

## HONGOS DEL MAIZ DE INTERES EN PRE Y POST-COSECHA EN EL NORTE DE ITALIA: MICROCOMUNIDADES ASOCIADAS A RAICES Y HOJAS

Anna Maria Picco\*, Edoardo Piontelli, L.\*\*, Maura Bisio\*

\*Università degli Studi di Pavia, Facoltà di Scienze Mat. Fis. Nat.  
Istituto di Micologia Medica "R. Ciferri e P. Redaelli"  
Via S. Epifanio 14, 27100 Pavia, ITALIA.

\*\*Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina,  
Cátedra de Micología, Casilla 92 V, Valparaíso, CHILE.

**Palabras clave:** Maíz, cultivares, hongos de pre y post-cosecha, variación estacional, rizosfera, filoplano

**Key words :** Maize, cultivars, pre and post-harvest fungi, seasonal variation, rhizosphere, phylloplane.

### RESUMEN

Mediante técnicas de lavado y esterilización superficial, se analizó mensualmente en la zona norte de Italia, la variación estacional de la micota de raíces, hojas y semillas (éstas últimas, solo previo a su siembra), durante el ciclo vegetativo de 3 cultivares de maíz (Aida, Hawaiiano, Hibisco). La mayor cantidad de aislamientos con ambas metodologías y en todos los sustratos sembrados en PDA y Agar agua, correspondió al cultivar Aida.

Los taxa más frecuentes en raíz, fueron: *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*, *Pyrenochaeta terrestris*, *Ramichloridium sp.*, *Penicillium spp.* y *Epicoccum purpurascens*. En hoja, en cambio, se observó un orden y presencia diferentes.

Como modelos de variación estacional, se seleccionaron los integrantes de los 8 taxa o grupos de taxa más frecuentes en raíz y hoja: (*Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Pyrenochaeta-Phoma spp.*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Drechslera-Bipolaris spp.* y *Penicillium spp.*), donde solo los 3 últimos presentaron variaciones de magnitud. *F. oxysporum*, fue dominante en todos los sustratos (80%), mientras *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) fue escaso, salvo en las hojas (14%).

En las semillas de los 3 cultivares, las especies frecuentes fueron: *F. oxysporum*, *Penicillium spp.*, *C. cladosporioides* y *F. moniliforme*, mientras el mayor número de aislamientos se detectó en Aida.

A pesar de las buenas condiciones de manejo y al uso de agrotóxicos, se detectó: *Ustilago zeae*, *Diplodia zeae maydis*, *Bipolaris maydis*, *Botrytis cinerea*, *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), *Macrophomina phaseolina* y *Pyrenochaeta terrestris*). Entre las especies toxicogénicas *A. flavus*, se aisló solo en la rizósfera, mientras debe considerarse en post-cosecha la frecuencia constante de los géneros *Alternaria*, *Fusarium* y *Penicillium*.

### SUMMARY

[Pre and post harvest maize fungi of interest in northern Italy: Microcommunities associated to roots and leaves]

Seasonal variation of the mycota in roots, leaves and seeds (prior too its sowing in the latter case) was monthly analysed in northern Italy trough rinse and superficial sterilization, during the vegetative cycle of 3 maize cultivars (Aida, Hawaiiano, Hibisco). The highest number of isolations with both techniques and in every substrata isolated in PDA and Tap Water Agar was seen in Aida cultivar. The most frequent taxa in maize were: *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*, *Pyrenochaeta terrestris*, *Ramichloridium sp.*, *Penicillium spp.* and *Epicoccum purpurascens*. In leave, on the contrary, a different order and presence was found.

Member of 8 taxa or groups of taxa most frequent in root and leave were selected as models of seasonal variation: (*Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Pyrenochaeta-Phoma spp.*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Drechslera-Bipolaris spp.* and *Penicillium*), where in only last three revealed variations in magnitude. *F. oxysporum* was dominant in every substrata (80%) whereas *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) was rare except in leaves (14%).

In seeds of the 3 cultivars, frequent species were: *F. oxysporum*, *Penicillium spp.*, *C. cladosporioides* and *F. moniliforme*, while the highest number of isolations was observed in Aida.

In spite of satisfactory handling conditions and use of agrotoxics: *Ustilago zeae*, *Diplodia zeae maydis*, *Bipolaris maydis*, *Botrytis cinerea*, *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), *Macrophomina phaseolina* and *Pyrenochaeta terrestris*) were observed.

Among toxicogenic species, *Aspergillus flavus* was isolated only in the rhizosphere, while constant occurrence of genera *Alternaria*, *Fusarium* and *Penicillium*, must be considered in post harvest.

## INTRODUCCION

El maíz, se considera uno de los 3 cereales más importantes en el mundo, pero a pesar que sus cosechas se destinan principalmente al consumo animal, muchos países lo emplean también como alimento para el hombre. Particularmente en Asia, Africa, Mexico, Centro y Sud America, donde tiene más de 500 usos distintos. Su cultivo, ha sido de gran importancia para el desarrollo social y económico de Italia desde comienzo de siglo, principalmente en la zona norte y en menor medida en el sur de la península.

El suelo, como habitat común de los hongos, permite a estos microorganismos colonizar las semillas, raíces o partes aéreas de la planta, tan pronto como las hojas, tallos e inflorescencias son expuestas al ambiente.

Las cosechas provocan enormes disturbios al ecosistema debido a la transición entre un ambiente de campo, a las condiciones relativamente estables de almacenamiento, lo que induce a veces profundos cambios en la composición de la micota residente (Lacey 1989).

Los hongos presentes en los vegetales antes de las cosechas, son llamados tradicionalmente "hongos de campo" o post cosecha, los cuales incluyen taxa comunes en ambientes diversos, tales como *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*, entre otros, así como muchos fitopatógenos especializados. La mayoría de éstos, son considerados también como "hongos de almacenamiento" y agrupados en una categoría diferente. Sin embargo, ambos conceptos "campo y almacenamiento", no son excluyentes, por presentar estrechas interrelaciones.

Frente a estas situaciones, duales es preferible ordenar a estos organismos, acorde a requerimientos ecológicos más que en las categorías arbitrarias como las de "hongos de campo o de almacenamiento" (Hill & Lacey 1983).

La micota saprotrofa y patógena asociada a la semilla o a las diferentes etapas vegetativas del cultivo del maíz, se ha estudiado en muchas regiones del mundo (O'camb & Kommedahl, 1994a; Sharma et al. 1993; Berjag et al. 1992; Caretta et al. 1985; Rouhani et al. 1979;) y la concentración de sus poblaciones puede variar notablemente en relación al: lugar geográfico, clima, tipos de suelos y otras condiciones ambientales diversas. La frecuencia o el aumento de algunas especies en particular, puede considerarse como un hallazgo de gran interés, sin embargo otras menos frecuentes pueden agravar los efectos de las primeras, mediante asociaciones o desarrollandose en periodos diferentes (Frisullo & Rossi, 1991).

Muchas especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, son comunes en el maíz; las de *Fusarium* en

especial, causan patologías en raíces, tallos y hojas (Nelson et al. 1981), pero éstos tres géneros también son capaces de producir potentes micotoxinas en los productos de post cosecha almacenados, las cuales al ser ingeridas, pueden causar graves daños en la salud humana y animal (Krogh, 1989).

