -- una asociación temporal.

El aislamiento 2 en la F_3 produjo 2 subsubcultivos de coloración más clara y patogenicidad también reducida, en cambio el aislamiento 13 se manifestó de esta misma manera en la F_2 . Aquí se confirma lo reportado por Stakman y Christensen (1953) quienes dicen que cada raza tiene diferente grado de mutar y formar heterocariontes.

Buxton (1956) indica que los heterocariontes, no aumentan su patogenicidad pero tampoco permanecen constantes. En caso de que este haya sido el mecanismo de variación de *H. sativum*, se confirma tal aseveración. Por otro lado, Stakman y Christensen (1953) opinan que *H. sativum* produce

muchos mutantes pero poco patogénicos. Esto último sucedió en el presente trabajo con lo cual se apoya lo citado por los autores mencionados.

Analizando nuevamente el Cuadro 4 del apéndice observamos que el diámetro de la colonia y el número de zonas no está relacionado con la patogenicidad del subsubcultivo, pero todas las colonias que resultaron menos virulentas tuvieron un color más claro (gris o blanco).

Del examen de estos últimos datos se deriva que *H. sativum* desarrollado en P.D.A. y plantas de cebada presenta variación de generación a generación. Esta variación en este caso fué con pérdida de virulencia, no obstante estas pruebas preliminares no son demasiado contundentes para decir que siempre sea así.

Cuadro 9. Características culturales en P.D.A. y patogenicidad de los subcultivos 2 y 13 en la variedad Porvenir.

Subcultivos	Diámetro de la colonia en.cm.	Color de la colonia	Zonado ó bandeado	Reacción de la Variedad Porvenir.
2.1	8.1	negro	0	S
2.2	8.0	negro	0	S
2.3	7.7	negro	0	S
2.4	8.0	negro	0	S
2.5	7.9	negro	0	S
13.1	8.3	negro	0	S
13.2	8.1	gris-pardo	0	S
13.3	8.0	gris	0	T
13.4.	8.2	negro	0	S
13.5		negro	0	S

Simbología:

S = Susceptible

T = Tolerante

3.5. Variabilidad por mutación.

Se indicó con anterioridad que la luz ultravioleta es un agente mutagénico y por ello también puede causar variación. Los resultados obtenidos en esta prueba y que se anotan en el Cuadro 10, indican que ni en características culturales en P.D.A., ni en patogenicidad hubo variación del hongo. La no reacción a la luz ultravioleta se debe probablemente a que el efecto se manifieste en generaciones posteriores. Al respecto --- Buxton (1960) señala que la mutación en hongos imperfectos se expresa rápidamente, a menos de que haya epístasis en el proceso o mecanismo, o -- bién intervención de otros factores, tal situación pudo haber ocurrido -- aquí. También el mismo autor señala que *F. oxysporum* f.sp. *pisi* sometido a luz ultravioleta no cambió su virulencia, sino que permaneció igual; por lo tanto, no es raro que también suceda en *H. sativum*.

Cuadro 10. Características culturales en P.D.A. del aislamiento 8 expuesto a la luz ultravioleta y su patogenicidad en la variedad -- Porvenir.

Tratamiento	Tiempo a la luz Uv en min.	Diámetro de la colonia (cm)	Color de la colonia	Bandeado o zonado	Patogenicidad
8.1	0	6.8	negro	0	S
8.2	1	6.2	negro	0	S
8.3	3	5.4	negro	0	S
8.4	5	6.0	negro	0	S

S = Susceptible.

4. Viabilidad de los conidios de *H. sativum*.

Las pruebas de patogenicidad realizadas con los aislamientos 2 y 13 que permanecieron en la intemperie en frascos de vidrio por 9 meses, demuestran que el hongo bajo esas condiciones no perdió patogenicidad. Estos resultados confirman lo expuesto por Christensen (1926), quien reporta que los conidios permanecen por bastante tiempo en el suelo sin -- perder su viabilidad y patogenicidad.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye que:

