

1057.

FACULTAD DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACION Y BIBLIOTECA

FACULTAD DE AGRONOMIA



DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

Amalio S. S. S. S. S.

-INDICE/-

I-Agradecimiento-----	Pag 1
II-Introducción-----	Pag 2
III-Objetivos-----	Pag 7
IV-Revisión de la literatura-----	Pag 8
V- Materiales y Métodos	
-obtención del inóculo---	Pag 18
-métodos de inoculación--	Pag 20
-prueba de patogenicidad-	Pag 21
-variedades-----	Pag 22
-diseños y datos-----	Pag 22
VI-Resultados	
-identificación del organismo causal-	Pag24
-método de infección-----	Pag 25
-comportamiento de variedades-----	Pag 25
VII-Cuadros-----	Pag 28
VII-Conclusiones-----	Pag 34
IX-Bibliografía-----	Pag 35

FACULTAD DE AGRONOMIA



DEPARTAMENTO DE
DOCUMENTACION Y
BIBLIOTECA

3 SET. 1975

AGRADECIMIENTO

El autor expresa su agradecimiento a sus supervisores Ing.Agr.Juan A. Izquierdo e Ing.Agr.Amadeo Pastorino, por consejos y orientación durante el trabajo de teisis.

A la Facultad de Agronomía y al Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger Est.Exp.Las Brujas por el material suministrado que hizo posible este trabajo.

Al Departamento de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura y Pesca y a su personal, donde se realizó el trabajo de invernáculo.

3 SET 1975

INTRODUCCION

Importancia Mundial.-

Cuadro 1.-Importancia comparativa de tres leguminosas.

	Area Hás.	Producción Ton.
Poroto para grano seco	22.608.000	103.379.000
Garbanzos	10.390.000	5.613.000
Lentejas	1.669.000	958.000

Fuente: Anuario de producción. FAO. 1967.

Cuadro 2.-Principales productores.

País	Area Hás.	Producción Ton.	Rendimiento Kg/Há.
India	843.000	369.000	440
Pakistan	127.000	67.000	530
Etiopía	161.000	100.000	620
Turquía	100.000	100.000	1000
España	53.000	38.000	720
URSS	43.000	40.000	930
Irán	37.000	27.000	730
USA	27.000	28.000	1070
Chile	23.000	10.000	450
Argentina	16.000	16.000	940
Francia	17.000	24.000	1420
Grecia	11.000	10.000	890

Fuente: Anuario de Producción. FAO. 1967.

Importancia Nacional.-

Cuadro 3.-Importancia comparativa de tres leguminosas.

	Area Hás.	Producción Ton.
Poroto para grano seco	4361	2734
Garbanzos	11	11
Lentejas	31	11

Fuente: Censo General Agropecuario. MGA. 1970.

Cuadro 4.- Producción.

Año	Nº de Explotaciones	Hás.	Producción Kg.	Rendimiento Kg/Há.
1942	-	-	-	-
1946	-	-	53.541(1)	-
1951	-	46	39.074	850
1956	197	301	84.381	280
1961	197	77	29.429	282
1966	134	70	25.065	358
1970	104	31	11.513	371

(1)Promedio 1942-1946

Fuente:Censos Generales Agropecuarios.MGA.

Lo que,se puede concluir de estos datos de producción nacionales,es que se produjo una rápida reducción en cuanto al área sembrada de este cultivo en los 15 últimos años.Ambos,su-
perficie promedio del cultivo y número de establecimientos en donde se realiza indican que deben existir limitantes impor-
tantes para su expansión,lo que permite afirmar que es un cul-
tivo casi extinguido en nuestro país.

Cuadro 5.-Localización del cultivo.

Departamento	Nº de Explot.	Hás.	Producción Kg.	Rendimiento Kg/Há.
Artigas	-	-	-	-
Canelones	9	2	2718	1359
Cerro Largo	7	1	48	-
Colonia	2	1	102	-
Durazno	1	1	10	-
Flores	1	1	5	-
Florida	20	1	859	859
Lavalleja	14	5	1700	340
Maldonado	2	1	250	250
Montevideo	1	1	-	-
Paysandú	1	1	4	-

3

Departamento	Nº de Explot.	Hás	Producción Kg.	Rendimiento Kg./Há.
Rio Negro	3	1	85	85
Rivera	-	-	-	-
Rocha	12	1	125	-
Salto	-	-	-	-
San José	-	-	-	-
Soriano	13	1	210	210
Tacuarembó	9	20	5133	257
Treinta y Tres	9	1	264	264

Fuente: Censo General Agropecuario 1970

De acuerdo al cuadro 5 se deduce que el cultivo de la lenteja en nuestro país no se encuentra localizado en forma definida en ningún departamento. Los datos de Tacuarembó, Lavalleja y Canelones son elevados en el año 1970 por una plantación extensiva hecha por un productor único.

Destino de la Producción.-

Consumo humano: se destina a consumo como grano seco y fabricación de harina en muy pequeña proporción. El consumo de grano tiene un hábito arraigado en el gusto popular pero limitado en los últimos años por el elevado precio. El consumo anual es de 600 toneladas aproximadamente siendo cubierto por las importaciones como lo muestra el cuadro 6.

Cuadro 6.-Valor de las Importaciones.

Año	Volumen Fisico Ton	Valor US\$ miles
1942	-	-
1946	486 (1)	-
1961	325	93
1962	465	119
1963	725	160
1964	925	216
1965	788	132
1966	356	86
1967	270	71
1968	528	164
1969	1022	207

Cuadro 6.-(cont.)

Año	Volumen Físico Ton.	Valor US\$ miles
1970	473	126
1971	489	134

Fuente:Cenci.

Clima y Suelos.-

Los antecedentes indican que no existen limitantes en cuanto a clima y suelo que impidan el establecimiento del cultivo en la República Oriental del Uruguay. Lo que dice la bibliografía es que se producen mermas importantes en suelos con elevado porcentaje de materia orgánica, pero los bajos rendimientos en nuestro país no se deberían a este hecho.

Enfermedades y Plagas.-

Una de las limitantes mas importantes del cultivo estaría dada por la presencia de una enfermedad provocada por hongos del suelo. Concretamente se referiría a una marchitez o amarillamiento que afecta enormemente los cultivos. Son escasos los estudios hechos en este aspecto por lo que resulta de importancia dilucidarlo en lo que se refiere a reconocimiento del agente causal y posibilidad de introducir variedades resistentes.

Carrera y Noll(7) trabajando con lupinos y lenteja en La Estanzuela(Colonia, Uruguay en 1941), lograron aislar especies responsables de amarillamiento y marchitamiento entre las que se mencionan Fusarium avenaceum, Fusarium scirpi var. acuminatum, Fusarium culmarum y Fusarium orthoceras, este último con alta incidencia en la lenteja.

También Vasudeva y Srinivasan(29) aislaron una especie de Fusarium orthoceras que solo atacaba la lenteja como huesped específico al que le llamaron Fusarium orthoceras var. lentis nov Vasudeva Srinivasan.

