



Revista Mexicana de Fitopatología

ISSN: 0185-3309

mrlegarreta@prodigy.net.mx

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

México

Velázquez-Barrón, María de los Ángeles; Lozoya-Gloria, Edmundo; Fuentes-Dávila, Guillermo  
Inducción de Posibles Fitoalexinas en Trigo (*Triticum* spp.) y su Efecto en el Crecimiento del Hongo  
Estimulador *Tilletia indica* Mitra

Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 24, núm. 1, enero-junio, 2006, pp. 35-41

Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224106>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## Inducción de Posibles Fitoalexinas en Trigo (*Triticum* spp.) y su Efecto en el Crecimiento del Hongo Estimulador *Tilletia indica* Mitra

**María de los Ángeles Velázquez-Barrón**, Instituto Tecnológico de Sonora, División de Ingeniería y Ciencias Biológicas, 5 de Febrero 818 Sur, Cd. Obregón, Sonora, México CP 85000; **Edmundo Lozoya-Gloria**, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, km 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, Apdo. Postal 629, Irapuato, Guanajuato, México CP 36500; y **Guillermo Fuentes-Dávila**, CIMMYT, km 12 Norman E. Borlaug entre 800 y 900 Valle del Yaqui, Apdo. Postal 140, Cd. Obregón, Sonora, México CP 85000 (Dirección actual: INIFAP-CIRNO, Apdo. Postal 515). Correspondencia: fuentes.guillermo@inifap.gob.mx; guillermofuentes\_davila@hotmail.com; elozoya@ira.cinvestav.mx

(Recibido: Abril 24, 2006 Aceptado: Junio 26, 2006)

Velázquez-Barrón, M.A., Lozoya-Gloria, E. y Fuentes-Dávila, G. 2006. Inducción de posibles fitoalexinas en trigo (*Triticum* spp.) y su efecto en el crecimiento del hongo estimulador *Tilletia indica* Mitra. Revista Mexicana de Fitopatología 24:35-41.

**Resumen.** El crecimiento del hongo *Tilletia indica* fue afectado por extractos de plántulas de las variedades de trigo harinero Bacanora T-88 y cristalino Altar C-84, previamente estimuladas con diversas preparaciones del micelio del mismo hongo. El mayor efecto inhibitorio se obtuvo con el filtrado de las plántulas estimuladas con una preparación del micelio esterilizado por microfiltración en comparación con esterilización por autoclave. Este efecto inhibitorio puede deberse a la presencia de fitoalexinas en estas plántulas, producidas como defensas químicas ante el contacto con derivados del hongo.

Palabras clave adicionales: Carbón parcial, *Neovossia indica*, trigo harinero, *Triticum aestivum*, trigo cristalino, *Triticum durum*, Bacanora T-88, Altar C-84.

**Abstract.** Growth of the fungus *Tilletia indica* was affected by seedling extracts from bread wheat cultivar Bacanora T-88 and durum wheat cultivar Altar C-84, which were previously stimulated by different fungal mycelia preparations. The greatest inhibitory effect was obtained with the extract from seedlings elicited with mycelia microfiltration instead of autoclaved sterilized mycelia preparation. This inhibitory effect may be due to plant phytoalexins produced as chemical defense against some derived fungal products.

Additional keywords: Partial bunt, *Neovossia indica*, bread wheat, *Triticum aestivum*, Durum wheat, *Triticum durum*, Bacanora T-88, Altar C-84.

El trigo se siembra en casi todos los Estados de la República Mexicana y se adapta tanto a tierras pobres en nutrientes, como a tierras ricas, zonas húmedas, semi-secas y secas. Las zonas trigueras más importantes en México son: Sonora, Sinaloa, Baja California (Norte y Sur), el Bajío y Valles Altos en la parte central de México. Hasta 1997 se tuvieron 687,000 ha de trigo bajo riego y 225,000 ha de temporal (Villaseñor Mir, 2000). El carbón parcial (*Tilletia indica* Mitra), reportado originalmente en la India (Mitra, 1931) es la enfermedad más importante del grano de trigo (*Triticum* sp.) en el noroeste de México. Los síntomas se presentan después del estado masoso del grano. En esta enfermedad, no todas las espigas de la planta, ni todos los granos de una espiga son infectados, y su distribución es al azar. La gravedad de la enfermedad puede variar desde puntos pequeños de infección hasta la afectación total del grano (Bedi *et al.*, 1949; Mitra, 1935). En la mayoría de los casos, los granos infectados son parcialmente dañados aunque en ocasiones pueden llegar a una destrucción total. Los granos parcialmente infectados pueden producir plantas sanas; sin embargo, los granos severamente afectados conservan sana sólo una pequeña porción de la región cóncava dorsal y la penetración del hongo al embrión no necesariamente causa daño; pero pueden perder su viabilidad o presentar una germinación anormal (Chona *et al.*, 1961; Mitra, 1935; Rai y Singh, 1978). Durante la trilla del trigo, las teliosporas de *T. indica* que se encuentran adheridas bajo el pericarpio de la semilla son liberadas, depositándose en el