1. En todas las áreas muestreadas se presentaron plantas de cebada afectadas por *Helminthosporium sativum*, lo cual pudo confirmarse por sintomatología y características morfológicas del hongo.
2. El cebadal más dañado por el hongo fué el de la Hacienda Zoapila.
3. Con las técnicas disponibles hasta la fecha, no fué posible obtener la fase ascógena de *H. sativum*, probablemente porque el número de aislamientos fué reducido, o porque en México sólo se encuentra un grupo de patogenicidad.
4. En P.D.A. los aislamientos del hongo mostraron diferencias muy marcadas con respecto a ciertas características, como aspecto de la colonia, color, crecimiento, etc.
5. La reacción patológica de las 10 variedades de cebada inoculadas indica que la población de *H. sativum* en la Meseta Central está compuesta por varios grupos con patogenicidad diferente.
6. El grupo más patogénico de todos los estudios fué el de Tlacateopan, - Méx., y el menos virulento fué el de San Martín, Chapingo, Méx.
7. Las variedades que fueron tolerantes a la mayoría de los aislamientos fueron la Cerro Prieto y Marker.
8. Entre el cultivo original y los subcultivos de la primera y segunda generación se observaron diferencias patogénicas y fenotípicas.

9. La exposición de luz ultravioleta por 1, 3 y 5 minutos no indujo varia
ción en ninguna de las características del hongo.
10. La intemperización por 9 meses de los conidios del hongo, en frascos -
con agua destilada, no afectó su viabilidad y patogenicidad.

BIBLIOGRAFIA

- Adlakhak, L. and S. Raychadhuri P. 1975. Interaction between *Helminthosporium sativum* and wheat mosaic streak virus. Zeitschrift für pflanzendrankheiten und Planzenschutz 82(4)201-206. New Delhi India. En: Review of Plant Pathology 1975. Vol. 54.
- Afans'eva, MM. and V.A. Chulkina. 1977. Effects of mineral fertilizer on numbers of *Helminthosporium sativum* P.K.B. conidia in soil. - Mikol. Fitopatol. (12) 131-135. En: Biological Abstracts 1980. Vol. 65.
- Bidari, V.B. and H.C. Govindū. 1975. Studies on the pathogenicity of three isolates of *Helminthosporium sativum* P.K.B. at it's different stages of growth in Karnataka State. Mysore J. Agric. 9(1):87-94 En: Biological Abstracts 1976. Vol. 61.
- Bidari, V.B. and H.C. Govindū. 1975. In vitro evaluation of fungicides against three isolates of *Helminthosporium sativum* P.K.B. in Karnataka State. Mysore J. Agric. Sci. 9(1):91-98. En: Biological Abstracts 1976. Vol. 61.
- Binsen, P.S. and B. Channy 1983. Some observations on the surface of wheat leaves during the early stages of infection by *Helminthosporium sativum* P.K. & B. Jour. of Bot. Society 62(3) 285-287. En Review of plant pathology 1984. Vol. 63.
- Buxton, E.W. 1956. Heterokaryosis and parasexual recombination in pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* Jr. Gen. Microbiol., 15:133-139.

- Buxton, E.W. 1960. Mechanisms of variation in *Fusarium oxysporum* in relation to host-parasite interactions. En Plant Pathology; problems and progress, 1908-1958. American Phytopathological Society.
- Christensen, J.J. 1926. Physiologic Specialization and Parasitism of *Helminthosporium sativum*. Univ. of Minn. Agric. Exp. Sta. Technical Bulletin 37.
- Christensen, J.J. 1929. The influence of temperature on the frequency of mutation in *Helminthosporium sativum*. Phytopathology. Vol. 19: 155-162.
- Christensen, J.J. and T.W. Graham. 1934. Physiologic Specialization and variation in *Helminthosporium sativum*. Univ. of Minn. Agric. Exp. Sta. Technical. Bulletin 95.
- Christensen, J.J. and F.R. Davies 1940. Variation in *Helminthosporium sativum* induced by a toxic substance produced by *Bacillus mesentericus*. Phytopathology. Vol. 30:1017-1033.
- Day, P.R. 1960. Variation in phytopathogenic fungi. Ann. Rev. Microbiol., 14:1-16.
- D.G.E.A. 1983. Consumos aparentes de productos agrícolas.
- Dickson, J.G. 1956. Diseases of Field Crops: Second Edition. Mc Graw-Hill book Company. New York. USA. Pag. 43-49.
- Dielh, J.A. 1979. Common root rot of wheat (*Triticum aestivum*) in Brasil. Plant Diseases Rep. 63(12):1020-1022. En: Biological Abstracts