Nuestros objetivos generales fueron: 1) La cuantificación y detección de especies bajo diferentes metodologías de cultivo, presentes en: semillas, raíces y hojas en 3 cultivares de maíz, 2) La variación estacional de las principales poblaciones y comunidades, 3) Su relación con la problemática que pueden presentar en pre y post cosecha, 4) Determinar en los 3 cultivares, aquel que presentara menor colonización en sus raíces y hojas.

## MATERIALES Y METODOS

### 1) Area de muestreo

Nuestra investigación se realizó entre los meses de mayo a septiembre de 1992, en cultivos de maíz ubicados en la región de Piemonte (Italia), en la localidad de Sale (AL), representados por 3 terrenos colindantes sembrados con los cultivares **Aida**, **Hawaiano** e **Hibisco** (cada uno con 15 hectáreas aproximadamente).

### 2) Abonos y productos químicos empleados

En los 3 cultivares se efectuaron los siguientes manejos

- Los suelos se abonaron 2 veces: la primera en la siembra, con Nitrogeno/Fósforo (46/18) en una dosis de 600 Kg/ha y la segunda en la emergencia, con Urea en dosis de 400 Kg/ha.

- Un solo tratamiento preemergente con un herbicida (Metolachlor, 30 partes + Terbutylazine, 15 partes), en dosis de 4 Kg/ha.

- Un solo tratamiento al inicio de la siembra con un insecticida (Volathon), en dosis de 10 Kg/ha. a lo largo de las filas.

- Para los cultivares de **Aida** y **Hawaiano** se empleó un fungicida y un insecticida (Thiram y Malathion en dosis de 2500 g.i.a/ha una sola vez)

- Para el cultivar **Hibisco** se empleó un insecticida y un fungicida (Malathion y Captan en dosis de 3000 g.i.a/ha una sola vez).

### 3) Características climáticas

La zona presenta características climáticas de tipo continental, con lluvias frecuentes entre los meses de marzo-abril y a fines de agosto-septiembre, con suelos arenosos (71,23%) de fácil irrigación, una relación C/N de 8,87 y P asimilable de 48 ppm.

#### 4) Características de los cultivares

-**Aida** (Pioneer). Plantas con altura media alta, resistentes a los ataques de insectos, Helminthosporiosis y virosis. Maduración, 125 días.

-**Hawaiano** (Agrigenetics). Plantas con altura media alta, resistentes a fisiopatías diversas y al ataque de insectos y hongos. Maduración 125 días.

-**Hibisco** (Northrup King). Plantas con altura media alta y bien balanceadas (no se conocen informes sobre resistencias particulares). Maduración 95 días.

#### 5) Diseño muestral

##### a) Para las semillas

Para constatar la presencia de hongos en las semillas de los 3 cultivares (previo a su siembra), se seleccionaron al azar 4 sacos de cada tipo, extrayéndose al azar en cada uno de ellos 1/4 de kg de semilla, hasta completar 1 kg aproximadamente por cultivar. De estas submuestras se escogieron posteriormente al azar las semillas para sus siembras en medios de cultivos en el laboratorio.

##### a) Para las raíces y hojas

En cada cultivar, se consideraron durante los 5 meses de estudio, solamente 3 zonas de muestreo (de norte a sur), con una superficie aproximada de 25 m<sup>2</sup> (cuadrante de 5 x 5m), demarcadas con estacas en sus perímetros y en 3 puntos equidistante desde el eje central del terreno: una en el borde extremo superior, otra en el centro y la última en el extremo inferior.

Dentro de los 3 perímetros demarcados por cada cultivar, se tomaron 9 muestras mensuales (3 en cada perímetro, durante 5 meses). Cada muestreo involucraba extraer directamente del suelo las plantas en el estado de desarrollo que se encontraban, para luego seccionar el tallo a la altura de la raíz y confeccionar un pool de 3 trozos de hoja por cada planta. Las raíces y hojas se juntaban en contenedores individuales plásticos estériles, para su transporte al laboratorio.

#### 6) Medios de Cultivo e Incubación para las raíces y hojas

a) **Agar papa dextrosa (PDA), con trozos del sustrato sin esterilización superficial.** Pequeños trozos de láminas foliares y de raíces de cada perímetro estudiado, fueron lavadas con agua corriente y luego individualmente en agua destilada estéril, manteniéndose en matraces individuales. Luego se depositaron 4 a 5 trozos de hojas y 4 a 5 de raíces, en la superficie de placas con PDA+ CAF

(0,25g/l), obteniéndose un total de 12 placas por cultivar (6 placas para las raíces- 2 placas para cada muestra- y 6 para las hojas- 2 placas para cada pool de hojas por planta). Estas se incubaron a 25° C durante 15 días.

b) **Agar Papa Dextrosa (PDA) con trozos del sustrato esterilizado superficialmente.** Se empleó el mismo procedimiento de cultivo e incubación descrito en el punto anterior, salvo que antes de efectuarse las siembras en PDA, los trocitos de hojas se esterilizaron en hipoclorito de sodio al 2,5% durante 2 min para luego lavarse 3 veces en agua estéril.

c) **Cámara húmeda en Agar Agua.** Se aplicaron los mismos procedimientos de siembra y cultivo que en a y b, salvo que el PDA, fue remplazado por Agar Agua. Como el período de crecimiento de los hongos sobre el sustrato natural es más lento, los tiempos de incubación se prolongaron hasta 20-25 días.

Las observaciones del desarrollo de las colonias se efectuaron bajo lupa estereoscópica. Cuando fue necesario se recurrió a resiembras en medios específicos recomendados para la determinación de algunos géneros.

Por cada muestra representativa de cada sustrato, método de siembra o cultivar analizado, cada taxon o especie fúngica aislada, fue considerada una sola vez, no importando si su presencia fuera mayor.

#### 7) Medios de cultivo e incubación para las semillas.

Se aplicaron 3 metodologías de análisis (un solo muestreo por cultivar):

a) **Siembra de las semillas en PDA y Agar Agua con esterilización superficial.** Se basó en la metodología empleada por el "Istituto di Difesa delle Piante" de la Universidad de Udine (Paiero & Locci, 1989) y comunmente empleada en la región, para eliminar la microbiota superficial presente sobre las semillas.

-Pretratamiento de la semilla con alcohol étílico al 85% por 10 segundos

-Lavado en agua estéril

-Desinfección superficial con NaClO (0,56%) a pH 6 durante 1 minuto.

-Lavado en agua estéril.

-Con la técnica descrita se procesaron 30 semillas escogidas al azar (de cada cultivar). Se depositaron sobre la superficie del medio 2 series (una en PDA y otra en Agar Agua) de 15 semillas en placas de 15cm de diámetro, equidistantes unas de otras y en forma de círculo.

Se incubaron a 25° C durante 15 días.

b) **Siembra de las semillas en PDA y Agar Agua con esterilización superficial con ácido sulfúrico diluido.**

Treinta semillas (de cada cultivar) escogidas al azar, se esterilizaron superficialmente con ácido sulfúrico al 50% durante 20 minutos. Luego se lavaron varias veces con agua estéril. Posteriormente se sembraron en los 2 medios de cultivo en 2 series, en la misma disposición circular descrita anteriormente y a la misma temperatura.

### c) Siembra de las semillas en PDA y Agar Agua sin esterilización superficial

Consistió en el lavado de las 30 semillas (de cada cultivar) escogidas al azar, con agua destilada. Posteriormente se sembraron en los 2 medios de cultivo (con la diferencia que al PDA y al Agar Agua se le adicionó cloranfenicol (0,25%) en 2 series en la misma disposición anteriormente descrita y con la misma temperatura de incubación.