Tanto Carrera y Noll(7) como Vasudeva y Srinivasan(29) hicieron una amplia y detallada caracterización de los síntomas

//

típicos que producen especies del género *Fusarium*.

En nuestro país se está llevando a cabo en el Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger, Estación Experimental Las Brujas, un programa de selección de variedades de lenteja resistentes a organismo o grupo de organismos que provocan amarillamiento. Se han testado (11) 20 variedades de diverso origen variando los porcentajes de infección desde el 7% al 49.4%.

Finalmente, podemos concluir diciendo que para que este cultivo tenga posibilidades de recobrar su importancia, es necesario conocer clara y precisamente los mecanismos de patogenicidad y resistencia. La identificación de el o los agentes causales de la enfermedad en la lenteja que produce amarillamiento es prioritaria y necesaria siendo las mencionadas anteriormente, las escasas referencias que a la fecha se tienen sobre estudios realizados con respecto a este tema.

Una vez cumplida la etapa anterior de identificación del agente causal de la enfermedad que provoca amarillamiento con posterior introducción y selección de variedades resistentes, entonces sí se podrá encarar el estudio de este cultivo en aspectos más generales.

OBJETIVOS.-

La reinstalación de cultivos de lenteja destinados al consumo interno y tendiente a lograr un autoabastecimiento de esta importante leguminosa seca, están limitados por el "marchitamiento amarillo".-

Considerando lo anterior y contribuyendo a la solución del citado problema el presente trabajo tiene como objetivo:

- 1.-La determinación del agente causal (su aislación y clasificación) como forma de canalizar la futura investigación del problema.
- 2.-La prueba de diferentes métodos de inoculación del patógeno a la planta huésped seleccionando el más eficaz y práctico.
- 3.-La prueba de patogenicidad del agente frente a variedades seleccionadas y/o introducidas en el país contribuyendo al programa de selección por resistencia o tolerancia que se viene desarrollando en la Estación Experimental Las Brujas del M.A.P.

REVISION DE LA LITERATURA.-

Carrera y Noll(10) aislaron los agentes causales que producen amarillamiento en lenteja. Encontraron una alta incidencia de Fusarium avenaceum scirpi, Fusarium culmorum y Fusarium orthoceras guiándose para su clasificación en la clave de Wollemweber y Reinking publicada en Die Fusarien 1935.

Basados en estos estudios, Vasudeva y Srinivasan(29) logran aislar de plantas de lenteja que presentan amarillamiento, una especie de Fusarium. Mediante estudios de su comportamiento en medios de cultivo diferenciales, técnicas de medición de conidios, coloración del sustrato y del estroma llegan a determinar Fusarium orthoceras. En test de patogenicidad prueban con 20 especies de leguminosas, pero dicho hongo no es patógeno de ninguno de los huéspedes inoculados y sólo infecta lenteja. Por lo tanto estos autores proponen nombrar dicho hongo responsable de la enfermedad de amarillamiento en lenteja Fusarium orthoceras var Lentis nov Vasudeva y Srinivasan morfológicamente indistinguible de las especies fundamentales y causante de una enfermedad vascular en *Lens culinaris*.

De acuerdo a estos autores, esta especie de *Fusarium* se desarrolla rápidamente en suelos bien aerados, no así en suelos pesados. Probando diferentes porcentajes de humedad, observan que con 25% de humedad el porcentaje de incidencia de amarillamiento es el mayor comparado con porcentajes de 75 y 100%. Dicho hongo se desarrolla en forma óptima en un rango de temperaturas que va desde 17°C a 31°C, siendo la temperatura ideal para su desarrollo de 27°C.

Vishnu P. Bhide y B.N. Uppal(30) trabajando con *Fusarium orthoceras* que provoca amarillamiento en *Lathyrus sativus* llegan a la conclusión que a los 27°C la enfermedad aparece en tan solo 7 días, mientras que con temperaturas de 20 a 30°C y de 35°C ésta se manifiesta a los 10 y 20 días respectivamente.

De estas observaciones se puede concluir que existe una correlación positiva entre el crecimiento del hongo y el desarrollo de la enfermedad a varias temperaturas del suelo.

S.Sinha(27) considera que el pH del suelo tiene un pronunciado efecto en la intensidad de la enfermedad. Rangos de pH de 8.4 a 9.2 reducen significativamente el amarillamiento sin afectar severamente el peso ni la producción de semillas ni el número de semillas y porcentaje de vainas en garbanzo (*Cicer arietinum*).

Baker y Nash(3) estudiando la influencia de los suplementos de celulosa y nitrógeno al suelo en el desarrollo de Fusarium solani f. phaseoli, concluyen que las adiciones de N anulan la acción benéfica de las enmiendas con celulosa, ó lo que es lo mismo decir que una alta relación C/N sería una forma de controlar la germinación del hongo dificultando su penetración. Papavizas, Adam y Lewis(20) agregando maltosa, dextran o celulosa a suelo infectado con clamidosporas suprimen efectivamente la podredumbre que produce Fusarium oxysporum. Determinan que la severidad de la podredumbre es más marcada en suelos de pH 5 o pH 6 que en suelos de pH 7, 8 o 9. Las enmiendas de celulosa producen la muerte de los conidios.

Adam, Lewis y Papavizas(1) en otro trabajo, consideran que las clamidosporas germinan pobremente o no lo hacen en suelos a los que se les ha incorporado material carbonado (alta C/N). La celulosa controlaría la enfermedad elevando el nivel fungistático del suelo que previene la germinación de las clamidosporas del patógeno adyacentes al tejido del huésped.

Con respecto a la sobrevivencia del hongo, S. Nash, Christon y Snyder(19) trabajando con Fusarium solani f. phaseoli demuestran que si éste se encuentra en suelo estéril se desarrolla rápidamente formando micelio, conidios y en un período que varía de días a semanas se transforma en clamidosporas siendo ésta la forma en que sobrevive el hongo.

10

Papavizas, Adam y Lewis(21) consideran que en suelos tratados con sustancias estimulantes, más del 70% de los propágulos examinados son clamidosporas y el porcentaje aumenta hasta 100% después de 6 semanas de incubación.

D.W.Burke (7) en un trabajo realizado con Fusarium solani f.phaseoli, observa que dicho hongo no se disemina de plantas infectadas a plantas no infectadas que crecen con 1.5 a 5 cm. de separación. Además la propagación o avance de la necrosis de partes de raíz o cuello infectadas, a zonas no infectadas es despreciable excepto en plantas que tienen un crecimiento interrumpido. Se deduce de esto, la inmovilidad de dicho hongo en suelos naturales. La diseminación del patógeno por medio del agua de riego también está limitada porque al ser ésta superficial hay un movimiento capilar despreciable del agua a través del suelo.

