

ESTUDIOS SOBRE HONGOS PARASITOS DE GRAMINEAS DE LA REPUBLICA MEXICANA. V. EFECTO DE DISTINTAS FUENTES DE CARBONO EN *FUSARIUM MONILIFORME* SHELDT.

MARTHA ZENTENO ZEVADA

Sección de Fitopatología, del Instituto de Biología
Universidad Nacional Autónoma de México.

Uno de los puntos de estudio más importante sobre los hongos y que en la actualidad es abordado por numerosos investigadores, es lo que se refiere a su fisiología. Entre los diversos aspectos de la fisiología, la utilización de las distintas fuentes de carbono en la nutrición de los hongos, así como los efectos que éstas puedan tener sobre los mismos, son de gran interés y relativamente han sido poco estudiados. Bloss y Crittenden,² probaron diferentes azúcares y aminoácidos en la producción de micelio de la especie *Diaporthe phaseolorum* var. *sojæ*, encontrando que entre los azúcares que ellos usaron, los mejores fueron la galactosa y la levulosa. Malca *et al.*,⁸ emplearon distintas fuentes de carbono para el crecimiento de *Verticillium albo-atrum* encontrando que la L-arabinosa y la maltosa dieron el mayor crecimiento. Probando distintos compuestos de carbono en la nutrición de *Darluca filum*, los autores Nicolás y Villanueva,¹⁰ reportan como buenas fuentes de carbono para dicho hongo, manosa, xilosa y glucosa, siguiendo manitol, fructosa, almidón, dextrina, maltosa, galactosa y sacarosa. Caltrider y Gottlieb³ estudiaron el papel de diferentes sustancias con carbono en la germinación de teliosporas de *Ustilago maydis*, habiendo obtenido una buena germinación con sacarosa, rafinosa y melecitosa. Anwar¹ obtuvo varios tamaños de conidios en un cultivo de *Helminthosporium* variando la cantidad de azúcar. Usó glucosa y resultó que la dimensión de los conidios fue inversamente proporcional a la cantidad de azúcar y por el contrario, el número de células del conidio directamente proporcional. Horne y Mitter⁵ es-

tudiando los factores que determinan distintas estructuras en los macroconidios en especies distintas de *Fusarium*, encontraron que, aumentando en el medio la concentración de glucosa, se redujo la capacidad de esporulación o el número promedio de septos en la espora, o ambos factores. Maloy⁹ observó diferencias de la forma conidial (C) y la forma micelial (M) de *Fusarium solani* f. *phaseoli* en su utilización de distintos carbohidratos. Cochrane *et al.*⁴ estudiando las sustancias que necesitan los macroconidios de *Fusarium solani* f. *phaseoli* para su germinación, determinaron como necesaria, entre otras sustancias, una fuente de carbono. Wolf,¹² cultivó en medios sintéticos con distintas fuentes de carbono la especie *Fusarium oxysporum* var. *nicotianae* y halló que la glucosa y la maltosa dieron un mayor crecimiento; sin embargo, la levulosa fue convertida en material celular con más eficacia que otro azúcar. López y Fergus⁷ estudiaron la nutrición de *Fusarium roseum*; en sus resultados las mejores fuentes de carbono para la producción de micelio en peso seco, fueron xilosa, galactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa y almidón.

En el presente trabajo se emplearon diferentes fuentes de carbono para observar el crecimiento del micelio de un aislamiento monospórico de *Fusarium moniliforme*.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó un aislamiento monospórico de *Fusarium moniliforme*, que se hizo de una mazorca de maíz procedente de la región del Bajío, sin localidad exacta. El aislamiento se

obtuvo usando primero como medio de cultivo papa dextrosa agar, las resiembras posteriores se hicieron en Sabouraud dextrosa agar y este medio se continuó usando durante todo el tiempo del trabajo para conservar la cepa y para inocular las distintas fuentes de carbono que se probaron.