Los subcultivos necesarios se efectuaron en diferentes medios específicos, acorde a la literatura de los géneros aislados (generalmente PDA, MEA, CYA y NSA) (Pitt & Hodking, 1985, Domsh et al. 1980).

## RESULTADOS

### 1) Hongos aislados raíces y hojas

En ambas metodologías en las 3 zonas de muestreo, la comunidad fúngica total aislada durante el ciclo vegetativo del maíz, abarcó 49 géneros distribuidos en 62 taxa ( $n=323$  en raíz y  $n=384$  en hoja). De éstos, los representantes de los *Hyphomycetes* presentaron el mayor número de poblaciones y comunidades (87%) y en menor cantidad los *Coelomycetes*, *Ascomycetes*, *Mucorales*, y otros taxa (Tabla 1).

La densidad mayor de aislamientos con ambas metodologías, fue en el cultivar Aida, mientras la menor fue en Hibisco (Gráfico 1). El análisis por sustrato, permite apreciar que las hojas estudiadas con la metodología sin hipoclorito, presentan generalmente mayores aislamientos que las tratadas con hipoclorito, situación similar se observa en las raíces, aunque en menor proporción (Gráfico 1). La densidad de aislamientos en los 8 principales taxa o grupos de taxa, con ambas metodologías (66,6% y 63,5% del total de aislamientos), demostró en promedio un 12% de mayor presencia fúngica en las hojas que en las raíces. El cultivar Aida, mantiene también una presencia fúngica, 5,6% superior a los demás (Gráfico 2).

Los taxa que presentaron los mayores aislamientos en el tiempo en raíz, con ambas metodologías, fueron en orden decreciente: *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*, *Pyrenochaeta terrestris*, *Ramichloridium sp.*, *Penicillium*

*lium spp.* y *Epicoccum purpurascens*. En hoja, en cambio se observó un orden diferente: *A. alternata*, *F. oxysporum*, *E. purpurascens*, *Rh. stolonifer*, *Phoma sp.*, *T. viride*, *Penicillium spp.*, *Drechslera-Bipolaris spp.*, *Ramichloridium sp.* y *Cladosporium cladosporioides* (Tabla 1).

Los taxa de interés en post-cosecha, se incluyen en las zonas sombreadas de la tabla 1. Dentro de los más importantes se destacaron: *A. alternata*, *F. oxysporum*, y *Penicillium spp.*, *R. stolonifer* y *T. viride*, mientras *Aspergillus flavus* y *Cladosporium cladosporioides*, están pobremente representados (excepto este último en hoja).

El gráfico 2, incluye varios modelos de variación estacional, según sustrato, cultivar y metodología, representando los principales géneros o grupos de géneros relacionados.

1) Las especies de *Alternaria* (mayoritariamente *A. alternata*), se aisló principalmente en hojas, en todo el tiempo de muestreo y en especial con la metodología de esterilización superficial con hipoclorito (Hip.), en el cultivar Hawaiano.

2) El complex "*Helminthosporium*", representado en nuestra casuística solamente por especies de *Drechslera spp.* (mayoritariamente *D. graminea* (*Pyrenophora graminea*)) y *Bipolaris* (*B. maydis* (*Cochliobolus heterostrophus*)), es más representativo en hoja que en raíz, y en el cultivar Hawaiano (sin Hip.).

3) *Epicoccum purpurascens*, con altas frecuencias en mayo y junio, fue disminuyendo en los 3 cultivares, pero con mayores aislamientos en hojas y con iguales frecuencias en las tratadas con o sin Hip.

4) Las especies de *Fusarium*, estuvieron presente en todos los cultivares, en ambos sustratos y metodologías, con aumentos entre los meses de julio y agosto.

5) Las especies de *Penicillium*, disminuyeron hacia el término del periodo de maduración en los 3 cultivares, con mayores aislamientos en hojas (sin Hip.) que en raíz.

6) *Pyrenochaeta terrestris* y *Phoma sp.*, estuvieron presentes en ambas metodologías, durante todos los meses de muestreo, aislandose la primera casi siempre de raíz y la segunda, levemente superior en hojas.

7) *Rhizopus stolonifer*, mantuvo buenas frecuencias (mayor en Aida y menor en Hibisco) ya sea en hojas que en raíces, durante todo el período.

8) Las especies de *Trichoderma* (con predominio de *T. viride*), presentaron mayores frecuencias en Hibisco y las menores en Hawaiano, con predominio en raíz (sin Hip.) y las menores en hojas (con Hip.).

El género *Fusarium*, presentó el mayor número de especies de todos los taxa aislados (Tabla 1, Gráfico 2).