suelo o adhiriéndose a los granos sanos como contaminante externo. También pueden ser diseminadas a otros campos por medio del viento (Bedi *et al.*, 1949; Mitra, 1935; Mundkur, 1943). Condiciones de alta humedad relativa, temperaturas moderadas y lluvia durante la floración, favorecen el desarrollo de la enfermedad (Aujla *et al.*, 1977; Mundkur, 1943; Singh y Prasad, 1978). Al exceder los niveles de grano infectado más del 3%, se alteran las características organolépticas de la harina (Peña *et al.*, 1992). Estos factores así como las regulaciones y cuarentenas establecidas a nivel nacional e internacional, afectan la economía de los agricultores y productores de semilla y el intercambio de germoplasma experimental (Brennan *et al.*, 1992; Delgado, 1984; SAGAR, 1987, 1995). Se calcula que el costo económico anual debido a esta enfermedad en el noroeste de México es de 7.02 millones de dólares (EUA), representando el 2% del valor promedio del cultivo en las áreas afectadas (Brennan *et al.* 1992). En el programa de mejoramiento se han identificado fuentes de resistencia genética mediante inoculaciones artificiales (Fuentes-Dávila y Rajaram, 1994), las cuales se están utilizando como progenitores dando lugar a la liberación de algunas variedades comerciales de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) con resistencia a la enfermedad (Barreras-Soto, 1995; Camacho *et al.*, 1993; 1998). A pesar de estos avances y aunque estudios genéticos indican que 8 genes confieren resistencia al hongo (Fuentes-Dávila *et al.*, 1995), se desconocen cuáles son los mecanismos de resistencia que pudieran estar actuando en esta interacción. Las fitoalexinas son compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular, sintetizados y acumulados en la planta después de su exposición a microorganismos o estímulos similares (Darvill y Albersheim, 1984). Se ha demostrado que en plantas resistentes, su acumulación causa inhibición del crecimiento de hongos y que tienen efectos bacteriostáticos y bactericidas (Smith, 1982). Algunos compuestos de la pared celular de ciertos hongos desempeñan un papel importante como estimuladores exógenos para la producción de fitoalexinas. Se sabe que estos estimuladores tienen diferentes grados de especificidad, algunos son específicos para determinadas plantas y se conocen como factores de avirulencia y otros son indeterminados y reconocidos por varias especies de plantas. Por ejemplo, algunos péptidos fúngicos son estimuladores específicos, pero los fragmentos de quitina se consideran como estimuladores indeterminados reconocidos por tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), trigo y arroz (*Oryza sativa* L.). Se han descrito algunos estimuladores reconocidos sólo por cereales como NIP1 y YAMO similares a productos del gen *Avr2*, la siringolina que es un péptido de *Pseudomonas syringae* van Hall, glicopéptidos de *Puccinia graminis* Pers.:Pers. y de *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr., y carbohidratos solubles con residuos de manosa de *Blumeria graminis* (DC.) Speer (Lintle and Van der Westhuizen, 2002; Schweizer *et al.* 2000). Otros factores pueden estimular respuestas de defensa en plantas como el aluminio en trigo (Hamel *et al.*, 1998).

Algunos de estos estimuladores pueden ser liberados por medio de tratamientos sencillos como calor y filtración, o bien, por las enzimas presentes constitutivamente en la paredes celulares vegetales como las  $\beta$ -glucanasas y quitinasas (Cano-Camacho, 1993). La producción de fitoalexinas como una respuesta inducida de defensa química, plantea interesantes alternativas para la prevención de enfermedades provocadas por patógenos en las plantas. Tienen la ventaja de ser biodegradables, y por lo tanto, pueden usarse como complemento o sustituto de los pesticidas sintéticos y por ser de origen biológico generalmente no dejan residuos. Por tal motivo, resulta importante el estudio de las fitoalexinas, ya que abre paso a nuevas investigaciones para inducir defensas en las plantas y disminuir el riesgo de enfermedades causadas principalmente por microorganismos patógenos (Lozoya *et al.*, 1991). Ya que se han identificado líneas y variedades de trigo resistentes y susceptibles al carbón parcial (Fuentes-Dávila, 1992; Fuentes-Dávila y Rodríguez-Ramos, 1993; Fuentes-Dávila *et al.*, 1993; Fuentes-Dávila y Rajaram, 1994), los objetivos de este estudio fueron: a) Evaluar el efecto estimulador del micelio del hongo *Tilletia indica* y de compuestos liberados de ese micelio, para inducir la producción de fitoalexinas en una variedad de trigo harinero (*Triticum aestivum*) susceptible al carbón parcial (Bacanora T-88), y de trigo cristalino (*Triticum durum* Desf.) resistente a la enfermedad (Altar C-84); y b) determinar el efecto de las fitoalexinas inducidas en el desarrollo del mismo hongo estimulador.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención del micelio del hongo a partir de teliosporas.