El débil parasitismo cortical del hongo que provoca amarillamiento, sugiere que las heridas deben ayudar su entrada dentro del sistema radicular, concluye M.B.Lindford(17) en su estudio de patogenicidad de Fusarium orthoceras var.pisi en arveja (*Pisum sativum*). Dicho autor sometiendo plántulas resistentes y susceptibles a poda radicular y trasplantándolas en suelo infectado observó que se destruye la resistencia y los síntomas aparecen más temprano.

Predisposición del huésped a la enfermedad.--

Existe predisposición para el ataque por Fusarium cuando el crecimiento radicular está impedido por amontonamiento de plantas, suelo frío, trasplante o senescencia, como lo expresa D.W.Burke(8). Un suelo pesado por ejemplo es un impedimento natural para el crecimiento radicular y una forma de impedir este hecho es usar un subsolador.

En otro trabajo este autor(9) llega a la misma conclusión probando en suelos infectados plantas de poroto y viendo que la severidad de la enfermedad varía ampliamente da-

do que la diseminación es desuniforme y que hay plantas que crecen en condiciones físicas adversas que las hacen más sensibles al ataque. Se puede concluir, dice el autor, que la intensidad con que ocurre la enfermedad que provoca marchitamiento en poroto depende de otros factores retardadores del crecimiento.

Un extenso estudio hecho por M.B. Lindford(18) en Fusarium orthoceras var pisi demuestra que la aparición de la enfermedad es más temprana en partes del campo donde ya se haya presentado la enfermedad anteriormente. Por lo tanto, áreas que son afectadas un año mostrarán una predisposición a la muerte de las plántulas mayor y más temprana que áreas circundantes en las cuales el amarillamiento se vé por primera vez. Pueden suponerse dos cosas, sugiere M.B. Lindford, o que hay una relación directa entre abundancia de hongo y rapidez de enfermedad o que hay una gradual modificación del suelo, como resultado de la presencia del hongo(17). El rápido desarrollo de la enfermedad en suelos infectados puede ser una consecuencia de la infección por el hongo que provoca amarillamiento en varios puntos del sistema radicular.

Análisis de síntomas.-

En el estudio de síntomas externos Carrera y Noll(10) señalan que la parcela del cultivo de lenteja presenta grupos pequeños diseminados de plantas atacadas. El marchitamiento comienza en la parte superior de las plantas y progresa rápidamente hacia abajo.

Vasudeva y Srinivasan(29) observan un encrespamiento de las hojas basales que luego se extienden hacia arriba, los folíolos comienzan a amarillarse, penden hacia abajo y se tornan morenos. Los pecíolos se doblan y penden igualmente de los tallos amarillentos(10). Llama la atención la forma en que queda inhibido el crecimiento.

Las plantas sanas se encuentran ramificadas y tie-

nen mayor altura que las enfermas que presentan enanismo y están poco ramificadas. El sistema radicular de las plantas enfermas está poco desarrollado siendo fácil arrancarlas del suelo; la corteza presenta podredumbre seca, coloración oscura y con presencia de micelio.

En cortes transversales de la raíz se nota macroscopicamente una zona morena que se prolonga en el tallo hasta 10 cm. Las paredes de los vasos son de color castaño y llevan en partes masas rojizas en su interior.

Vasudeva y Srinivasan(29) consideran que en casos tempranos la absorción radicular se destruye por verse afectado el extremo y la raíz principal es anormalmente corta. Proliferan las raicillas secundarias como un racimo sobre el nivel afectado.

Con respecto a síntomas internos según comprueban los estudios de M.B. Lindford(17), la muerte de una planta de arveja afectada por Fusarium orthoceras var pisi es precedida por una serie de profundos disturbios en el metabolismo y crecimiento. Parece probable continua, que tanto la hipertrofia de las células parenquimáticas como el incremento de rigidez de las plantas afectadas, se atribuyen al incremento de valor osmótico de los contenidos celulares que resulta de la acumulación de sustancias de reserva. La rigidez sería debida al incremento del grosor de la pared celular y la anormal maduración temprana de los tejidos de los brotes. En plantas jóvenes el amarillamiento y necrosis de plantas parece ser, la culminación de una serie de importantes cambios en el metabolismo y en el crecimiento del huésped, elevado por el hongo a través de la acción aparente de productos de su propio metabolismo. La pérdida de turgencia que se observa no debe ser una consecuencia de un inadecuado suplemento de agua, pero sí una muerte de células y pérdida de su poder de retener el agua, o sea una pérdida del poder normal de retención de agua por los

13
protoplastos de las hojas.(15)

Carl H. Beckman(6) en un extenso trabajo de respuestas del huésped a la infección vascular, considera que las plantas con amarillamiento sufren desbalance en su economía de agua. Las pérdidas exceden los suministros y el patógeno acarrea éstas y otras anormalidades eliminando productos metabólicos. Ocurren cambios morfológicos, histológicos y fisiológicos en dicha interacción. Los cambios histológicos incluyen formación de gomas y gel, hipertrofia de las células del parénquima xilemático, incluyendo formación de tilosas y decoloración vascular. La evidencia indica que los geles y/o gomas provienen del huésped. La probabilidad de que los parásitos que atacan el sistema vascular puedan producir enzimas pécticas lleva a la conclusión de que las enzimas pécticas están envueltas en los taponamientos por geles.

FACULTAD DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACION Y BIBLIOTECA

S. Bateman(4) estudiando las enzimas pécticas producidas por Fusarium solani f. phaseoli en cultivos de poroto, demuestra que dicho hongo creciendo en papa-glucosa-agar produce una variedad de enzimas pécticas que degradan las alfa 1,4 cadenas glucosídicas de las sustancias pécticas. Concluye a partir de filtrados de cultivos, que existen tres enzimas pécticas: una hidrolasa que degrada el ácido péctico a pH=6; otra hidrolasa más activa que actúa a pH=5 y una enzima que degrada tanto pectatos como pectinas a pH alcalinos de 8.6.

S.S. Gothoskar, R.P. Scheffer, S.C. Walker y M.A. Stahman encuentran(13) en tomate encuentran una correlación entre la severidad del amarronamiento vascular y la acción de una pectinmetilesterasa. Concluyendo igualmente que los anteriores autores que las enzimas pécticas producidas por el patógeno son factores importantes en causar características de amarillamiento y amarronamiento vascular.

Bayley Sleeth(5) también notifica la presencia de tilosas asociadas al ataque de Fusarium niveum, las que coinciden con la disseminación del hongo a través del xilema.

Los vasos quedan ocluidos por dichas tilosas.

La decoloración vascular es otro cambio histológico en los tejidos del huésped y según el color se puede reconocer la infección vascular.

Los incrementos en la concentración de sustancias fenólicas son características en tejidos enfermos por infección de hongos. Se atribuye el amarronamiento, a la liberación de fenoles por enzimas hidrolíticas y oxidaciones por polifenoloxidasas en papa y tomate. La evidencia indica que dichas enzimas más las peroxidasas del huésped y citocromooxidasas catalizan la oxidación del fenol.