TAXA	RAIZ %		HOJA %		TAXA	RAIZ %		HOJA %	
	N*	H*	N	H		N	H	N	H
<i>Acremoniella atra</i> (Corda) Sacc.	0,6	-	0,9	0,7	<i>Graphium</i> sp.	0,6	3,9	2,2	0,7
<i>Acremonium kiliense</i> Grütz	0,6	-	-	0,7	<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	0,6	0,6	-	0,7
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	7,1	7,8	7,3	13,8	<i>Macrophomina phaeosolina</i> (Tassi)Goid.	0,6	1,3	-	-
<i>A. longipes</i> (Ellis & Everh.) Mason	-	-	0,4	0,7	<i>Melanospora</i> sp.	0,6	0,6	0,4	-
<i>A. radicina</i> Heier, Drechsler & Eddy	0,6	-	0,9	-	<i>Monodictys levis</i> (Wiltshire) Hugues	-	-	0,9	0,7
<i>A. tenuissima</i> (Kunze ex Pers.) Wilts.	-	-	-	1,3	<i>Monodictys</i> sp.	0,6	0,6	0,4	0,7
<i>Arthrinium phaeospermum</i> (Corda) M.B. Ellis	-	-	0,4	-	<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	0,6	0,6	0,4	0,7
<i>Arthrotrichum oligospora</i> Fres.	2,4	3,2	0,9	2	<i>M. mucedo</i> Mich. ex St.-Am	1,2	1,3	1,8	0,7
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	1,2	1,3	0,9	-	<i>Myrothecium cinctum</i> (Corda) Sacc.	0,6	-	-	-
<i>A. niger</i> Van Tieghem	0,6	1,3	1,3	1,3	<i>M. verrucaria</i> (Alb. & Schw.) Ditm. ex Steudel	0,6	-	0,4	-
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud	-	-	1,3	0,7	<i>Myrothecium</i> sp.	0,6	-	0,4	-
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nocca & Balb.	-	-	1,7	1,3	<i>Oedocephalum</i> sp.	-	-	0,6	-
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Steud.	1,8	1,3	0,4	3,9	<i>Paecilomyces marquandii</i> (Masse) Hugues	0,6	-	0,9	0,7
<i>C. piluliferum</i> J. Daniels	-	1,9	-	-	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	-	-	1,3	0,7
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.)de Vries	0,6	1,3	3	3,9	<i>P. herquei</i> Bain. & Sart.	-	0,6	-	-
<i>Colletotrichum</i> sp.	-	-	0,4	-	<i>P. italicum</i> Wehmer	-	-	0,4	-
<i>Coprinus pseudoradiatus</i> Kuhn. & Joss.	0,6	-	-	-	<i>P. lividum</i> Westling	-	-	0,4	-
<i>Dactylella bembicodes</i> Drechsler	0,6	-	-	-	<i>P. purpurogenum</i> Stoll	-	0,6	0,4	-
<i>Diplodia zae maydis</i> Mechtjeva	-	0,6	-	-	<i>Penicillium</i> spp.	5,3	2,6	7,8	2
<i>Drechslera -Bipolaris</i> spp.	2,4	-	4,3	4,6	<i>Periconia atra</i> Corda	0,6	-	2,2	-
<i>Doratomyces oligosporum</i> Corda	0,6	-	-	-	<i>Periconiella portoricensis</i> (Stev. & Dalbey) M.B. Ellis	0,6	-	-	-
<i>D. purpureo-fuscus</i> (Fr.) Morton & G. Sm.	-	-	-	0,7	<i>Phyllosticta</i> sp.	-	-	0,4	0,7
<i>D. stemonitis</i> (Pers. ex Steud) Morton & G.Sm.	0,6	0,6	-	-	<i>Pyrenochaeta terrestris</i> (Hansen)Gorenz Walk. & Lar.	6,6	9,7	3	2,6
<i>Doratomyces</i> sp.	1,8	1,3	1,3	1,3	<i>Phoma</i> sp.	1,8	1,9	4,7	7,2
<i>Epicoccum purpurascens</i> Ehrenb ex Schlecht.	4,1	3,2	6,9	10,5	<i>Ramichloridium</i> sp.	7,1	6,5	4,7	3,3
<i>Fusarium acuminatum</i> Ell. & Everh.	-	1,3	-	-	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb. ex link) Lind	10,1	10,4	7,3	7,9
<i>F. avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	-	0,6	-	-	<i>Rhizopus</i> sp.	0,6	0,6	-	-
<i>F. chlamyosporum</i> Wollenw. & Reink.	-	-	-	0,7	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Sacc.) Bain.	-	-	0,9	-
<i>F. culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc.	-	0,6	-	-	<i>Sordaria fimicola</i> (Rob.) Ces. & de Not.	0,6	0,6	0,9	-
<i>F. equiseti</i> (Corda) Sacc. sensu Gordon	-	0,6	0,4	-	<i>Sporobolomyces</i> sp.	-	-	0,9	0,7
<i>F. moniliforme</i> Sheld.	1,2	1,3	1,3	2,6	<i>Stemphylium botryosum</i> Wallr.	-	-	-	1,3
<i>F. oxysporum</i> Schlecht. emend. Sny. & Mans.	15,4	15,6	8,6	10,5	<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link & S.F.Grai.	-	-	0,9	-
<i>F. proliferatum</i> (Matsushima) Niremberg	0,6	-	-	-	<i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai	1,2	-	-	-
<i>F. solani</i> (Mart.) Sacc.	-	-	0,4	-	<i>T. harzianum</i> Rifai	1,2	0,6	0,4	0,7
<i>F. sporotrichioides</i> Sherb.	0,6	-	-	-	<i>T. viride</i> Pers. ex Gray	8,3	7,8	5,6	5,9
<i>Gaeumannomyces</i> sp.	0,6	2,6	-	-	<i>Trichurus spiralis</i> Hasselbring	0,6	-	-	-
<i>Gibberella</i> sp.	0,6	-	-	-	<i>Ustilago zae</i> (Beckm.) Unger	-	-	-	0,7
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilm. & Abbott	0,6	0,6	2,2	1,3	<i>Verticillium albo-atrum</i> Reinke & Berthold	0,6	0,6	-	1,3
<i>G. roseum</i> Bain.	1,2	1,9	0,9	-	<i>Verticillium</i> spp.	1,8	1,9	3	2
<i>G. viride</i> Matr.	0,6	-	-	-					

\*N= Metodología sin hipoclorito \*H= Metodología con hipoclorito. Aislamientos en RAIZ (n=169(N) n= 154(H)), Aislamientos en HOJA (n=232(N) n= 152(H)) TOTALES n=707

Dentro de este género *F. oxysporum*, fue dominante en ambos sustratos y metodología, con frecuencias cercanas al 80%. *F. moniliforme*, fue segundo en importancia, con mayor predominio en las hojas (14%), mientras las otras especies se presentaron esporádicamente en baja cantidad (Gráfico 3, Tabla 1).

## 2) Hongos de las semillas

En las semillas de los 3 cultivares se aislaron un total de 12 taxa de *Hyphomycetes*, distribuidos en 9 géneros (n=54). El número de aislamientos fue mayor en Aida y menor en Hawaiano, sin embargo la mayor diversidad de especies se detectó en Hibisco (Tabla 2). Las especies dominantes en los 3 cultivares fueron: *F. oxysporum*, *Penicillium spp.* y *C.cladosporioides*, mientras *F. moniliforme* se aisló solo en Aida e Hibisco.

La cantidad de propágulos aislados en los métodos de cultivo empleados, fue mayor en PDA (sin hip.) y la menor con Hip.; mientras los cultivos en agar agua, presentaron escasas diferencias en el número y tipo de taxa aislados en las 3 metodologías (Tabla 2).

## DISCUSION

Los datos relativos a la micota de la semilla, raíz y

hoja, evidencian algunos aspectos de distribución y variación estacional de algunas especies fúngicas saprotrofas, patógenas potenciales o de interés en pre-cosecha, en tres cultivares a lo largo del ciclo vegetativo del maíz en la zona norte de Italia. Esto, reviste gran interés bajo el aspecto fitosanitario y productivo de éste en todo el mundo (Rouhani et al., 1979; Ivashchenko, 1991; Sharma et al., 1993). Igual atención merecen las estrategias de control de los hongos que causan deterioro de alimentos y otros productos de post-cosecha, que necesitan almacenamiento previo a su comercialización (Lacey, 1989; Schumann et al., 1991).

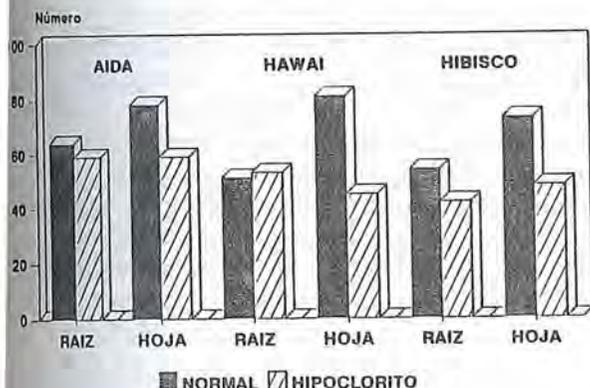
En los cultivos de maíz, como en otros tipos de sustratos naturales, las comunidades fúngicas no permanecen estables por su heterotrofia, es por eso que las fases de equilibrio son transitorias y fluctuantes ante un sustrato que tiende al agotamiento en el tiempo. La composición de estas comunidades estudiadas experimentalmente in vitro, presenta dificultades debido al empleo de sustratos heterogéneos que pueden alterarlas cuantitativa y cualitativamente, de tal manera, los organismos aislados no siempre corresponden a todos los que tienen participación activa en el ecotopo natural (Boddy & Wimpenny, 1992). A pesar de estas u otras limitaciones, su estudio permite conocer aproximadamente sus ciclos, como así sus variaciones locales y regionales.