Las teliosporas de *Tilletia indica* se obtuvieron raspando granos de trigo infectados; se colectaron en agua destilada con surfactante (Tween 20, 1 gota/L), y se dejaron reposar por 24 h. Posteriormente, la suspensión se filtró en un tamiz de nylon con malla de 60  $\mu$ m y se centrifugó a 3000 rpm. El sedimento se desinfectó con hipoclorito de sodio 10% por 2 min y se lavó 3 veces por centrifugación con agua destilada estéril. Las teliosporas se mantuvieron suspendidas en agua con surfactante hasta el momento de la siembra, para lo cual se pasaron a agua pura, se sembró 1 mL de la suspensión en agar-agua al 2% y se incubó a 20-24°C con un fotoperíodo de 14 h durante 6-8 días. Para multiplicar el hongo y obtener esporidios secundarios, se depositaron bloques de agar con teliosporas germinadas en tapas de cajas Petri con medio papa-dextrosa-agar (PDA) en la base, y se incubaron a 20-24°C con un fotoperíodo de 14 h durante 10-14 días. Se agregó un poco de agua destilada estéril sobre las colonias formadas y se rasparon con una espátula estéril. Se inoculó 1 mL de esta suspensión en nuevas cajas con PDA y se incubaron durante 5-7 días. Para obtener suficiente micelio del hongo, se cortaron bloques de agar conteniendo micelio y se agregaron a cuatro matraces de 250 mL con caldo de levadura-malta previamente esterilizado. Posteriormente, se incubaron en agitación durante 5 días a temperatura ambiente

(22-24°C), y se dejaron reposar tres días a 24°C. Después, se filtró el micelio al vacío en un embudo de vidrio con papel Whatman No. 1, recuperándose 25 g del micelio (6 g / matraz) y 1 L del caldo filtrado.

**Preparación de estimuladores de fitoalexinas a partir del micelio del hongo.** El micelio obtenido se homogeneizó con 25 mL de agua destilada estéril en una licuadora durante 10 min a máxima velocidad. Independientemente, el caldo filtrado se concentró hasta la décima parte del volumen original (100 mL) calentando a 40°C. Ambas preparaciones se filtraron nuevamente y se dividieron en dos partes iguales, una se esterilizó en autoclave (121°C y 15 libras/pulgada<sup>2</sup> por 15 min) y la otra con un microfiltro Nalgene de 0.2 MC. En todos los casos, el volumen obtenido se llevó a 100 mL con agua destilada estéril y se guardó a 4-8°C hasta su uso posterior. Estas preparaciones se denominaron como: micelio esterilizado en autoclave (MA), micelio esterilizado en microfiltro (MM), caldo esterilizado en autoclave (CA) y caldo esterilizado en microfiltro (CM).

**Tratamiento del material vegetal con los estimuladores del hongo.** Las variedades de trigo harinero utilizadas fueron Bacanora T-88, y la variedad de trigo duro fue Altar C-84. Se seleccionaron 100 semillas sanas de cada variedad, y se dejaron en reposo en agua destilada durante 24 h aproximadamente. Posteriormente, se lavaron con detergente comercial eliminando la tierra adherida enjuagando varias veces con agua destilada. Las semillas se agitaron durante diez min con 5 mL de hipoclorito de sodio al 4% y se lavaron con agua destilada estéril para eliminar los residuos del cloro, repitiendo todo el procedimiento tres veces. Una vez desinfectadas las semillas y con la ayuda de una espátula estéril, se sembraron en cajas de Petri estériles con 6 mL de agar-agar al 2% colocando el área del embrión en contacto con el agar. Las semillas germinadas diez días después a partir de la siembra, se pusieron en agua estéril (5 semillas/50 mL) y se sometieron a agitación lenta a 22-24°C durante una semana. Posteriormente, se les añadieron 1.5, 2.5 y 5.0 mL de cada preparación de estimulador fúngico (MA, MM, CA y CM) y de agua destilada estéril como testigo. Se incubaron durante 48 h a 22-24°C en agitación lenta, y posteriormente se recuperaron las plántulas y los líquidos por filtración. Se realizaron cinco repeticiones de cada variedad con diez semillas, evaluándose el tamaño de la plántula (parte aérea) y longitud de la raíz a los diez días de siembra (datos no publicados).

**Ensayo de las posibles fitoalexinas en el crecimiento del hongo.** Las plántulas de cada tratamiento se maceraron en un mortero con etanol 80%, el extracto se filtró y se evaporó a sequedad. Los líquidos en donde se incubaron las plántulas se evaporaron a 40°C hasta la sequedad. Ambos residuos se recuperaron por separado en 1 mL de cloroformo y se mezclaron con 20 mL de PDA en cajas de Petri. Como testigo se utilizó 1 mL de cloroformo puro. En el centro de estas cajas de Petri se colocaron fragmentos discoidales de la colonia del hongo, de aproximadamente 7 mm de diámetro y

se midió el crecimiento radial a los 15 días de incubación a 20-24°C con un fotoperíodo de 14 h.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Obtención de los estimuladores a partir del micelio y del medio de cultivo.** A los 7 días de iniciada la incubación del hongo en 250 mL caldo de levadura-malta comercial en agitación, se obtuvieron 6 g de micelio algodonoso en la superficie del caldo (Fig. 1). Para la obtención de los estimuladores se utilizó el micelio de *T. indica* y el caldo de cultivo. Debido a que la alta temperatura de esterilización podría destruir compuestos estimulantes de la producción de fitoalexinas, se utilizó un microfiltro de 0.2 MC para eliminar microorganismos contaminantes, permitiendo la conservación de componentes potencialmente estimulantes presentes en el caldo. En la Figura 2 se muestran los aspectos de los 4 estimuladores obtenidos: El CA fue de color café oscuro; el



Fig. 1. Micelio de *Tilletia indica* en caldo de levadura-malta crecido en agitación por 5 días a 22-24°C y tres días en reposo a 24°C.