El medio basal que se utilizó fue el siguiente:⁶

Fuente de carbono	10 g
Asparagina	2 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
Fe+++	0.2 mg
Zn++	0.2 mg
Mn++	0.1 mg
Biotina	5.0 µg
Tiamina	100.0 µg
Agua destilada hasta	1 000.0 ml

Las fuentes de carbono que se probaron fueron las que se dan a continuación, en la proporción de 10 g de carbono por litro de medio, según se ve en la fórmula anterior.

L(+) arabinosa
 D(-) levulosa
 D(+) xilosa
 l(+) ramnosa
 d(+) glucosa
 d(+) manosa
 D(+) galactosa
 l-sorbosa
 d(+) maltosa
 lactosa
 sacarosa
 d(+) rafinosa
 almidón
 d-manitol
 d-sorbitol
 sin carbono

El medio se preparó al doble de la concentración deseada, con todas las substancias menos la fuente de carbono; se ajustó el pH a 6.0 utilizando para ello 0.1N HCl ó 0.1N NaOH; después, por medio de una pipeta, se repartió en tubos de cultivo poniendo 10 ml en cada tubo. Las fuentes de carbono se prepararon aparte, también al doble de concentración de la deseada, 10 g de carbono por litro de medio, en matraces Erlenmeyer de 250 ml, poniendo 10 ml por cada matraz, se tomó el pH que en todos los casos fue de 6.0 y no hubo necesidad de ajustarlo. Tanto los matraces con las fuentes de carbono como los tubos con el medio basal, se esterili-

zaron al autoclave a 15 libras de presión durante 20 minutos. Después se añadió a cada matraz con la fuente de carbono, 10 ml del medio basal puestos en los tubos, lo cual se hizo a la flama para evitar contaminaciones, de manera que en cada matraz quedaron 20 ml del medio deseado. Para cada fuente de carbono se prepararon 3 matraces, así como del medio control sin carbono.

El inóculo se preparó en tubos inclinados con Sabouraud dextrosa agar y se incubó a temperatura ambiente durante 7 días. Pasado ese tiempo, a uno de los tubos se le agregó agua destilada esterilizada y moviendo un poco con el asa microbiológica, se hizo una suspensión de esporas y micelio, de la cual, en forma aséptica, se pasó una asada a cada matraz.

Los matraces se incubaron en una estufa a 25°C durante 14 días y en cultivo estacionario. Al cabo de ese tiempo, de los 3 matraces de cada medio se separó el micelio, para lo cual se filtró el cultivo en discos de papel filtro Eaton-Dikerman Company grado 609, previamente tarado, lavando dos veces cada cultivo a través del papel filtro, con agua destilada esterilizada; después se secó el micelio en una estufa a 55°C hasta peso constante, registrando así el crecimiento del micelio, en peso seco, el cual se obtuvo por el promedio de las 3 repeticiones en cada caso.