Tabla 2. TAXA AISLADOS DE LAS SEMILLAS EN LOS 3 HIBRIDOS, SEGUN METODOS Y SUSTRATO

TAXA	AIDA n= 20						HAWAI. n= 16						HIBISCO n= 18					
	PDA			A.A.			PDA			A.A.			PDA			A.A.		
	N*	H*	Ac*	N	H	Ac	N	H	Ac	N	H	Ac	N	H	Ac	N	H	Ac
<i>Acremonium kiliense</i>							●											
<i>Alternaria sp.</i>													●					
<i>Arthrinium phaeospermum</i>													●					
<i>Aspergillus niger</i>			●			●							●					
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	●			●	●		●	●	●				●		●		●	
<i>Epicoccum purpurascens</i>	●						●											
<i>Fusarium moniliforme</i>	●		●	●	●								●		●			
<i>F. oxysporum</i>		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			●	●	●
<i>F. proliferatum</i>	●																	
<i>Gliocladium roseum</i>					●													
<i>Penicillium funiculosum</i>							●						●					
<i>P. herquei</i>													●					
<i>P. italicum</i>			●										●					
<i>Penicillium spp.</i>	●			●	●		●	●	●	●			●	●		●		●

\*N = Metodología sin hipoclorito \*H = Metodología con Hipoclorito Ac. = Metodología con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
 PDA = Agar Papa Dextrosa A.A. = Agar Agua

**GRAFICO 1. AISLAMIENTOS FUNGICOS EN RAICES Y HOJAS EN LOS TRES HIBRIDOS CON AMBAS METODOLOGIAS**



La presencia de algunos géneros frecuentes, en ambos sustratos, tales como *Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*, se han registrado en otros trabajos similares sobre suelos y filoplano de la zona norte de Italia (Caretta et al., 1985; Mangiarotti et al., 1987) como así en otros estudios del maíz en otros países (Ivashchenko, 1989, 1991; Rouhani et al., 1979; Pelhate, 1979; Appel & Gordon, 1994; Gordon & Okamoto, 1992). Sin embargo el mayor problema fitosanitario que preocupa a los agricultores es la presencia en los suelos de patógenos potenciales que puedan dañar el crecimiento de esta gramínea, disminuyendo su productividad, o los hongos que manifiesten sus actividades toxicogénicas en post-cosecha.

Dentro de los patógenos potenciales y toxicogénicos aislados desde raíces y hojas, merecen destacarse los que se presentaron en forma continua en el tiempo del cultivo y en ambos sustratos.

*Alternaria alternata*, es responsable de patologías foliares poco comunes, que tienden a causar daño cuando gran cantidad de rocío cae sobre las hojas, produciendo lesiones cloróticas en estrias, que tienden a la necrosis (Trainor & Martinson, 1981). En nuestro caso no parece estar ligada a la transmisión por semilla y la patología foliar se observó raramente. *A. alternata*, es junto a *Cladosporium spp.*, uno de los hongos anemófilos más comunes en muchas partes del mundo y uno de los componentes frecuentes de la micota del filoplano de muchas plantas. Su presencia en hojas y granos, se debe a su capacidad de penetración sub-epidérmica, que le permite tolerar las aplicaciones de fungicidas (Lacey, 1989; Schumann, 1991). En la superficie de las plantas, es capaz de competir antagónicamente con *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Fusarium*, sin embargo, debemos destacar la presencia de

*Chaetomium globosum* y *T. viride*, capaces de reducir las infecciones de las semillas causadas por *A. alternata* (Handoo & Aulakh, 1979). Esta especie es importante también desde el punto de vista toxicogénico debido a la producción de toxinas y sustancias mutagénicas, en diversos vegetales, tales como el ácido tenuazónico y alternariol, entre otras (Lacey, 1989).

*Cladosporium cladosporioides*, fue el único representante del género, su presencia en raíz fue escasa y esporádica, y en el cultivar Hibisco no se aisló, sin embargo en las hojas a pesar de no ser constante, presentó variaciones mensuales, con disminución o ausencia en los meses más cálidos, debido a que sus rangos óptimos de T°, relativamente bajos (24-25°C). Sus esporas son cosmopolitas y abundantes en el aire de verano (Calvo et al., 1980; Savino, 1986), se encuentran en las espigas de los cereales así como en muchos otros sustratos (Domsh et al., 1980). *C. cladosporioides* y *C. herbarum*, son considerados parásitos débiles de los cultivos de cereales y son la causa del ennegrecimiento de las espigas y del marchitamiento de los granos cuando se almacenan en condiciones de alta humedad. El primero fue constante en todas las semillas de los 3 híbridos, lo que denota su poder de sobrevivencia y la capacidad de invadir los tejidos subcuticulares, permitiendo su aislamiento a pesar de los tratamientos de los granos con hipoclorito y ácido.

*Epicoccum purpurascens* (= *E. nigrum*), es considerado como un saprotrofo primario o un patógeno oportunista en maíz (semilla, hojas y espiga) y en varios frutos, tales como pepinos, tomates, manzanas y peras, especialmente en post-cosecha. Su aislamiento constante principalmente en hojas, concuerda con los datos de otros autores en localidades geográficas cercanas (Caretta et al., 1985), donde se asocia desde hace tiempo a los cultivos del arroz, sin ser la causa de mayores daños (Baldacci & Picco 1948). Recientemente se ha reconocido su capacidad de producir pudrición roja en *Cucumis melo* L., en post-cosecha (Bruton et al., 1993). Las propiedades antagónicas de *E. purpurascens* frente a algunos hongos patógenos de semillas, suelo y hojas, parece abrir nuevos caminos en el control biológico (Manandhar et al., 1987). En nuestra investigación su poder competitivo y antagonico parece ejercerse especialmente a nivel de las hojas.

El género con mayoría de especies (11), fue *Fusarium*, pero solo *F. oxysporum* fue dominante y junto a *F. moniliforme*, representaron del 87 al 93% de la población en raíz y hoja. Algunas formas especiales de *F. oxysporum*, se diferencian por su habilidad de causar marchitamiento vascular en un limitado rango de hospedadores vegetales. Esta especie, también incluye cepas no patogénicas capaces de persistir mediante una colonización asintomática en las raíces de las plantas o con

crecimiento saprotrofo en materia orgánica muerta.

Debido a la producción de clamidosporas e hifas activas en restos vegetales, este taxon es ampliamente distribuido en el maíz y otros cultivos en zonas templadas y tropicales del mundo (Onyike & Nelson, 1993; Nelson, 1981; Burges, 1981; Ivashchenko, 1991; Pronzuk et al., 1991; Appel & Gordon, 1994; Gordon & Okamoto 1992).

La presencia de propágulos de *F. oxysporum* en suelos de la rizósfera a una profundidad mayor que 2 cm, es una evidencia de su capacidad de pertenecer a la categoría de "competente de la rizósfera," un concepto utilizado para describir su colonización en términos de tiempo y espacio (*sensu* Ahmad & Baker, 1987). O'camb & Kommedahl (1994a, 1994b), confirman la situación de esta especie en el maíz, junto a otros representantes del género, principalmente: *F. solani*, *F. moniliforme* y *F. proliferatum* (capaces de colonizar la rizósfera y el suelo), pero *F. oxysporum* es a menudo la especie más prevalente en las raíces de esta *Poa*. Sin embargo *F. graminearum*, es menos competitivo para los sustratos carbonados de la rizósfera y en presencia de las 4 especies anteriormente mencionadas es suprimido, por lo cual no se considera junto a *F. equiseti* un competente de la rizósfera (O'camb & Kommedahl, 1994b) Esta situación, puede haber sido la causa de su ausencia en nuestra investigación.