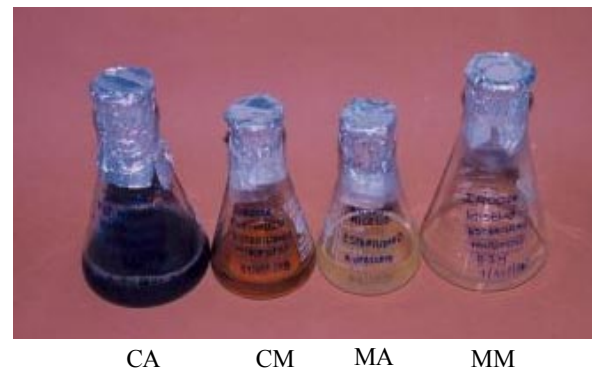


Fig. 2. Estimuladores fúngicos obtenidos del hongo *Tilletia indica*. (CA) caldo de cultivo esterilizado en autoclave. (CM) caldo de cultivo esterilizado por microfiltración. (MA) micelio del hongo macerado y esterilizado en autoclave. (MM) micelio del hongo macerado y esterilizado en microfiltro.

CM presentó una coloración café claro y transparente; el MA presentó una coloración amarilla clara con pequeñas partículas en forma de grumos y el MM presentó una coloración amarilla clara semi-transparente. Con estos tratamientos se obtuvieron compuestos estimuladores derivados de las paredes celulares del hongo. Se ha encontrado que estos compuestos se pueden recuperar de filtrados de cultivos fúngicos, y ya se han aislado estimuladores de este tipo a partir de hongos fitopatógenos entre los que destacan *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Phytophthora megasperma* Drechs., *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Uromyces appendiculatus* (Pers.:Pers.) Unger y *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. y Magnus) Lams.-Scrib., entre otros. Estos estimuladores se obtuvieron en forma más o menos cruda a partir de filtrados del medio de cultivo en donde crecieron los hongos, o por tratamiento de su pared celular con calor (Anderson y Albersheim, 1975; Ayers *et al.*, 1976; Hadwiger y Beckman, 1980). La presencia de enzimas hidrolíticas en las paredes celulares de hongos, permiten la formación de estos fragmentos estimuladores como las  $\beta$ -glucanas. Existen reportes de una  $\beta$ -glucana altamente ramificada purificada del hongo *P. megasperma*, la cual indujo resistencia a virus en tejidos de siete especies de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), cuando fue rociada, inoculada o inyectada antes, durante, o dentro de las primeras 8 h después de la incubación de hojas de tabaco con partículas virales. La glucana fue efectiva contra varios tipos de virus, incluyendo el Virus del Mosaico del Tabaco (VMT), Mosaico de la Alfalfa (VMA) y Virus del Anillo del Tomate (VAT) (Cano-Camacho, 1993). Se han reportado algunos microorganismos que inducen mecanismos de defensa en trigo como conidios de *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (DC.) Speer. Éstos contienen un estimulador fácilmente lavable de la superficie que es termoestable y resistente a la extracción por fenol, pero sensible a la oxidación con periodato y a la hidrólisis ácida parcial. Esto sugiere que la actividad estimuladora es debida a residuos de carbohidratos siendo probablemente manosa el más importante (Schweitzer *et al.*, 2000). Para el caso específico de *Tilletia indica*, se ha reportado la caracterización parcial de glicoproteínas inmunoreactivas en la pared de la teliospora. Una proteína similar se encontró en *T. barclayana* (Bref.) Sacc. y Syd. pero no en *T. controversa* Kühn ni en *T. tritici* (Bjerk.) G. Wint. Aparentemente, el residuo de carbohidrato de la glicoproteína de *T. indica* es específico y permite diferenciar entre distintas cepas de *Tilletia*, aunque no se le ha demostrado actividad estimuladora de mecanismos de defensa en plantas (Luster *et al.*, 1998). También se ha observado que el tratamiento de hojas de trigo (*Triticum aestivum*) cv. Sideral con trealosa, un disacárido no reductor presente normalmente en muchos organismos incluyendo los hongos, reducen entre 50% y 95% el grado de la infección producido por *B. graminis* f. sp. *tritici*. Este tratamiento aparentemente resulta en la activación de las defensas de la planta evitando la deposición de la papila fúngica, y elevando las actividades de las enzimas

fenilalanina amonio liasa (FAL) y peroxidasa (PO), conocidos marcadores de respuestas de defensas en plantas (Reignault *et al.*, 2001).