Señala Carl H. Beckman(6) como cambios fisiológicos los incrementos en la permeabilidad, incrementos en la respiración al incrementar la actividad de la oxidasa rápidamente, declinando después, alteración en las economías de agua por descenso o incremento de pérdidas, gran responsable de los síntomas de amarillamiento. Hay también alteración en la fotosíntesis, formación de ácido indolacético, polifenoles y otros efectos.

Relacionando síntomas externos e internos se puede acotar que la epinastia y deformaciones van unidas a hipertrofia interna del parénquima vascular, periciclo y sugieren un disturbio en el sistema hormonal. El marchitamiento clorosis y necrosis resultan de un anormal y escaso suministro de agua, alteración en la permeabilidad y oclusión vascular.

En cuanto a las toxinas involucradas en causar los síntomas de amarillamiento se ha sugerido(6) el ácido fusárico, el cual se aísla de plantas de tomate, algodón o banano enfermos de Fusarium. Se dice que este ácido desciende la permeabilidad celular del huésped dependiendo de su concentración e inhibiendo la respiración y el crecimiento.

También causa necrosis de los tejidos corticales volteando los folíolos.

Sanval y Waygood(23) agregan que el ácido fusárico podría causar una parcial e incompleta fosforilación oxidativa. Inhibición del crecimiento, de la respiración, alteración de la permeabilidad, daño a las células, inducción de formación de gel son daños que se le adjudican al ácido fusárico y lo ubican como el primer candidato en causar la enfermedad.

Subba Rao(28) menciona además del ácido fusárico a la licomarasma y enzimas similares a las pectinasas implicadas en los síntomas de marchitez y expresa que parte de estos síntomas son reproducibles cuando las plantas son expuestas a estas sustancias en estado puro.

Fuentes de resistencia y control.-

Control cultural: en suelos pesados y a fin de favorecer el normal crecimiento y desarrollo de las raíces Burke(8) propone el uso de un subsolador o el adecuado manejo tendiente a producir el efecto mencionado. H.K. Jain, P.N. Ball y D.P. Raju(15) además proponen controlar la fecha de siembra, profundidad, densidad de plantación, textura del suelo, stress de humedad.

Control químico: H.N. Khare, K.G. Neuma y L.S. Kushwasha(16) sugieren el uso de Benlate y Thiran como los mejores y que producen menor marchitamiento, mayor producción y no afectan la nodulación. Remojando las semillas 5 minutos en 0.1% de Ceresán húmedo seguido de un tratamiento de semilla con 0.2% de Thiran y 0.2% de PCNB y Brassicol al 20% se reprimen el efecto del amarillamiento en garbanzo en grado considerable. Como lo expresa D.V. Singh(25) si bien se conoce que los fumigantes reducen las esporas de Fusarium en el suelo a un nivel que permite la producción, debido al alto costo sería impracticable, lo mismo que controlando factores circundantes como son los de manejo de suelo y fechas de siembra. Pero esta autor propone el control genético del hongo Fusarium que produce amarillamiento como forma más práctica de controlarlo que es además de segura, barata.

Control genético: Según D.V.Singh, A.N.Micra y S.N. Singh(24) la enfermedad que provoca amarillamiento es una gran amenaza en India para el garbanzo, y en ausencia de prácticas culturales, sugieren como solución conveniente, la selección de variedades resistentes a dicha enfermedad. El plan de trabajo comprendería un conocimiento profundo de los organismos involucrados y de las fuentes de resistencia de las que se dispone. Ahondar los estudios de razas fisiológicas más importantes, conocer la prevalencia del hongo y recurrir a la creación de híbridos. Bagget, Frazier y Waugham(2) concuerdan en revalorar la vía de la hibridación como fuente de futura resistencia.

Un nuevo trabajo sobre amarillamiento(25) propone como una vía de obtención de fuentes resistentes la mutación para lograr nuevos genes y los métodos adecuados para proteger el material. Métodos de mejoramiento como backcross, backcross pedigree y pedigree también se sugieren para la resistencia al amarillamiento.

El trabajo de D.Singh y S.N.Singh(26) sobre garbanzo menciona el método de backcross como el más adecuado cuando se usan grandes bases de producción agronómica. En ausencia de estas bases se usa el pedigree.

Carl Beckman(6) propone como fuente de resistencia la posibilidad de obtener plantas que produzcan sustancias inhibitoras para el patógeno. Peterson y Pound(22) consideran que en plantas resistentes al amarillamiento, los protoplastos del huésped pueden ser resistentes a los metabolitos del parásito.

Control biológico: una nueva vía de control ha sido propuesta por J.S.Cholan(11). Sería la resistencia inducida o sea la exposición de las plantas a otros organismos. Esto incluye un directo antagonismo entre el organismo "protector" y el patógeno, adquiriéndose así la resistencia. El antagonismo puede resultar por: bloqueo del sitio de infección, producción

de antibióticos por parte del microorganismo protector. Se concibe la adquisición de resistencia como un proceso que envuelve la activación de un cambio fisiológico en el huésped. Estos estudios conducen a un nuevo esquema de control biológico del complejo que provoca amarillamiento-marchitamiento.

Organismos asociados. Otras enfermedades vasculares.

Sclerotium rolfsii también causa podredumbre radicular y del cuello. Las plantas muestran amarillamiento, se encuentra habitando lenteja y puede estar asociado al organismo que ocasiona amarillamiento-marchitamiento en garbanzo como lo notifica S. Sinha (27). Ambos hongos proliferan a la misma temperatura aunque los porcentajes de humedad óptimos para su desarrollo no coinciden. Las raíces, en particular la zona del cuello se vuelven amarillo-marrón y se extraen fácilmente del suelo. Produce esclerotos.

MATERIALES Y METODOS.-

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía y en el invernáculo de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura y Pesca en Montevideo, República Oriental del Uruguay.

Comprendió tres etapas fundamentales:

En la primera parte, se obtuvo un inóculo a partir de plantas con síntomas de amarillamiento extraídas del ensayo instalado en junio de 1974 en la Estación Experimental Las Brujas, del Ministerio de Agricultura y Pesca. Una vez hechas las aislaciones se procedió a la identificación del inóculo cultivándolo en diferentes medios nutritivos, observando número y frecuencia de microconidios y macroconidios, clamidosporas, al igual que sus medidas, coloración del sustrato, etc.

La segunda parte consistió en una prueba preliminar con cuatro métodos de inoculación para seleccionar y trabajar con el más apropiado.

Finalmente, en la tercera parte se procedió a probar 50 variedades de lenteja (*Lens culinaris*) de diferente origen cedidas por la Estación Experimental Las Brujas, con el fin de estudiar su respuesta al patógeno y determinar susceptibilidad y/o tolerancia.

Obtención del inóculo.-

Para el aislamiento del hongo se usaron plantas que tenían síntomas de amarillamiento en las hojas y cuyas raíces presentaban un color castaño. Se cortaron trozos de raíz y cuello, los cuales una vez pasados por alcohol al 50% durante 30 segundos y por hipoclorito de sodio durante 60 segundos, fueron colocados en cajas de Petri con medio nutritivo agar papa glucosado (APG) al 1%.