*F. moniliforme* es también de amplia distribución y asociado a muchos cereales, ya sea como patógeno o saprotrofo, pero junto a *F. graminearum* y *F. subglutinans* y *F. culmorum*, son los principales causantes de la pudrición del pie y de la espiga del maíz en ambos hemisferios (Teich, 1989; Logriego et al., 1993). Al parecer en el sur de Italia, esta gramínea es también un hospedador importante para *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, sin embargo el primero es más abundante en las partes vegetativas y el segundo en el suelo (Logrieco & Bottalico, 1988; Bottalico et al., 1989). Nuestros resultados indican la misma situación y coinciden también con Caretta et al., 1985, en cuanto a su presencia en el filoplano, difiriendo solo en la frecuencia de aparición. El sustrato, las condiciones climáticas, la temperatura (*F. moniliforme* predomina en áreas subtropicales) y otras condiciones de los suelos, son importantes en determinar su incidencia y distribución, mientras los daños de insectos y aves aumentan el grado de infección (Nwanma & Nelson, 1993). La presencia de *F. oxysporum* y *F. moniliforme* en casi todos las semillas estudiadas de los 3 híbridos, hace pensar que su sobrevivencia en los granos en el tiempo, puede representar una fuente de inóculo inicial, junto al suelo y el aire. *F. moniliforme* puede reducir o eliminar la infección de las semillas por otros hongos. Zumo & Scott (1992) observaron que también es capaz de reducir en las semillas la contaminación con aflatoxinas producidas por *A. flavus*

La capacidad de muchas especies de *Fusarium* de producir en los granos diversas micotoxinas se conoce ampliamente en la literatura, así como su rol en enfermedades del hombre y los animales (Gilbert 1989; Krogh, 1989). *F. moniliforme*, especialmente es considerado uno de los hongos más comunes asociados a semillas de maíz en el mundo (Marasas et al., 1984). Produce, fumonisina B1 y B2, capaces de promover cancer hepático en ratas (y quizás cancer esofágico en humanos), leucoencefalomalacia en caballos, edema pulmonar en cerdos, pero también fitotoxicidad en el maíz y otros vegetales (Van Asch et al., 1992). Las micotoxicosis son uno de los temas de gran importancia en salud pública, especialmente para los países en desarrollo y una preocupación constante para muchos investigadores en todo el mundo (Krogh, 1989).

Los representantes del género *Penicillium*, obtuvieron, menores aislamientos, especialmente cuando los sustratos se procesaban con hipoclorito. Esto demuestra su menor poder de penetración subcuticular. Los integrantes más comunes fueron cepas del Subgénero *Penicillium*, *Furcatum* y *Aspergilloides*, mientras *Biverticillium*, *P. funiculosum* y *P. purpurogenum*, tuvieron escasa presencia. El rol saprotrofo de mucha de sus especies, refleja la eficiencia de estos hongos en producir una amplia variedad de enzimas degradativas, las cuales pueden facilitar la infección en varios productos vegetales en pre y post-cosecha, alterar los alimentos y descomponer sustratos orgánicos. Sin embargo la producción de metabolitos secundarios altamente tóxicos como: patulina, citrinina, ochratoxina, ácido penicílico, penitremos, verruculogeno, entre muchos más descubiertos en la actualidad (Jimenez et al., 1986; Mantle, 1989), debe hacernos cambiar la idea general que, la presencia de especies de *Penicillium* es de poca importancia si se compara con la de *Aspergillus* o *Fusarium*. En especial frente a la dominancia de alguna especie terverticilada (como *P. aurantiogriseum* complex), situación que no se presentó en nuestro trabajo.

El género *Aspergillus*, mantuvo bajas frecuencias en el tiempo (Tabla 1) y solo fue representado, por dos especies (*A. flavus* y *A. niger*). Sin embargo *A. flavus* es un productor de aflatoxinas, ya sea en el campo como en almacenamiento, debido a la alta capacidad de colonizar el grano del maíz en su madurez a través de su pericarpio (Zummo & Scott, 1990) y por su alta sobrevivencia en el tiempo (Hesseltine & Rogers, 1982). Wicklow (1991), efectúa una revisión completa de la epidemiología de *A. flavus* en el maíz y Lacey (1989), comenta la supresión de esta especie por las interacciones con *Rhizopus stolonifer*, *Saccharomyces cerevisiae* y algunas bacterias. Al mismo tiempo comenta que experimentalmente, *A. niger* no afecta la esporulación de *A. flavus*, pero inhibe la producción de sus aflatoxinas. Sin embargo en los granos de maíz, éstas se

forman cuando la proporción de *A. flavus* excede los 19:1, pero no cuando es < de 9:1. Su ausencia de las semillas puede atribuirse al antagonismo experimentado frente a *F. moniliforme* o *F. oxysporum* y su baja frecuencia en rizósfera, a la constante presencia de *Rh. stolonifer*, *T. viride*, *E. purpurascens*. Merece destacarse que en las raíces del cultivar Aida se detectó la casi totalidad de los aislamientos de *A. flavus*.

A pesar que *Pyrenochaeta terrestris*, se aisló siempre de raíz, durante toda la época de cultivo, su presencia se acompañó siempre de un constante enrojecimiento de las raíces alrededor de las áreas de su crecimiento.

Los integrantes del género *Trichoderma*, revisten un rol ecológico fundamental, por su capacidad supresiva frente a diversos patógenos vegetales, atribuido a sus capacidades antagonicas frente a la microbiota de los suelos (Baker, 1991). Varias especies de *Trichoderma*, son efectivos micoparásitos y por ende, mediante su hiperparasitismo o su capacidad de competencia, son activos agentes de biocontrol en los suelos. Se conocen los posibles roles antagonicos de *T. harzianum* y *F. oxysporum* en la colonización de la rizósfera, demostrándose que las clamidosporas de *F. oxysporum* son inversamente proporcionales al número de conidios de *T. harzianum*, pero no así en otros ambientes (Sivan & Chet, 1989). *Trichoderma*, es considerado en la categoría de "rhizosphere competence" por su capacidad de producir mayor cantidad de celulasas que las cepas que no integran esta categoría, utilizando mejor los residuos celulolíticos y los exudados excretados por las raíces (Ahmad & Baker, 1987). Su resistencia a las fumigaciones y a diversos agrotóxicos, como los mencionados en la metodología, permite asignarle una buena parte del éxito fitosanitario en la rizósfera de los 3 cultivares. Se ha observado la producción de metabolitos tóxicos en *T. viride*, los cuales eventualmente al producirse sobre los vegetales, podrían representar un riesgo para el consumidor (Brewer et al., 1987).

Los aislamientos de especies patógenas o potencialmente patógenas (*Ustilago zaeae*, *Gibberella* sp., *Diplodia zaeae maydis*, *Bipolaris maydis*, *Botrytis cinerea*, *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), *Gaeumannomyces* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Pyrenochaeta terrestris*) o toxicogénicas, ya sea en raíces como en hojas, pueden indicar colonización y posibilidad de infección sistémica, sin embargo el buen estado general fitosanitario de los 3 cultivares, sugiere que la penetración en el hospedador a pesar de ser necesaria para la infección, no siempre es una condición suficiente para la inducción de la enfermedad (Kedera et al., 1992).