1980. Vol. 69.

- Dosdall, L. 1923. Factors influencing the pathogenicity of *Helminthosporium sativum*, Tech. Bull. 17 Univ. of Minnesota, Agric. Exp. Sta.
- Drechsler, C. 1923. Some graminicolous species of *Helminthosporium* Jour. Agr. Research, 24:641-739.
- Durytnina, E.P. L.L. Velikanov, 1974. Effect of mineral nutrition on susceptibility of spring wheat to *Helminthosporium sativum*. Univ. Moscow USSR. Biologicheskie Nauki 17 (12):74-80. En Review of plant pathology 1974. Vol. 53.
- Gordon, T.R. et al. 1985. Chemical seed treatments for control of barley Leaf Stripe in California. Plant Diseases. Vol. 60. 474-477.
- Hansen, H.N. and R.E. Smith 1932. The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea* Phytopath., 22:953-964.
- Huang, H.C. and R.O. Tinline. 1976. Histology of *Cochliobolus sativus* - infection in subcrown internodes of wheat and barley. Can. Jour. of Botany 54(12)1334-1344.
- Ismail, J.M.K. and A. Michalikova, 1977. Effect of phenolic and other compounds and the germination of spores of *Helminthosporium sativum* P.K.B. In vitro. Pol'nohospodarstvo 23(1) 18-33. Czechoslovakia. En Review of Plant Pathology 1977. Vol. 56.
- Kuribayashi, K. 1929. The ascigerous stage of *Helminthosporium sativum*.

Trans. Sapporo Mat. Hist. Soc. 10(2):138-145 Japan Biological Abstracts, 1929.

Leyva Mir, S.G. 1982. Especies de *Helminthosporium* patógenas de la cebada (*Hordeum vulgare*) en México. Tesis de Maestría C.P. Chapin-go, Méx.

Ledingham, R.J. 1942. Observation on antagonism in inoculation test of wheat with *H. sativum* and *F. culmorum* Sacc. Sci. Agric. 22:688-697.

Luz, W.C. and J.C. Vieira, 1982. Seed treatment with systemic fungicides to control *Cochliobolus sativus* on Barley. Plant Diseases 66: 135-137.

Mangan, A. 1979. *Cochliobolus sativus* on barley in Ireland. Irish Jour. of Agric. Res. 18(3):319-322. En: Review of Plant Pathology 1980. Vol. 59.

Minussi, E. et al. 1979. Fungitoxic effect in vitro of some fungicides on mycelial growth of *Helminthosporium sativum*. Depto. pl. prot. Univ. Sta. Maria Brazil 4(3)487-491. En: Review of Plant Pathology 1980. Vol. 59.

Mema, Kg. and L.M. Joshi, 1973. Spot blotch disease of wheat in relation to host age, temperature and moisture. Indian Phytopathol. 26(1):41-48. En: Biological Abstracts 1974. Vol. 57.

Nyvall, R.F. 1979. Field crop diseases. Handbook. Avi. Publishing Company. Inc. West port, Connecticut, U.S.A.

Pond. W. 1952. A new light-colored race of *Helminthosporium sativum*.

Phytopathology 42(9):472.

Pontecorvo, G. 1956. The parasexual cycle in fungi. *ann. Rev. Microbiol.*, 10:393-400.

Reis, E.R. and W.A. Wunsche, 1984. Sporulation of *Helminthosporium sativum* on residues of winter crops and its relationship to the increase of inoculum density in soil. *Plant Dis.* 68(5) 411-412.

Robles, S.R. 1975. Producción de Granos y Forrajes. Limusa, México.

Romero Cova, S. 1985. Comunicación personal. Depto. de Parasitología Agrícola. U.A.Ch. Chapingo, Méx.

Saur, R. 1976. The influence of ethirimol on the pathogenesis of a *Helminthosporiosis* [*H. sativum*] on barley. *Phytopathology* 87(4) 304-313.

Scardaci, S.C. and R.K. Webster, 1981. Antagonism between the cereal root rot pathogens *Fusarium graminearum* and *Bipolaris sorokiniana*. *Plant. Dis.* 64:965-967.

Shchekochikhina, R.J. 1975. Role of Toxin produced by *Helminthosporium sativum* P.K.B. in the pathogenesis of root rot of wheat. *Fitopatologiya USSR* 9(6) 518-523. En *Review of Plant Pathology*, 1976. Vol. 55.

Shoemaker, R.A. 1959. Nomenclature of *Drechslera*, *Bipolaris* grass parasites segregate from *Helminthosporium*. *Can. J. Bot.* 37:849-887.