RESULTADOS Y DISCUSION

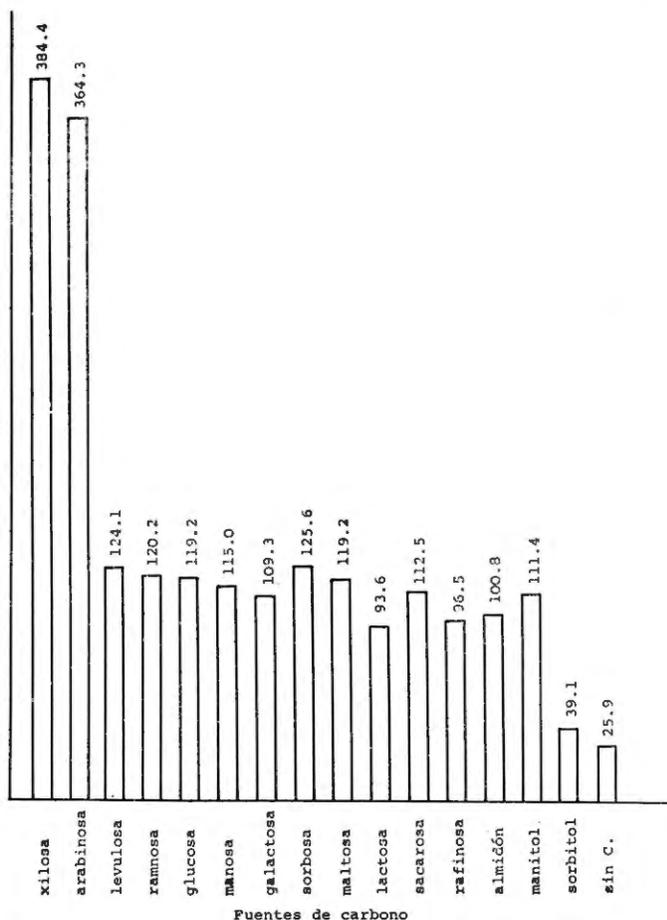
El mayor crecimiento de micelio, en peso seco, se obtuvo con xilosa, o sea que en las condiciones de este experimento ésta fue la mejor fuente de carbono para *Fusarium moniliforme*. En segundo lugar, la arabinosa que dio un valor muy cercano al de la xilosa, siendo ambas substancias monosacáridos del grupo de las pentosas. Con la xilosa se ha tenido un resultado similar en la especie *Fusarium roseum*,⁷ la cual fue una de las substancias carbonadas que dio mayor crecimiento, así como en la especie *Fusarium oxysporum* var. *nicotianae*,¹² en la que la maltosa y la xilosa dieron mayor crecimiento que las otras fuentes de carbono empleadas. En las pruebas hechas en *Darluka filum*,¹⁰ la xilosa ocupó el segundo lugar estando precedida por la manosa, pero con un valor muy cercano.

Con la arabinosa, como ya se dijo antes, el crecimiento de micelio en *Fusarium moniliforme* fue muy semejante al de la xilosa; este resultado concuerda con el reportado para *Verticillium albo-atrum*,⁸ en que la arabinosa y la maltosa fueron las mejores fuentes de carbono. Los otros compuestos usados en este estudio dieron un valor mucho menor que la xilosa y la arabinosa, pues como se puede ver en los resultados del Cuadro 1 y de la Gráfica 1, con excepción de los dos azúcares antes mencionados, las demás sustancias dieron valores muy bajos, y aunque en todas creció el hongo, el rendimiento de micelio, en peso seco, fue muy cercano al del medio control sin carbono. El menor creci-

miento se obtuvo con sorbitol, en el cual la producción de micelio resultó casi nula y con muy poca diferencia con el testigo.

En *Fusarium roseum*,⁷ entre las sustancias carbonadas que soportaron una mayor cantidad de micelio, están la galactosa, sacarosa, rafinosa y almidón; en cambio en *Fusarium moniliforme*, según los resultados en este trabajo, dieron un crecimiento bastante pobre.

Es interesante el hecho de que en tres especies distintas de *Fusarium*^{12, 7} y en este experimento, la xilosa se comportó como una buena fuente de carbono; sin embargo, tanto en *Fusarium oxysporum* var. *nicotianae*¹² como en *Fusarium roseum*,⁷ la maltosa también



Gráfica N° 1. Peso seco de micelio, en mg, de *Fusarium moniliforme* en distintas fuentes de carbono.

sostuvo un crecimiento muy semejante a la xilosa, en cambio en *Fusarium moniliforme*, en este trabajo, la maltosa dio un crecimiento muy pobre, comparado con la xilosa. Sería importante probar las otras especies de *Fusarium* en distintas fuentes de carbono, con objeto de ver si se pueden sacar algunas conclusiones; además es recomendable unificar las técnicas de trabajo, ya que las diferencias en resultados, al menos en parte, se pueden deber al empleo de distintos métodos de estudio y técnicas.

CUADRO 1

Peso seco de micelio en mg. de un aislamiento monospórico de *F. moniliforme*, a los 14 días en cultivo estacionario, en medio líquido, a 25°C.