## CONCLUSIONES

En los 3 cultivares, un grupo de taxa frecuentes, se consideraron como microbiota residente en raíz y filoplano (*A. alternata*, *E. purpurascens*, *F. oxysporum*, *Penicillium* spp., *Pyrenochaeta terrestris*, *Ramichloridium* sp., *Rh. stolonifer*, *T. viride*) y algunas de ellos pueden catalogarse como "competentes de la rizósfera" (*A. alternata*, *F. oxysporum*, *Rh. stolonifer*, *T. viride*). Sin embargo esta característica no parece limitarse a un solo ecotopo, sino a otros sustratos carbonados de la misma planta (el filoplano), pudiendo ejercer además propiedades toxicogénicas, antagonicas o sinérgicas con otras especies residentes o alóctonas (*Ch. globosum*, *C. cladosporioides*, *Drechslera* spp., *Bipolaris maydis*, *E. purpurascens*, *F. moniliforme*, y *Penicillium* spp.)

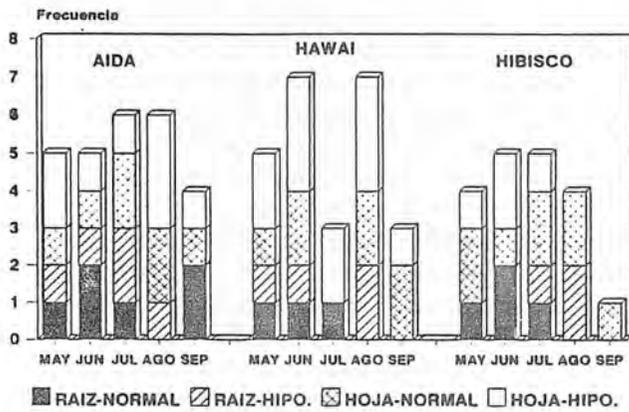
De los 8 taxa considerados como modelos de variación en el tiempo, solo las especies de *Drechslera*, *Bipolaris* y *Penicillium* presentaron cambios estacionales de cierta magnitud. *F. oxysporum* fue la especie más dominante en el tiempo dentro del taxon, ya sea en raíz, hoja y semilla en todos los cultivares, mientras *F. moniliforme*, a pesar de su baja presencia, fue más aislado en el filoplano. Los otros integrantes de la micota, fluctuaron en densidad poblacional o fueron esporádicos, pero no debe minimizarse su presencia por los efectos competitivos (incluyendo toxicidad y parasitismo) que pueden ejercer en ella.

De los tres cultivares estudiados, el Hibisco presentó la menor densidad poblacional, situación que puede atribuirse a su periodo de maduración más corto en relación a los otros cultivares y al tratamiento con distintos fungicidas. No se apreció mayor susceptibilidad a la pudrición del pie que generalmente se observa en los híbridos de maduración temprana.

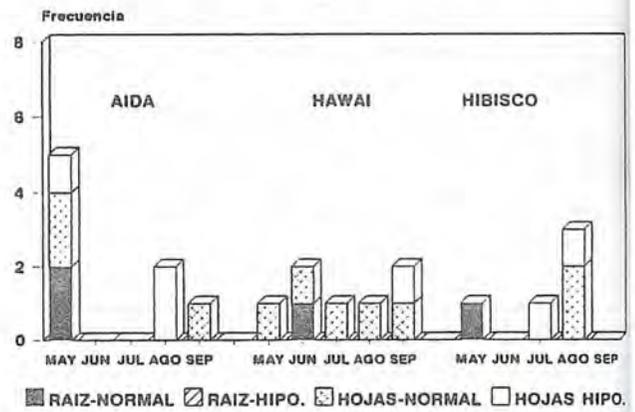
A pesar que nuestra metodología no incluyó un programa específico de análisis fitosanitario, los 3 cultivares presentaron baja frecuencia de patógenos fúngicos como: *Ustilago zaeae*, *Gibberella* sp., *Diplodia zaeae maydis*, *Bipolaris maydis*, *Botrytis cinerea*, *F. moniliforme* (*G. fujikuroi*), *Gaeumannomyces* sp., *Macrophomina phaseolina* y *Pyrenochaeta terrestris*, lo que puede atribuirse al antagonismo entre las especies dominantes de la comunidad, a la resistencia de estos cultivares a diversas patologías fúngicas, a las buenas condiciones climáticas y de manejo de ese año, como al empleo de agrotóxicos. Esto último, al ejercer selección y cambios pocos predecibles en la dinámica poblacional, pueden restringir el control biológico natural y la gama de interrelaciones de toda la comunidad fúngica asociada a esta *Poacea*, situación que debe analizarse y compararse experimentalmente bajo diferentes manejos de cultivo.