- Sing, K.B. and R.S. Mehrotra, 1978. Effects of some fungicides on mycelial growth and respiration of *Helminthosporium sativum*. Jour. Indian Bot. 57(1) 1-5. En Review of Plant Pathology, 1979. Vol. 58.
- Sing, A. and S.K. Virk, 1980. Chemical inhibition of *Helminthosporium sativum*. Indian J. Mycol. and Plant Path. 10(1) 115-116. En Review of Plant Pathology, 1982. Vol. 61.
- Smoot, J.J. et al. 1958. Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. Phytopath., 48:165-171.
- Stakman, E.C. y J.J. Christensen, 1953. Problemas de variabilidad de los hongos. En: USDA 1953. Plant Diseases. The Yearbook of Agriculture Washington, D.C. Trad. al español por José Meza Nieto. Ed. Herrero, Méx.
- Stakman, E.C. and J.G. Harrar, 1957. Principles of Plant Pathology. The Ronald Press Co. New York.
- Teplyakov, B.I. 1977. Localization of *Helminthosporium sativum* P.K.B. in the caryopsis tissues of spring wheat and the spread of the fungus during germination. En: Review of Plant Pathology, 1979. - Vol. 58.
- Terekhova, M.A. 1976. Vitavax and Quinolate against root rots spring wheat. En Review of Plant Pathology, 1977. Vol. 56.
- Tinline, R.D. 1951. Studies on the perfect stage of *Helminthosporium sativum*. Can. J. of Bot. 29:467-478.

- Tinline, R.D. 1977. Multiple infections of subcrown internodes of wheat (*Triticum aestivum*) by common root rot fungi. Can. J. Bot. 55: 30-34.
- Timon, M.I., E.A. Peterson, and J.W. Rovatt 1974. Effects of aminoacids and substances from wheat roots on the soil-borne plant pathogen *Cochliobolus sativus*. Soil Science (2): 180-185.
- Vavenkov, N. 1974. Cytologic study on the action of *Helminthosporium sativum* P.K.B. on pollen formation in some varieties of spring wheat. Trudy po Prikladno, Botanike, Genetike i selektsii 53 (2) 100-104. En Review of Plant Pathology 1975. Vol. 54.
- Whittle, A.M. and M.J. Richardson 1978. Yield loss caused by *Cochliobolus sativus* en Clermont barley. Phytopathologische Zeitschrift 91 (3) 238-256. En Review of Plant Pathology 1978. Vol. 56.
- Yadav, B.S. and C.L. Mandahar 1981. Secretion of Cytokinin-Like substances in vivo and in vitro by *Helminthosporium sativum* and their role in Pathogenesis. Pflaisenkr Pflansensehutz 88 (2) 126-733. En: Biological Abstracts 1982. Vol. 74.
- Zillinsky, F.J. 1984. Guía para la Identificación de Enfermedades en Cereales de Grano Pequeño. CIMMYT p.p. 21-25.