**Efecto de las fitoalexinas obtenidas de las plantas en el crecimiento del hongo.** El crecimiento radial de las colonias del hongo en las cajas utilizadas como testigos mostraron en general un crecimiento mayor comparado con los tratamientos diversos. En la Figura 3 se resumen los resultados obtenidos del crecimiento del hongo en presencia de los extractos de plántulas y filtrado de plántulas de Bacanora T-88 y de Altar C-84, cuando éstas fueron tratadas con los diversos volúmenes de las preparaciones de los estimuladores fúngicos. En todos los casos se tomó como 100% del crecimiento del hongo, la medida radial obtenida en medio con agua. Para cada volumen de estimulador aplicado hubo un testigo igual de agua que se usó para ajustar los datos en cada caso. Los valores que indican un crecimiento mayor al 100% significan que el hongo creció más en el medio con los extractos de plántulas o residuos de los filtrados de plántulas que con agua solamente. Esto puede deberse a que en esos extractos o filtrados se encuentran algunos nutrientes o sustancias que si no estimulan, tampoco inhiben el crecimiento del hongo y que fueron extraídas con cloroformo, como pueden ser algunos ácidos grasos, hormonas vegetales como brasinosteroides, etc. Se ha reportado que especies susceptibles (ej. *Triticum aestivum*) y resistentes (ej. *Triticum timopheevii* Zhuk.) de trigo, responden con un incremento o decremento respectivamente del crecimiento de plántulas ante el ataque del hongo *Tilletia caries* (DC.) Tul. y C. Tul. La concentración de ácido indolacético (AIA) también se incrementó en ambas especies siendo más rápida la acumulación en *T. timopheevii*. Una alta concentración de ácido abscísico (AAB) permaneció por más tiempo en las especies susceptibles que en las resistentes; pero en éstas últimas, el incremento de AAB fue transitorio y aparentemente asociado con el incremento en los mecanismos de defensa (Maksimov *et al.*, 2002). Algunas de estas sustancias podrían también haber afectado el crecimiento del hongo dando las diferencias observadas con el testigo de agua. El único caso en donde no hubo un crecimiento mayor al 100% fue en donde el estimulador fúngico utilizado era el caldo de cultivo microfiltrado (CM). Además, en este caso se observa que conforme aumentó el volumen aplicado del estimulador, aumentó también la inhibición en el crecimiento del hongo. Esto sugiere que al aumentar la concentración del estimulador, se produjo una reacción de defensa de la planta de mayor intensidad, provocando muy probablemente la producción de más fitoalexinas o sustancias inhibitorias. También es notable que los filtrados de las plántulas tuvieron un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento del hongo que los extractos de plántulas, siendo el filtrado de plántulas de la variedad de trigo Altar C-84 el que tuvo el efecto inhibitorio más intenso (29% del máximo). Considerando todos los datos, pudo observarse una tendencia hacia un mayor efecto inhibitorio en los casos en donde se aplicó el estimulador fúngico, ya sea micelio o caldo de cultivo, pero microfiltrado