De cada colonia de aspecto homogéneo se hicieron aislaciones a tubos de ensayo y nuevos repiques siempre usando

como medio de cultivo, el arriba mencionado. Después de varias aislaciones, se llegó a aislar una especie de *Fusarium* en estado puro procediéndose entonces a su identificación para lo cual seguimos la clave de Wollenweber y Reinking de determinación del género *Fusarium*, utilizada también para sus investigaciones por Carrera y Noll(10). Además se tuvieron en cuenta los trabajos de Vasudeva y Srinivasan(29) en lenteja.

El inóculo se cultivó en diferentes medios de cultivo a saber: agar poroto, agar avena, agar maíz, agar zanahoria, tal como los describe Carrera en *Physis* tomo XV pag. 21. De esta forma se pudieron obtener todas las fases necesarias para la determinación de la especie. Los datos que se tuvieron en cuenta fueron los siguientes: a) presencia o ausencia de micelio, color, característica; b) presencia o ausencia de esporodoquios, pionnotes, color y características; c) características y color del sustrato nutritivo; d) producción de esclerotos; e) micro y macroconidios, forma, características, tabiques, medidas; f) presencia o ausencia de clamidosporas, forma, tamaño, disposición, color, características etc.

Métodos de inoculación.-

Prueba preliminar: la finalidad de estas pruebas parciales de diferentes métodos de inoculación fue el poder usar en la prueba definitiva aquel que reproduzca los síntomas en forma más efectiva. Para multiplicar el hongo se usó una mezcla de partes iguales de maíz picado y arena (el equivalente a 80 cm³) y a los que se le agregó 100 cm³ de agua de canilla. Se colocó esta mezcla en un Erlenmeyer de 250 ml. y se esterilizaron en autoclave a 15 lb. de presión por 2 horas. Los frascos una vez esterilizados se llevaron a temperatura ambiente, se inocularon y se mantuvieron en esas condiciones por espacio de dos semanas. El micelio se extendió en forma abundante durante este período. Este método fue utilizado por Carrera y Noll(10)

Otro método usado para multiplicación del hongo fue inoculando varios tubos con APG y algunos con Agar-poroto. Al cabo de 10 días en que abundante micelio se había desarrollado, se les agregó agua destilada y esterilizada, raspando con un aza la superficie del medio quedando así preparada la solución de conidios. Se usaron 10 macetas con 4 plantas cada una para cada método a probar y 5 macetas testigo con el mismo número de plantas cada una.

Los métodos propuestos fueron los siguientes:

✓ Métodos con plántula a) se plantó semilla de una variedad altamente susceptible, la que fue previamente desinfectada por 10 minutos en HgCl_2 al 10/100. Se extrajeron las plantas cuando tenían 7 cm de altura, se les lavó y cortó las puntas de las raíces. Posteriormente se introdujeron en tubos de ensayo con solución de conidios por espacio de 2 o 3 minutos volviéndose a plantar una vez transcurrido ese tiempo y volcándose el contenido del tubo en la maceta correspondiente. Los testigos fueron igualmente tratados siendo sumergidas las plantitas en tubos sin inocular con agua destilada.

b) Se desinfectó igualmente la semilla con HgCl_2 al 10/100 durante 10 minutos, se plantó y cuando las plántulas tenían 7 cm de altura se extrajeron, se volcó en la maceta inóculo que se desarrollaba en los Erlenmeyer en maíz-arena, se tapó con tierra y se plantó nuevamente, se regó. El testigo fue tratado de la misma forma con una preparación de maíz-arena sin inocular.

Una variación de estos dos métodos consistió en extraer, lavar y cortar la raíz de las plántulas, sumergirlas en solución de conidios y además agregarle al suelo el inóculo en maíz-arena. También a esta variación se le adjudicaron testigos con tratamientos semejantes.

Métodos con semilla: c) la semilla previamente desinfectada con HgCl_2 al 10/100 por 10 minutos, se sumergió posteriormente en una solución de conidios preparados en tubos de ensayo.

Se sembró dicha semilla y se volcó el contenido del tubo en las macetas. Los testigos tuvieron tratamiento semejante, pero sin el hongo.

d) Se volcó contenido de frsco con inóculo-maíz-arena en las macetas. Se cubrió con tierra se regó y se sembró semilla previamente desinfectada como en los casos anteriores. A los testigos se le hizo el mismo tratamiento con mezcla de maíz-arena sin inóculo.

Se rotaron las macetas con el fin de evitar cualquier variación para uno u otro tratamiento. Se tomó la fecha de inoculación y la fecha de aparición de los primeros síntomas como uno de los criterios a tener en cuenta en la selección del método más apropiado. El otro criterio que se consideró fue la practicidad o facilidad de manipuleo.

Una vez aparecidos los síntomas se extrajeron plántulas y se colocaron trozos de cuello y raíz en placas de Petri cumpliéndose así con los postulados de Koch.

Prueba de Patogenicidad.-

Se realizó en el Invernáculo de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura y Pesca.

Las semillas de lenteja, previamente desinfectadas con HgCl_2 al 10/00 durante 10 minutos y posteriormente lavadas, se pusieron a pregerminar en cajas plásticas en cámara húmeda con papel de filtro y con tapa para acelerar la germinación. Después de 48 horas se plantaron las que habían germinado en sus respectivas macetas.

Se usó para las macetas una mezcla de 75% de arena de río y 25% de tierra la que fue esterilizada por dos horas a 20 libras de presión en autoclave.

Para la inoculación se usó el método encontrado en las pruebas parciales como el más efectivo y de fácil manipuleo que consistió en volcar sobre la maceta con arena tierra hasta la mitad, la mezcla de hongo-arena-maíz, cubrirla, luego regar y

sembrar arriba las semillas pregerminadas. Los testigos fueron tratados en forma semejante con una mezcla de arena-maíz sin inocular. Las macetas así inoculadas se colocaron en invernáculo tratando que las condiciones de iluminación fueran las más adecuadas.

En cuanto al riego, dado a que en la estación en que se realizó el ensayo fue calurosa, fue un factor de continuo cuidado.

Variedades:

Se usaron 50 variedades de lentejas de diversos orígenes proporcionadas por el Centro de Investigaciones Agrícolas Alberto Boerger Estación Experimental Las Brujas. Dichas variedades difieren en sus características externas, fundamentalmente en tamaño; 27 de ellas son pequeñas, 12 medianas y 11 lo son grandes. Sólo dos de ellas y de tamaño pequeño son negras, una baya mediana con pintas y las restantes varían dentro de la tonalidad del bayo.

Sus orígenes son diversos: Grecia, Irán, Etiopía, Argentina, El Líbano, India, Turquía, Hungría, Marruecos, Guatemala, Egipto, Perú, Palestina, Bulgaria, URSS, Siria, Pakistán, México, Chile, USA.