A P P E N D I C E

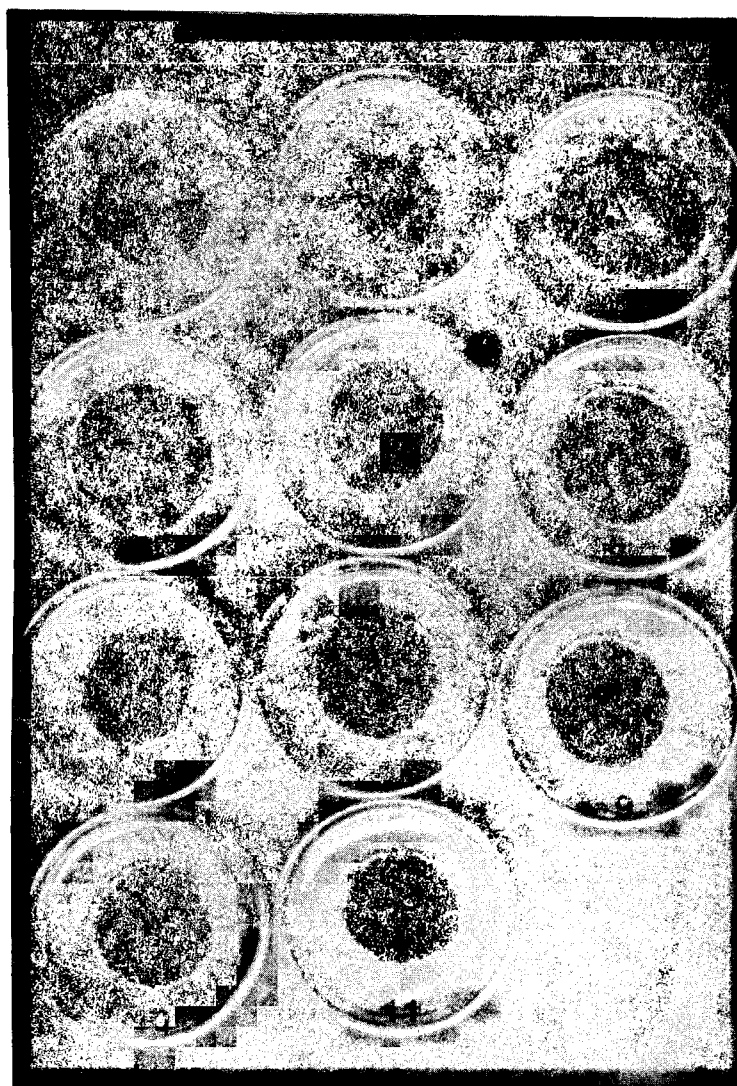


Fig. 1. Variación morfológica de *H. sativum* en P.D.A. El número en la caja corresponde a cada uno de los siguientes aislamientos: Del 1 al 5 corresponden a S.M. Atenco, del 6 al 11 a las muestras colectadas en la Carretera Apizaco-Tlaxco.

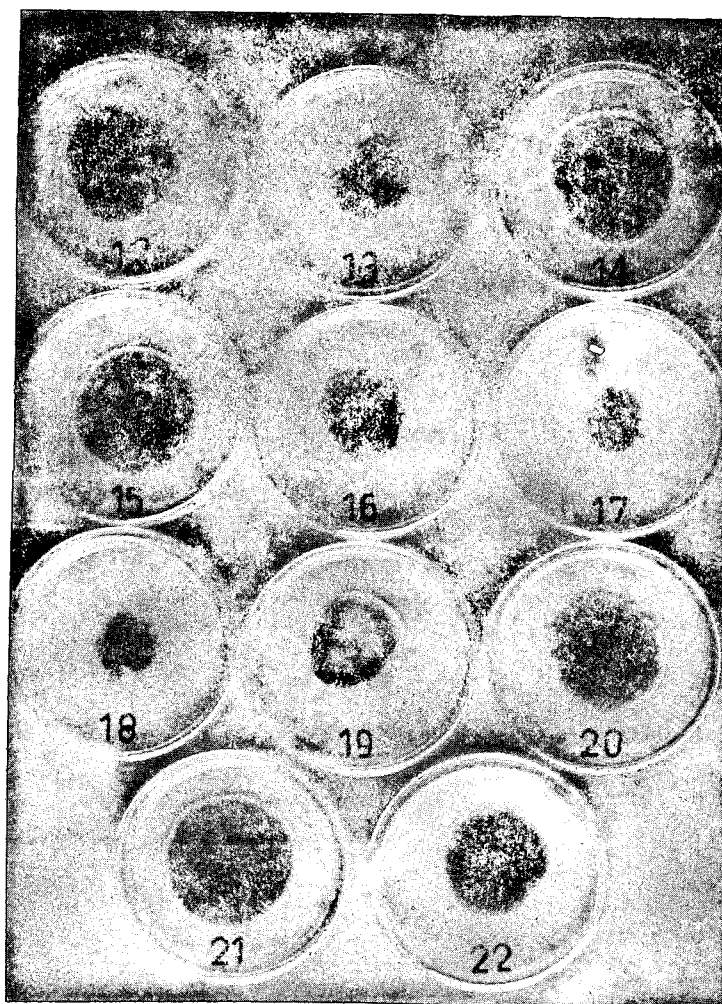


Fig. 2. Variación morfológica de otros 11 de *H. sativum* en P.D.A. los -
cuales corresponden, del 12 al 21, a los aislamientos de Tlaca--
tecpan y el 22 a Santa Mónica.