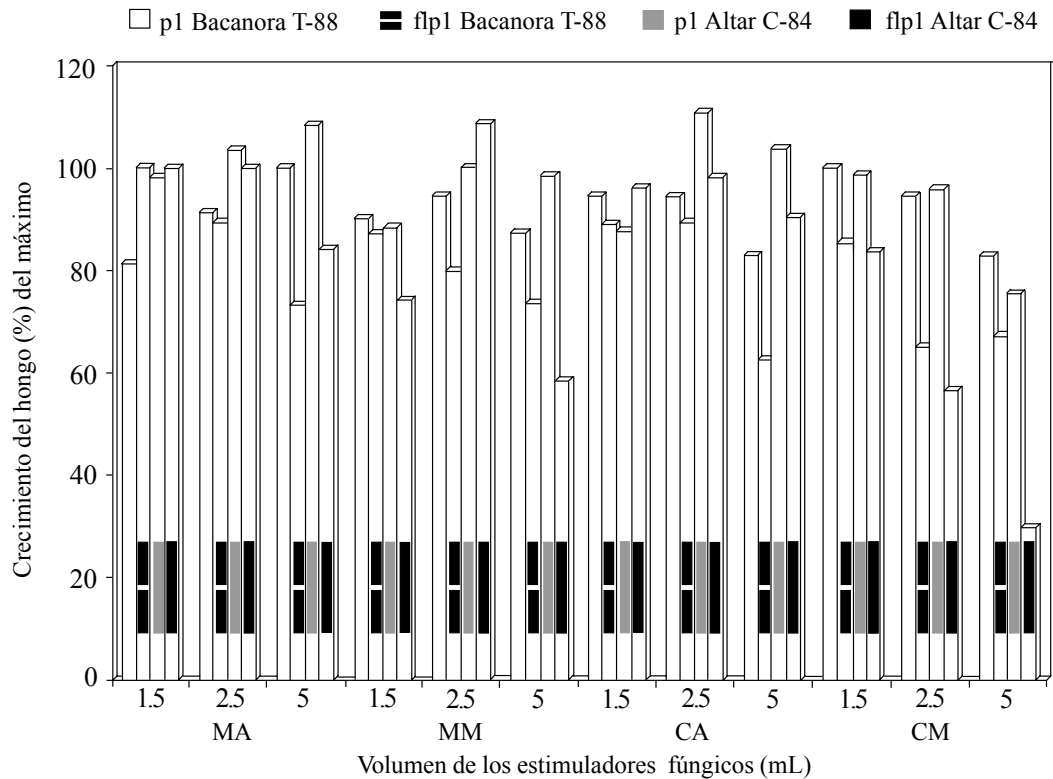


Fig. 3. Crecimiento del hongo *Tilletia indica* en presencia de extractos de plántulas (pl) o filtrado de plántulas (filt) de trigo harinero (*Triticum aestivum*) Bacanora T-88 y cristalino (*Triticum durum*) Altar C-84, previamente tratadas con los volúmenes indicados de las diferentes preparaciones de los estimuladores fúngicos: MA (micelio del hongo macerado y esterilizado en autoclave), MM (micelio del hongo macerado y esterilizado en microfiltro), CA (caldo de cultivo esterilizado en autoclave) y CM (caldo de cultivo esterilizado por microfiltración).

(MM y CM) en comparación con los esterilizados en autoclave (MA y CA). Esto sugiere que los posibles estimuladores de origen fúngico, que inducen la producción de sustancias inhibitorias del crecimiento en las plántulas, pueden ser termosensibles. Los resultados obtenidos sugieren la posible presencia de alguna(s) fitoalexina(s) estimulada(s) por los componentes del hongo probablemente de su pared celular. Asimismo, la inhibición al crecimiento del hongo por los inductores obtenidos de las plántulas y filtrado de las plántulas de Altar es un indicativo fisiológico de la reacción resistente de esta variedad a *Tilletia indica*, ya que es una de las variedades de trigo cristalino con resistencia a este patógeno, tanto en pruebas de campo en inoculaciones artificiales, como en pruebas bajo infección natural (Fuentes-Dávila, 1997). Desde hace tiempo se conocen ya los mecanismos de defensa que intervienen en algunos grupos específicos de plantas como las solanáceas y otras, y que son inducidos por el ataque de patógenos o por estimuladores derivados de ellos. En el caso de los cereales, estos mecanismos de defensa han sido poco estudiados; se tienen indicios de que algunos compuestos naturales como las saponinas y los benzoxazinoides son parte de estas defensas

químicas (Osbourn *et al.*, 2003). Las saponinas se han encontrado en gran cantidad de plantas y con diversas actividades, pero las 1,4-benzoxacinonas son ácidos hidroxámicos cíclicos presentes constitutivamente en forma de glucósidos en varios miembros de las gramíneas. Se encuentran principalmente en los haces vasculares y los más conocidos son el glucósido de DIBOA (2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona) en centeno (*Secale cereale* L.) y el DIMBOA (2,4-dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona) en maíz (*Zea mays* L.) y trigo (Fig. 4); no se han encontrado estos compuestos en arroz (*Oryza sativa* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.) ni avena (*Avena sativa* L.). En respuesta a la infección o por daño físico, los glucósidos de estos compuestos son hidrolizados dejando las agliconas respectivas que se descomponen rápidamente a las benzoxazolinonas correspondientes con liberación de ácido fórmico. Las agliconas, benzoxazinonas y sus productos de degradación tienen actividades fungistáticas y bacteriostáticas así como propiedades deterrentes contra algunos insectos. Las concentraciones de DIBOA y DIMBOA son elevadas en plántulas jóvenes y decrecen días después de la germinación. El gen *BX1* aislado de maíz codifica para una enzima

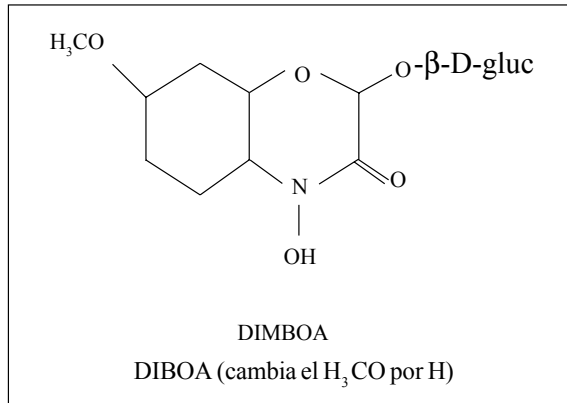


Fig. 4. Estructura de los ácidos hidroxámicos cíclicos DIBOA y DIMBOA con propiedades antibióticas y presentes en gramíneas.

homóloga de la triptofano sintasa involucrada en la biosíntesis de DIBOA y DIMBOA. Otros genes dependientes de la citocromo P450 monooxigenasa, también están relacionados con la biosíntesis de estos compuestos (Morrissey y Osbourn, 1999). Otro compuesto antifúngico denominado feruloilagmatina [1-(trans-4-hidroxi-3-metoxicinamolylamino)-4-guanidinobutano], se aisló de *Triticum aestivum* cv. *chihokukomugi*. La producción de este compuesto se indujo en trigo por exposición a bajas temperaturas (Jin y Yoshida, 2000). En el presente trabajo no se determinó la naturaleza de la(s) sustancia(s) inhibitoria(s) del crecimiento del hongo por lo que es importante continuar con este estudio, con el fin de identificarlas para su posible aplicación práctica en el control del carbón parcial.