Diseño y Datos.

El diseño usado fue el propuesto por Dongo(12) en su estudio sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. *phaseoli* en frijol. El diseño consiste en 4 repeticiones (macetas) con 4 plantas cada una y dos testigos con igual número de plantas cada una a fin de hacer comparaciones.

Se hicieron tres pruebas, la primera incluyó todas las variedades y se eliminaron aquellas que mostraron más de un 50% de sus plantas enfermas y más de 1.5 de grado de enfermedad. Grado de enfermedad representa la relación $\frac{\sum \text{de síntomas}}{4}$ para cada repetición.

Los síntomas que se tuvieron en cuenta fueron: en

orden de aparición: enanismo, amarillamiento, marchitamiento y muerte. Se hicieron contajes a los 7, 14, 21 y 28 días recogiendo los datos en fichas como la que muestra el cuadro 7.

Las variedades que cumplieron con los requisitos antes mencionados pasaron a la 2ª y 3ª pruebas. Los propósitos estas últimas fueron verificar si no habían fallado los métodos de infección y probar una y otra vez variedades con pocos o ningún síntoma.

Al final de cada prueba se promediaron los datos de grado de enfermedad y porcentaje de plantas enfermas para cada variedad, seleccionándolas en función de estos resultados.

RESULTADOS.--

I.-Identificación del organismo causal.

El desarrollo de micelio en medio agar-poroto fue basto y abundante, denso en agar-arena y en agar-maíz y corto en agar-zanahoria. En agar-papa-glucosado el micelio es aéreo, abundante, corto, blanco algodonoso, a veces rosado, sin esporodoquios visibles al microscopio.

Los microconidios son abundantes fundamentalmente 0-1 tabicados, con tabiques delgados, comunmente aglutinados en cabezas, apenas curvados, hialinos. Los macroconidios son escasos, bastante derechos, fusiformes, de paredes delgadas, de 1 a 5 tabicados pero fundamentalmente con 3 tabiques, delgados, y la base es aaveces papilada.

Las clamidosporas pueden ser solitarias o agrupadas en cadena de 2 ó 3 nacidas en el micelio, raramente en cinidios, esféricas, hialinas, lisas, ricas en contenido protoplasmático, con el borde liso o espinulecente, abundante en agar-poroto y agar-papa-glucosado, fundamentalmente cuando el cultivo tiene más de 30 días.

La abundancia de microconidios, los tabiques poco visibles en los macroconidios y la presencia de clamidosporas terminales, lo agrupan según la clave de Carrera y Noll(10) en el grupo ELEGANS.

La ausencia de esporodoquios lo coloca en el SUBGRUPO ORTHOCERA.

Dado que no se probó en otras especies o géneros no se identificó la variedad.

Las características de crecimiento, color de micelio y del sustrato además de las medidas de conidios y clamidosporas se dan en el cuadro 7. Dichas características presentadas concuerdan con la descripción de *Fusarium orthoceras* de Wollenweber y la dada por Carrera y Noll(10).

II.-Métodos de infección.

Los métodos de infección utilizando plántulas demostraron en promedio 19 días el primero y 10 días el segundo en mostrar los síntomas. De los métodos que utilizan semilla, el que ponía en contacto la semilla con una solución de conidios mostró tardíamente los síntomas, a los 25 días aproximadamente. Sin embargo la prueba que usaba la semilla con mezcla de hongo-maíz-arena fue muy efectiva mostrando los primeros síntomas a los 7 días. Hay que tener en cuenta, que la época en que se realizaron estas pruebas fue óptimo en cuanto a temperatura sobre todo para el desarrollo del hongo.

Por ser no sólo el método más efectivo en mostrar síntomas en menor número de días, sino también práctico de manipular teniendo en cuenta que son 50 las variedades a probar, se eligió como el método de inoculación más apropiado el que consiste en volcar sobre maceta con tierra-arena hasta la mitad, una mezcla de hongo-arena-maíz, preparado como ya se describió, cubrir nuevamente con tierra-arena, regar y colocar las semillas desinfectadas y pregerminadas, volviendo a cubrir con una delgada capa de tierra.

III.-Comportamiento de variedades de lenteja con un inóculo de *Fusarium orthoceras*.

Los resultados de esta tercera parte del ensayo mostraron las diferentes respuestas de las 50 variedades de lenteja al ser inoculadas con el hongo aislado *Fusarium orthoceras*, por el método elegido como el más eficaz y práctico en condiciones de invernáculo.

Los síntomas que presentarán las plantas fueron: dificultad en la emergencia con respecto a los testigos, enanismo marcado, pérdida gradual del color verde en las hojas que comenzaba en el ápice de las hojas inferiores progresando hacia la base de la propia hoja hacia los folíolos superiores.

Se observó que esta pérdida de color no era igual

en todos los casos. En algunas variedades llegaba a cubrir todo el limbo, en otras sólo el ápice y finalmente en otras variedades el amarillamiento era desuniforme a lo largo de toda la plántula.

A medida que avanzaba la enfermedad, hecho que podía ocurrir entre los 21 y 28 días las plántulas de algunas variedades, las más susceptibles, se comenzaban a marchitar y adquirían síntomas típicos de escasez de agua; folíolos péndulos, tallo flácido, pérdida de rigidez total. El color amarillo se aclaraba, luego seguía el marchitamiento hasta que la plántula tomaba un color marrón y finalmente se moría.

Estos síntomas lógicamente no se presentan en todas las variedades de igual forma, ni siquiera dentro de una variedad, en las repeticiones, dado que es imposible en este último caso que las condiciones de infección sean exactas para cada plántula y cada maceta.

Los promedios de porcentajes de plantas enfermas y grado de enfermedad, elementos definidos anteriormente y que fueron tomados como criterios de selección con valores de 50% y 1.5 respectivamente se anotan en el cuadro 8 para la primera prueba. De allí se seleccionan 23 variedades para la 2ª prueba, las cuales han sido señaladas con un asterisco.

El cuadro 9 muestra los resultados de la segunda prueba. En ella se hace notar el aumento en forma notoria de los valores promedios del porcentaje de plantas enfermas y del grado de enfermedad respectivamente. Esto además de justificar que se haya repetido la prueba para variedades seleccionadas en el primer test, nos indica que el poder infectante puede haber sido mayor por el alto número de clamidosporas, y por una temperatura más cercana a la óptima para el desarrollo del hongo. Se puede concluir diciendo que las clamidosporas tendrían un poder infectante mayor que los conidios, produciendo en menor tiempo mayor número de síntomas y que el aumento de la temperatura favorecería la infección por parte del hongo.

De esta segunda prueba se seleccionaron 5 variedades señaladas con un asterisco en el cuadro 9.

El cuadro 10, muestra los resultados de la tercera prueba. Se puede extraer de los datos que en él se observan que si bien los porcentajes de plantas enfermas son altos, el grado de enfermedad es inferior a 1.5.