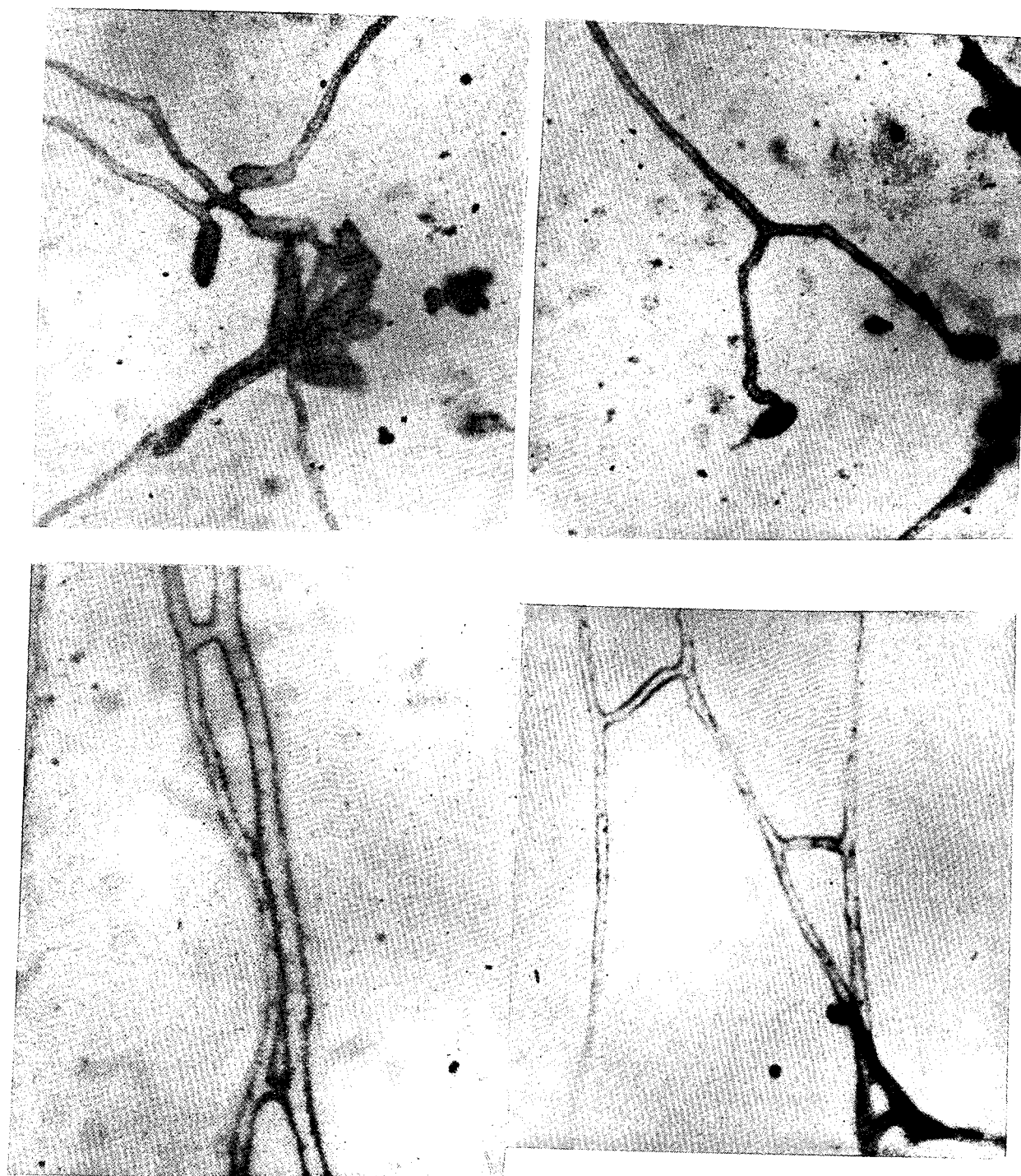


Fig. 3. Anastomosis de hifas de *Fusarium oxysporum* según Buxton, (1954). En Horsfall J.C. and H.E. Dimond. 1960. Plant Pathology. Vol. II Academic Press. N.Y. U.S.A. p. 367

Cuadro 1. Medio de cultivo de Sach-Agar (Tuite, 1969).

Ingredientes	
Nitrato de calcio	1.0 g.
Fosfato dibásico de potasio	0.25 g.
Sulfato de magnesio	0.25 g.
Cloruro férrico	Trazas
Carbonato de calcio	4.0 g.
Agar	20.0 g.
Agua	1000 ml.