Nombre del compuesto	mg	Tipo de substancia
D(+) xilosa	384.4	monosacárido pentosa
L(+) arabinosa	364.3	" "
D(-) levulosa	124.1	" "
I(+) ramnosa	120.2	" "
d(+) glucosa	119.2	" exosa
d(+) manosa	115.0	" "
D(+) galactosa	109.3	" "
l-sorbosa	125.6	" "
d(+) maltosa	119.2	disacárido
lactosa	93.6	" "
sacarosa	112.5	" "
d(+) rafinosa	96.5	trisacárido
almidón	100.8	polisacárido
d-manitol	111.4	alcohol
d-sorbitol	39.1	" "
sin carbono	25.9	

RESUMEN

Se estudió la nutrición de *Fusarium moniliforme* Sheld. en distintas fuentes de carbono, para lo cual se utilizó un aislamiento monospórico del hongo. Las sustancias usadas en la prueba fueron levulosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, glucosa, manosa, galactosa, sorbosa, maltosa, lactosa, sacarosa, rafinosa, almidón, sorbitol, medio basal sin carbono como testigo, agregadas al medio basal en la proporción de 10 g de carbono por litro de medio. Se usaron medios líquidos y los hongos se incubaron en cultivo estacionario durante 14 días a 25°C. El mayor rendimiento de micelio, en peso seco, se obtuvo con xilosa y arabinosa.

SUMMARY

Nutrition of *Fusarium moniliforme* Sheld. in different carbon sources was studied; it was used a monosporic isolation of the fungus. The substances used in the test were levulose, arabinose, rhamnose, xylose, glucose, mannose, galactose, sorbose, maltose, lactose, sucrose, raffinose, starch, sorbitol, synthetic basal medium with the carbon source at the rate of 10 g per liter. All were liquid media in stationary cultures and were incubated for 14 days at 25°C. The highest yield of micelia in dry weight was obtained with xylose and arabinose.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anwar, A. A. 1949. Factors affecting the survival of *Helminthosporium* and *Fusarium* line. *Phytopathology*, 39: 1005.
- Bloss, H. E. & H. W. Crittenden. 1966. Effect of aminoacids and sugars on growth of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojæ* in liquid culture. *Phytopathology*, 56: 92-94.
- Caltrider, P. G. & D. Gottlieb. 1966. Effect of sugars on germination and metabolism of teliospores of *Ustilago maydis*. *Phytopathology*, 56: 479-484.
- Cochrane, J. C., V. W. Cochrane, F. G. Simon & J. Spaeth. 1963. Spore germination and carbon metabolism in *Fusarium solani*. I. Requirements for spore germination. *Phytopathology*, 53: 1155-1160.
- Horne, A. S. & J. H. Mitter. 1927. Studies in the genus *Fusarium*. V. Factors determining septation and other features in the section *Discolor*. *Ann. Bot.* 41: 519-547.
- Lilly, V. G. & H. L. Barnett. 1951. *Physiology of the Fungi*. 1st Ed. MacGraw-Hill Book Co. Inc.
- López, M. E. & C. L. Fergus. 1965. The carbon and nitrogen nutrition of *Fusarium roseum*. *Mycologia*, 57: 897-903.
- Malca, I. D. C. Erwin, W. Moje, and B. Jones. 1966. Effect of pH and carbon and nitrogen sources on the growth of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, 56: 401-406.
- Maloy, O. C. 1960. Physiology of *Fusarium solani* f. *phaseoli* in relation to saprophytic survival in soil. *Phytopathology*, 50: 56-61.
- Nicolás, G. & J. R. Villanueva. 1965. Physiological studies on the rust hyperparasite *Darlucania filum*. I. Carbon and nitrogen nutrition. *Mycologia*, 57: 782-788.
- Sherbakoff, C. D. 1915. *Fusaria* of potatoes. New York (Cornell) Agr. Exp. Sta. Mem. 6.
- Wolf, F. T. 1955. Nutrition and metabolism of the tobacco wilt *Fusarium*. (Abstr.) *Phytopathology*, 45: 350.