El síntoma que presentan estas variedades respecto a sus testigos es fundamentalmente enanismo.

Las variedades LB-016 -01 y PI N° 163-589 no presentan otro síntoma visible. Mientras que las variedades LB-009 33-071-10425, PI N° 299-118 y PI N° 370-633 además de enanismo marcado, tuvieron amarillamiento incipiente.

Se estudió en la variedad LB-016 N° 01 y en la PI N°163-589 la densidad y longitud de raíces. El largo de raíces no varió en gran forma para la variedad LB-016 N°01 pero si la densidad, que se veía muy afectada en las plantas tratadas con respecto a las no tratadas.

Por otra parte la variedad PI N°163-589 tratada, presentaba una longitud de raíces de 6 cm. contra la longitud de las raíces de las plantas testigo que era de 12 cm; diferencia notoria que muestra el daño que puede causar el hongo, aun cuando la parte aérea no parece estar muy afectada.

Sería interesante observar en estas dos variedades que porcentaje del rendimiento se ve afectado por el enanismo y la falta de desarrollo radicular, que son los dos síntomas que presentan.

En cuanto a la relación tamaño de semilla y grado de susceptibilidad no se puede afirmar que existe una clara correlación, sin embargo se puede hacer notar que las variedades más susceptibles y con más grado de ataque en general son las de semilla grande.

Cuadro 6..-Resumen de características físicas del inóculo
aislado.-

Medio -----agar-papa-glucosado

Color micelio-----blanco que se vuelve algo rosado

Color del medio-----violeta

Promedio-----2.86x8.6

0 septados

Rango-----2.6-3.63 X 6.38x13.86

Promedio-----3.3x17.6

1 septados

Rango-----2.8-4.1 X 14.5-22

Promedio-----4.0x19.8

2 septados

Rango-----2.8-4.1 X 16x24.3

Promedio-----3.9x34.3

3 septados

Rango-----3.01-4.1 X 25.3-38.7

Promedio-----5.06x42.2

4 septados

Rango-----4.1-5.5 X 30.7x51.6

Promedio-----8.3x7.0

Clamidos-
poras

Rango-----8.0-11.0 X 6.0-9.4

Cuadro 7. PRUEBA DE PATOGENICIDAD DEL INOCULO EN VARIETADES DE LENTEJA

FICHA DE OBSERVACION

VARIEDAD: N°-----

Nombre:

Número de orígenes:

Origen

FECHA:													
Observación N°		1				2				3			
días de la inoc.		7				14				21			
Repeticiones		N° pl. %				Grado				N° pl. %			
Maceta N°		s/sin s/t				A E CH M				s/sin s/t			
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													

PRUEBA DE PATOGENICIDAD DEL INOCULO EN VARIEDADES DE LENTEJA

FICHA DE OBSERVACION

VARIEDAD: No-----

Nombre:

Número de origen:

Origen

[illegible]

Cuadro 8.- Comportamiento de variedades en la 1ª prueba.-

Variedad	Promedio %	Promedio "grado".
+ LB-016 01 Larissa	0	0
LB-003 33-071-10436 Ghazvin	100	1.68
LB-014 197-547	94	1.44
LB-018 120-33-68	94	1.50
LB-020 33-071-10903 209-97 Isfahan	81	1.19
LB-019 33-071-11175 176 Arasbarán	100	2.69
LB-010 X2 Bg	100	1.56
LB-013 33-071-10411 Moghan	80	0.63
+ LB-006 33-071-10437 Ghazvin	50	0.93
LB-004 33-071-10408 Ahar	75	1.56
LB-005 33-085-11147 127	69	1.06
LB-002 33-071-10428	100	1.44
LB-001 165-586	75	1.00
LB-007 33-153-10048 178-971	75	0.81
+ LB-008 11-5-4-3	25	0.50
+ LB-009 33-071-10425 Ahar	31	0.50
+ LB-017 84-61 Berlín	50	0.75
+ P.I. N° 374-121	50	0.69
+ P.I. N° 300-564	50	1.50
+ P.I. N° 289069	0	0
+ P.I. N° 163-589	50	0.69
+ P.I. N° 251-248	50	1.50
P.I. N° 297284	100	2.00
P.I. N° 297-777	81	1.62
+ P.I. N° 297-750	50	0.93
P.I. N° 320-946	93.7	1.56
+ P.I. N° 320-945	50	1.10
+ P.I. N° 329-168	50	1.06
+ P.I. N° 193546	0	0
P.I. N° 345-627	93	1.25

//

Cuadro 3.- (cont)

Variedad	Promedio %	Promedio "grado".
+ P.I. N°300-249	25	0.56
+ P.I. N°250-156	0	0
P.I. N° 319367	50	0.69
+ P.I. N°299-118	0	0
+ P.I. N°319-366	0	0
P.I. N°299-313	100	1.81
P.I. N°299-212	100	1.75
P.I. N°299-251	100	1.68
P.I. N°299-216	87	1.50
P.I. N°299-312	100	1.87
+ P.I. N°299-197	●	0
P.I. N°299-315	93	2.00
+ P.I. N°339-276	12	0.12
+ P.I. N°172-949	0	0
+ P.I. N°370-633	0	0
P.I. N°179-317	81	1.19
P.I. N°370-634	87	1.19
P.I. N°320-631	93	1.68
BENEWACH	75	1.19
TEKOA	93	1.81

Cuadro 9.-Comportamiento de variedades en la 2ª prueba.

Variedad	Promedio %	Promedio "grado"
+ LB-016 01 Larissa	50	0.50
LB-006 33-071-10437 Ghazvin	100	1.60
LB-008 L1-5-4-3	69	0.81
+ LB-009 33-071-10425 Ahar	50	1.00
LB-017 84-61 Merlin	93	1.56
P.I. N°374-121	100	1.20
P.I. N°300-564	87	2.06
P.I. N°289069	93	2.87
+ P.I. N°163-589	50	0.80
P.I. N°251-248	100	2.50
P.I. N°297-750	100	2.18
P.I. N°320-945	87	1.56
P.I. N°329-168	100	1.93
P.I. N°193546	100	1.81
P.I. N°300-249	100	2.50
P.I. N°250-156	100	2.10
P.I. N°319-367	93	1.68
+ P.I. N°299-118	50	1.00
P.I. N°219-366	93	1.93
P.I. N°299-197	100	2.25
P.I. N°339-276	100	2.70
P.I. N°172-949	100	2.39
+ P.I. N°370-633	50	1.00

32

Cuadro 10.-Comportamiento de variedades en la 3ª prueba.-

Variedad	Promedio %	Promedio "grado"
LB-016 01 Larissa	85	0.87
LB-009 33-071-10425	87	1.19
P.I. N°163-589	62.5	0.82
P.I. N°299-118	100	1.43
P.I. N°370-633	100	1.19

CONCLUSIONES.-

Del trabajo efectuado pueden extraerse las siguientes conclusiones:

1.-El hongo aislado Fusarium orthoceras Wollemweber es el causante de los síntomas de amarillamiento, enanismo, marchitamiento, y muerte en el cultivo de lenteja durante todas las etapas de su cultivo, siendo una amenaza y una de las causas principales de que este cultivo haya desaparecido en la R.O.U.