### CONCLUSIONES

El crecimiento de *Tilletia indica* en el medio de cultivo fue afectado por sustancias inhibitorias, posibles fitoalexinas obtenidas de plántulas y filtrados de plántulas expuestas a varias preparaciones de estimuladores fúngicos. El inhibidor más efectivo fue el que se obtuvo de filtrados de plántula de la variedad de trigo cristalino Altar C-84 el cual inhibió hasta en un 70.2% el crecimiento del hongo en comparación con el testigo, y cuya producción aparentemente fue inducida por sustancias estimuladoras presentes en el caldo de cultivo esterilizado en microfiltro en donde creció el hongo.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen al Instituto Tecnológico de Sonora, al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, y al Centro de investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, por el apoyo para la realización del presente trabajo.

### LITERATURA CITADA

Anderson-Prouty, A.J., and Albersheim, P. 1975. Host-pathogen interactions. VIII. Isolation of a pathogen-

- synthesized fraction rich in glucan that elicits a defense response in the pathogen's host. *Plant Physiology* 56:286-291.
- Aujla, S.S., Sharma, Y.R., Chand, K., and Sawney, S.S.. 1977. Influence of weather factors on the incidence and epidemiology of karnal bunt disease of wheat in the Punjab. *Indian Journal of Ecology* 4:71-74.
- Ayers, A.R., Valent, B.S., Ebel, J., and Albersheim, P. 1976. Host-pathogen interactions. XI. Composition and structure of wall- released elicitor fractions. *Plant Physiology* 57:766-774.
- Barreras-Soto, M.A. 1995. Nuevas variedades de trigo harinero para Sinaloa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 12. Juan José Ríos, Sinaloa, México. 16 p.
- Bedi, S.K., Sikka, M.R., and Munkur, B.B. 1949. Transmission of wheat bunt due to *Neovossia indica* (Mitra) Mundkur. *Indian Phytopathology* 2:20-26.
- Brennan, J.P., Warham, E.J., Byerlee, D., and Hernández, J. 1992. Evaluating the economic impact of quality reducing, seed-borne diseases: Lessons from karnal bunt of wheat. *Agricultural Economics* 6:344-352.
- Camacho-Casas, M., Félix-Valencia, P., Huerta-Espino, J., Salazar-Gómez, J.M. y Salazar-Huerta, F.J. 1993. Baviácora M92 y Arivechi M92: nuevas variedades de trigo harinero. Folleto Técnico No. 20. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Ciudad Obregón, Sonora, México. 24 p.
- Camacho-Casas, M., Félix-Valencia, P., Huerta-Espino, J., y Martínez-Santana, J.J. 1998. INIFAP M97 y TOBARITO M97: variedades de trigo harinero para el noroeste de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo Exp. Valle del Yaqui. Folleto Técnico No. 33. Ciudad Obregón, Sonora, México. 20 p.
- Cano-Camacho H. 1993. Actividad de un fragmento de la pared celular del frijol como un estimulador de una respuesta coordinada de defensa de plantas. Tesis de maestría, Universidad de Guanajuato. Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Bioquímica) por el Instituto de Investigación en Biología Experimental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Guanajuato, México. 89 p.
- Chona, B.L., Munjal, R.L., and Adlakha, K.L. 1961. A method for screening wheat plants for resistance to *Neovossia indica*. *Indian Phytopathology* 14:99-105.
- Darvill, A.G., and Albersheim, P. 1984. Phytoalexins and their elicitors- A defense against microbial infection in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35:243-275.
- Delgado, S. 1984. Mexican phytosanitary policy in relation to karnal bunt. In: karnal bunt disease of wheat-proceedings of a conference, April 16-18, 1984, Ciudad Obregon,