Preparación:

Con la ayuda de la balanza analítica se pesaron las cantidades indicadas para cada reactivo; posteriormente, en un matraz de 1000 cc se colocaron 500 ml de agua destilada. El matraz se colocó en un agitador electrónico y se fué adicionando poco a poco los reactivos y por último el agar. Se aforó a un litro y se esterilizó a 15 lb de presión por 15 minutos.

Con el propósito de tener un pH ácido en dicho medio, se agregaron gotas de ácido láctico hasta obtener un pH de 5 en la lectura del potenciómetro.

Cuadro 2. Características culturales en P.D.A. de los primeros 20 aislamientos de *H. sativum*.

Aislamiento	Diámetro	Color	Bandeado
1	4.7	Negro	5
2	3.5	Negro	1
3	6.4	Negro L*	4
4	6.3	Verde	5
5	4.7	Negro	6
6	5.9	Negro	6
7	4.7	Verde	0
8	5.1	Verde	0
9	5.5	Negro L	2
10	5.2	Verde	0
11	4.6	Negro	0
12	4.6	Negro L	0
13	2.7	Gris	0
14	5.6	Negro L	6
15	5.2	Negro L	0
16	3.6	Claro	0
17	2.1	Negro I	2
18	2.4	Negro I	2
19	3.5	Blanco	0
20	4.7	Pálido	0
21	5.6	Verde	5
22	4.5	Negro	0

*L = Ligero

I = Intenso

Cuadro 3 . Características culturales en P.D.A. y patogenicidad de los -
cultivos 2 y 13 de la 2a. generación en la variedad Porvenir.

Subsubcultivos de las cepas 2 y 13	Diámetro de la colonia (cm)	Color de la colonia	Bandeado o zonado	Reacción de la variedad Porvenir
2.1.1.	no creció	no creció	no creció	
2.1.2.	4.4	negro	0	S
2.1.3.	4.7	negro	0	S
2.1.4.	5.3	negro	0	S
2.1.5.	5.7	negro	4	S
2.2.1.	6.8	gris-negro	6	S
2.2.2.	4.7	verde obscuro	6	S
2.2.3.	7.4	negro	5	S
2.2.4.	4	gris-negro	5	S
2.2.5.	4.4	negro	3	S
2.3.1.	3.9	gris-negro	3	S
2.3.2.	7.3	negro	3	S
2.3.3.	5.2	gris-negro	4	S
2.3.4.	8.2	gris-negro	4	T
2.3.5.	4.5	negro	0	S
2.4.1.	7.8	negro	4	S
2.4.2.	7.9	negro	4	S
2.4.3.	5.6	blanco	2	T
2.4.4.	4.5	negro	0	S
2.4.5.	7.8	negro	3	S
2.5.1.	4	negro-gris	3	S
2.5.2.	7.5	negro	3	S
2.5.3.	3.6	blanco negro	4	S
2.5.4.	4.5	gris-negro	3	S
2.5.5.	3.7	negro	0	S
13.1.1.	6.5	negro	3	S
13.1.2.	7.5	negro grisáceo	6	S
13.1.3.	4.7	negro	0	S
13.1.4.	4.5	negro	0	S
13.1.5.	4.6	negro	0	S

Continuación Cuadro 3.

Subsubcultivos de las cepas 2 y 13	Diámetro de la colonia (cm)	Color de la colonia	Bandeado o zonado	Reacción de la variedad Porvenir
13.2.1.	5.8	negro	9	S
13.2.2.	4.5	negro	0	S
13.2.3.	5	negro grisáceo	2	S
13.2.4.	6.5	gris	4	S
13.2.5.	5.8	gris	4	S
13.3.1.	3.6	negro	0	S
13.3.2.	3.8	negro	2	S
13.3.3.	4	negro	0	S
13.3.4.	4.2	gris-negro	2	S
13.3.5.	4.4	gris-negro	3	S
13.4.1.	3.6	negro	2	S
13.4.2.	2.8	negro	3	S
13.4.3.	6.8	negro	5	S
13.4.4.	3.3	negro	0	S
13.4.5.	3.3	negro	4	S
13.5.1.	4.5	verde-oscuro	6	S
13.5.2.	6.4	negro	5	S
13.5.3.	6.8	negro	4	S
13.5.4.	6.4	negro	7	S
13.5.5.	6.8	negro	4	S

S = Susceptible

T = Tolerante