2.-El método de inoculación encontrado como el más efectivo para probar la patogenicidad del hongo consiste en reproducir abundante inóculo en medio de arena y maíz picado, volcarlo sobre tierra cubrir y sembrar arriba. Se observó que a los 7 días ya pueden aparecer algunos síntomas como el de enanismo.

3.-Las clamidosporas mostraron mayor poder infectivo en menor tiempo que los conidios.

4.-A medida que la temperatura aumenta, los síntomas aparecen en menor tiempo por encontrarse el hongo en el óptimo para su desarrollo y posterior ataque.

5.- Ninguna variedad demostró ser tolerante. Las variedades LB-016 N°01 y PI N°163-589 presentaron enanismo, y falta de desarrollo del sistema radicular como únicos síntomas y sería interesante probar que porcentaje del rendimiento se ve afectado por esta causa.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Adam, P.B., Lewis, J.A. Papavizas, G.C.-Survival of root infecting Fungi in soil III.-Phytopathology Vol.58 N°3 Pg.373.
- 2) Bagget, Frazier, W.A., Naugham, E.K.-Test of *Phaseolus* species for Resistance to *Fusarium* root rot.-Plant Disease Reporter Vol.49 N°7 Pg.630-33.1965.
- 3) Baker, R., Nash, Sh.-Ecology of plant pathogens in soil VI.-Phytopathology Vol.55 N°12.1965.
- 4) Bateman, S.-Pectic enzymes produced by *Fusarium solani* f.*phaseoli* in culture and associated with *Fusarium* infected bean tissues.-Phytopathology Vol.55 N°12 Pg.1283
- 5) Bayley Sleeth.-Relationship of *Fusarium nivium* to the formation of tyloses in melon plants.-Phytopathology Vol.23 N°1 Pg.33
- 6) Beckman, Carl H.-Host responses associated with the development of oak wilt.-Phytopatology Vol.43 Pg.448-454.
- 7) Burke, D.W.-The near immobility of *Fusarium solani* f.*phaseoli* in natural soils.-Phytopathology Vol.55 N°11 Pg.1188-1190.1965.
- 8) _____.-Root growth obstructions and *Fusarium* root rot of beans.-Phytopathology Vol.58 N°11 Pg.1575.1968.
- 9) _____.-Predisposition of bean plants to *Fusarium* root rot.-Phytopatology Vol.56 N°8 Pg.872.
- 10) Carrera y Noll.-La importancia de algunas especies de *Fusarium* en el pietín y marchitamiento de "*Lupinus albus*", *Lupinus angustifolius* y *Lens sculenta* en el Uruguay.-Anales de la Sociedad Científica Argentina 131(4) 1941.
- 11) Chohan, J.S.-Recent researches indicating breakthrough in the control of diseases like the wilt disease of gram through induced resistance by non-pathogens.-Symposium on wilt problem and breeding for wilt resistance in Bengal gram. (18-19 September, 1973). ABSTRACTS. Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.
- 12) Dongo, S.L.-Estudios sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f.*phaseoli* en el frijol.-IICA Centro de Enseñanza en Investigación Turrialba, Costa Rica, Diciembre 1967.

- 13)Gothoskar,S.S.,Scheffer,R.P.,Walker,J.C.,Stahman,M.A..-The role of enzymes in the development of Fusarium wilt of tomato.Phytopathology Vol.45 N°7 Pg.381-86 1955.
- 14)Izquierdo,J.,Morse,R.-First Selection for Wilt Resistance in Lentil(Lens culinaris Medikus) in Uruguay. LENS,Crop Development Centre,University of Saskatchewan.Saskatoon,Canada. Volume II 1975.
- 15)Jain,H.K.,Bahl,P.N.,Raju,D.B..-Wilt problem and some possible experimental approaches.Symposium on wilt problem and breeding for wilt resistance in Bengal Gram.(18-19 September,1973).ABSTRACTS.Division of Genetics,Indian Agricultural Research Institute,New Delhi.
- 16)Khare,M.N.,Neuma,K.G.,Kushwasha,L.S.-Control of wilt of Bengal gram through fungicides.-Symposium on wilt..... - Division of Genetics,Indian Agricultural Research Institute,New Delhi.
- 17)Lindford,M.B.-Studies of pathogenesis and resistance in pea wilt caused by Fusarium orthoceras var pisi.-Phytopathology Vol.21 Pg.797-825 1931.
- 18)_____ Transpirational history as a key to the nature of wilting in the Fusarium wilt of peas.-Phytopathology Vol.21 Pg.791-96 1931.
- 19)Nash,S.Christou,Th.,Snyder,W.C.-Existence of Fusarium solani f.phaseoli as clamidospore in soil.-Phytopathology Vol.5 N°55 Pg.308-12.
- 20)Papavizas,G.C.,Adam,P.B.,Lewis,J.A.-Survival of root infecting fungi in soil II.-Phytopathology Vol.55 N°12 Pg.365-72 1965.
- 21)_____ Survival of root infecting fungi in soil V.-Phytopathology Vol.58 N°4 Pg.414-20.
- 22)Peterson and Pound.-Host responses to the vascular infection.- Carl H.Beckman.Epidermis and controls, Van der Plank Pg.243.
- 23)Sanval and Waygood.-Vivotoxins and host responses.-Carl H. Beckman.Epidermis and controls, Van der Plank Pg.248.

- 24) Singh, D.V., Misra, A.N., Singh, S.N.-Sources of resistance to gram wilt and progress of breeding for wilt resistance in Bengal gram in U.P.-Symposium on wilt.... Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi. 18-19/9/973
- 25) Singh, K.B. and Dahiya, B.S.-Breeding for wilt resistance in Chick-pea.-Symposium on wilt....Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi.
- 26) Singh, D., Singh, S.N.-Breeding gram (*Cicer arietinum* L.) for resistance to wilt.-Symposium on wilt....Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi. 18-19/9/973.
- 27) Sinha, S.-Some factors of the soil in relation to Fusarium wilt of Bengal gram (*Cicer Arietinum* L.).-Symposium on wilt.. Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi. 18-19/9/973.
- 28) Subba Rao, N.S.-Etiology of Pathological wilting in plants.- Symposium on wilt...Division of Genetics, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi. 18-19/9/973.
- 29) Vasudeva and Srinivasan.-Studies on the wilt disease of lentil (*Lens esculenta* Moench).-(April 30 1952). D.N. of Mycology and Plant pathology. Ind.Agr.Res.Inst.New Delhi.
- 30) Vishnu, P., Bhide and Uppal, B.N.-A new Fusarium disease of lang, (*Lathyrus sativus*).Phytopathology Vol.38 Pg.560-67 1948.