- Sonora, Mexico. CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). p. 27.
- Fuentes-Dávila, G. 1992. Karnal Bunt and Durum Wheat. pp. 129-132. In: Durum Wheats: Challenges and Opportunities. S. Rajaram, E.E. Saari, and G.P. Hettel (eds.). Wheat Special Report No. 9. CIMMYT, Cd. Obregon, Sonora, Mexico, March 23-25, 1992. 186 p.
- Fuentes-Dávila, G. 1997. Carbón Parcial del trigo: situación actual y perspectivas. pp. 105-118. En: Primer Simposio Internacional del Trigo. Cd. Obregón, Sonora, México. 203 p.
- Fuentes-Dávila, G. y Rodríguez-Ramos, R. 1993. Fuentes de resistencia a *Tilletia indica* Mitra en genotipos derivados de *Triticum aestivum* X *Triticosecale*. Revista Fitotecnia Mexicana 16:172-178.
- Fuentes-Dávila, G., Rajaram, S., Pfeiffer, W.H., Abdalla, O., Van-Ginkel, M., Mujeeb-Kazi, A. y Rodríguez-Ramos, R. 1993. Resultados de inoculaciones artificiales del 5o Vivero de Selección para Resistencia a *Tilletia indica* Mitra. Revista Mexicana de Micología 9:57-65.
- Fuentes-Dávila, G., and Rajaram, S. 1994. Sources of resistance to *Tilletia indica* in wheat. Crop Protection 13:10-24.
- Fuentes-Dávila, G., Rajaram, S., and Singh, G. 1995. Inheritance of resistance to Karnal bunt (*Tilletia indica* Mitra) in bread wheat. Plant Breeding 114:250-252.
- Hadwiger, L.A., and Beckman, J.M. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. Plant Physiology 66:205-211.
- Hamel, F., Breton, C., and Houde, M. 1998. Isolation and characterization of wheat aluminum-regulated genes: possible involvement of aluminum as a pathogenesis response elicitor. Planta 205: 531-538.
- Lintle, M., and Van der Westhuizen, A.J. 2002. Glycoproteins from russian wheat aphid infested wheat induce defence responses. Zeitschrift für Naturforschung 57c:867-873.
- Lozoya, E., Block, A., Louis, R., Hahlbrock, K., and Scheel, D. 1991. Transcriptional repression of light-induced flavonoid synthesis by elicitor treatment of cultured parsley cells. The Plant Journal 1:227-234.
- Luster, D.G., Bonde, M.R., Peterson, G.L., Hack, M.A., and Schaad, N.W. 1998. Antigenic glycoproteins in the teliospore wall of *Tilletia indica*. Mycologia 90:180-188.
- Maksimov, I.V., Ganiev, R.M. and Khairullin, R.M. 2002. Changes in the Levels of IAA, ABA, and cytokinins in wheat seedlings infected with *Tilletia caries*. Russian Journal of Plant Physiology 49:221-224
- Mitra, M. 1931. A new bunt of wheat in India. Annals of Applied Biology 18:178-179.
- Mitra, M. 1935. Stinking smut (bunt) of wheat with a special reference to *Tilletia indica*. Indian Journal of Agricultural Science 5:1-24.
- Morrissey, J.P., and Osbourn, A.E. 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. Microbiology and Molecular Biology Reviews 63:708-724.
- Mundkur, B.B. 1943. Studies in indian cereal smuts V. Mode of transmission of the karnal bunt of wheat. Indian Journal of Agricultural Science 13:54-58.
- Osbourn, A.E., Qi, X., Townsend, B., and Qin, B. 2003. Dissecting plant secondary metabolism constitutive chemical defences in cereals. New Phytologist 159:101.
- Peña, R.J., Amaya, A. y Del Toro, E. 1992. Efecto del almacenamiento y del lavado de grano en las características de calidad de muestras de trigo (variedad Seri M82) con diferentes niveles de carbón parcial (*Tilletia indica*). pp. 24-32. En: Estado actual de la investigación sobre el carbón parcial en México, G. Fuentes-Dávila y G.P. Hettel (eds.). Reporte Especial de Trigo No. 7, México, D.F.: CIMMYT. 41 p.
- Rai, R.C., and Singh, A. 1978. A note on the viability of wheat seeds infected with karnal bunt. Seed Research 6:188-190.
- Reignault, P.H., Cogan, A., Muchembled, J., Lounes-Hadj Sahraoui, A., Durand, R., and Sancholl, M. 2001. Trehalose induces resistance to powdery mildew in wheat. New Phytologist 149: 519
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1987. Cuarentena interior No. 16 contra el Carbón Parcial del trigo. Diario Oficial. Jueves 12 de Marzo de 1987. México.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos 1995. Norma Fitosanitaria 001-95. Diario oficial 4 de Agosto de 1995. México.
- Jin, S., and Yoshida, M. 2000. Antifungal compound, feruloylagmatine, induced in winter wheat exposed to a low temperature. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 64:1614
- Singh, A., and Prasad, R. 1978. Date of sowing and meteorological factors in relation to occurrence of karnal bunt of wheat in U.P. Tarai. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 8:2.
- Smith, D.A. 1982. Toxicity of phytoalexins. pp. 218-247. In: Phytoalexins, J.A. Bailey, and J.W. Mansfield (eds.). John Wiley and Sons. New York, USA. 334 p.
- Schweizer, P., Kmecl, A., Carpita, N., and Dudler, R. 2000. A soluble carbohydrate elicitor from *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* is recognized by a broad range of cereals. Physiological and Molecular Plant Pathology 56:157-167
- Villaseñor-Mir, H.E. 2000. Importancia del trigo. pp. 7-24. En: El Trigo de Temporal en México, H.E. Villaseñor-Mir y E. Espitia-Rangel (eds). SAGARPA-INIFAP, CIRCE, Campo Experimental Valle de México. Libro Técnico No. 1. Chapingo, Edo. de México, México. 313 p.