**GRAFICO 2. VARIACION ESTACIONAL DE LAS PRINCIPALES ESPECIES AISLADAS SEGUN: SUSTRATO, HIBRIDOS Y METODOLOGIA**

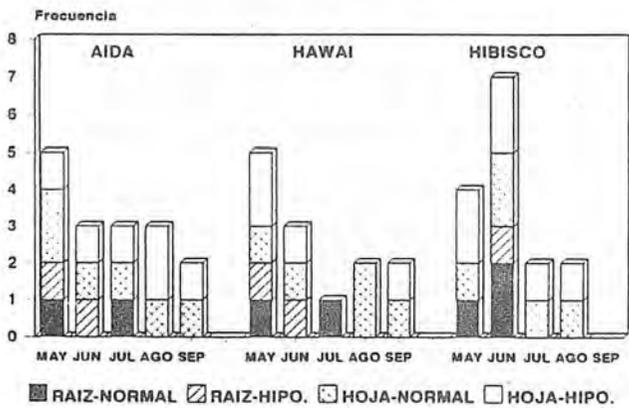
**ALTERNARIA spp.**



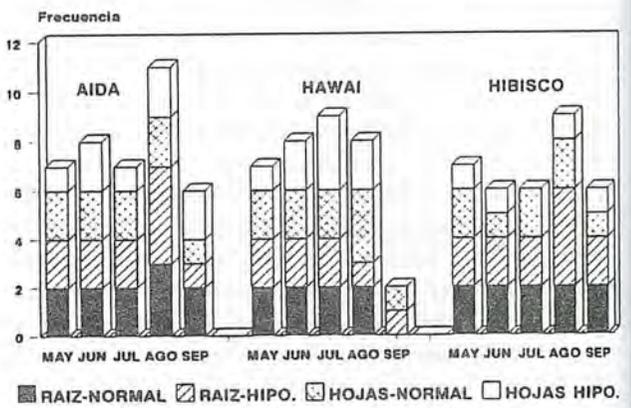
**DRECHSLERA-BIPOLARIS spp.**



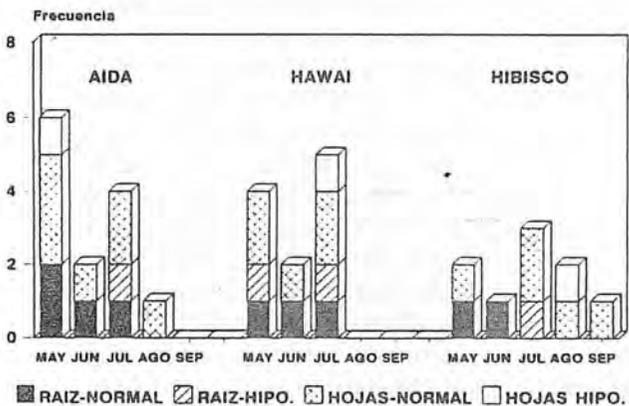
**EPICOCCUM PURPURASCENS**



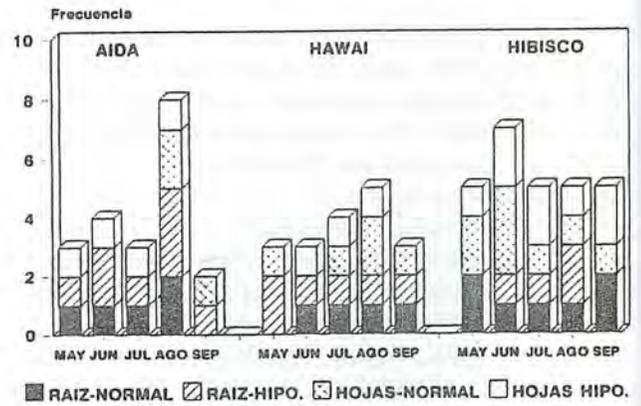
**FUSARIUM spp.**



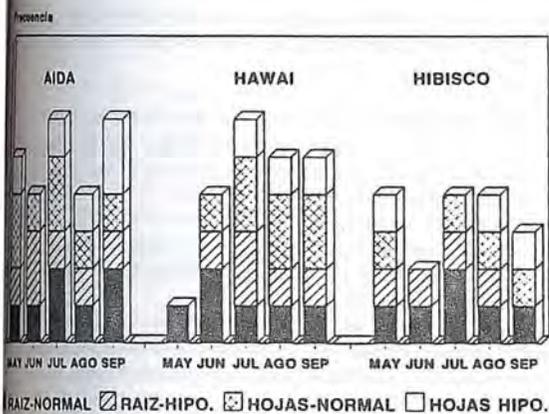
**PENICILLIUM spp.**



**PYRENOCHAETA-PHOMA spp.**



## RHIZOPUS STOLONIFER



## TRICHODERMA spp.

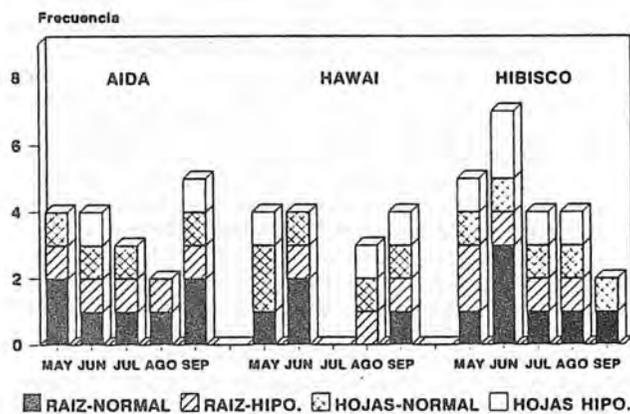
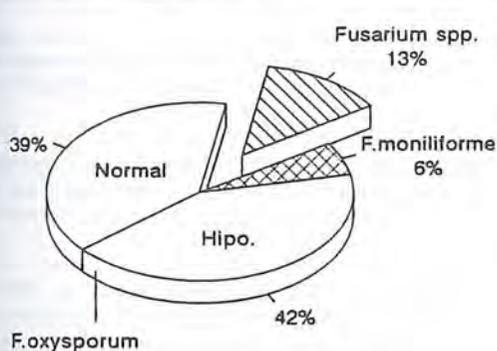
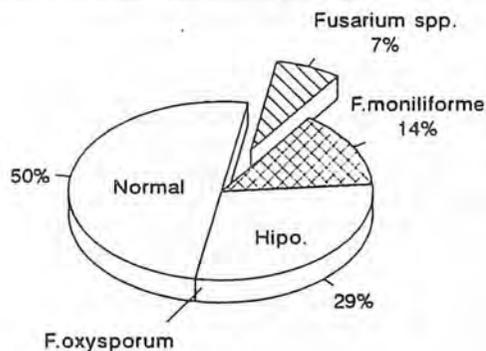


GRAFICO 3. *F.oxysporum* VERSUS OTRAS ESPECIES DEL GENERO, EN RAICES Y HOJAS.



RAIZ



HOJA

La metodología empleada, permitió aislar algunos integrantes de la micota asociada al desarrollo vegetativo del maíz, la presencia y variación en el tiempo de especies de interés en pre y post-cosecha y la persistencia de algunas que actúan como biocontroladores naturales (*Tri-*

*choderma* spp.), a pesar del manejo con agrotóxicos.

#### AGRADECIMIENTOS.

Se agradecen los comentarios y útiles sugerencias aportadas por la Profesora. Ing. Agr. Ximenâ Bezoain.

#### REFERENCIAS

- Ahmad, J.S. & Baker, R. (1987). Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 77:182-189
- Appel, D.J. & Gordon, T.R. (1994). Local and regional variation in populations of *Fusarium oxysporum* from agricultural field soil. *Phytopathology* 84:786-791
- Asch, M.A.J. van., Rijkenberg, & Coutinho, T.A. (1992). Phytotoxicity of fumonisin B1, moniliformin, and T-2 toxin to corn callus culture. *Phytopathology* 82:1330-1332
- Baker, R. (1991). Diversity in biological control. *Crop Protection* 10:85-94
- Baldacci, E. & Picco, D. (1948). Osservazioni sulle malattie del riso durante gli anni 1946-47. *Risicoltura* 2: 113-117
- Berjak, P.; Whittaker, A.; Mycock, D. J. (1992). Wet-heat treatment: a promising method for the elimination of mycoflora from maize grains. *South African Journal of Science* 88:346-349

- Boddy, L. & Wimpenny, J.W.T (1992). Ecological concepts in food microbiology. In: Board, R.G. et al (Eds.) J. of Appl. Bacter. Suppl. Symposium 73:23-38
- Bottalico, A., Logrieco, A. & Visconti, A. (1989). *Fusarium* species and their mycotoxins in infected cereals in the field and in stored grains. In: Chelkowski, J (Ed.) *Fusarium* mycotoxins, taxonomy, and pathogenicity. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, pp.85-119
- Brewer, D., Mason, F.G. & Taylor, A. (1987). The production of alamethicins by *Trichoderma* spp. Can. J. Microbiol. 33:619-625
- Burges, L.W. (1981). General ecology of the Fusaria. In: Nelson et al. (Eds.) *Fusarium* diseases. Biology and taxonomy. University Park: The Pennsylvania State Univ. Press. pp. 225-235
- Burton, B.D., Redlin, S.C., Collins, J.K. & Sams, C.E. (1993). Post-harvest Decay of Cantaloupe caused by *Epicoccum nigrum*. Plant. Dis. 77: 1060-1062
- Calvo, A., Guarro, J., Suarez, G. & Ramirez, C. (1980). Air-borne fungi in the air of Barcelona (Spain) I. A two year study (1976-1978). Mycopathologia 71: 89-93
- Caretta, G.; Del Frate, G.; Della Franca, P.; Guglielminetti, M.; Mangiarotti, A. M.; Savino, E. (1985). Flora fungica del mais: Funghi del terreno, del filopiano e spore dell'aria. Archivio Botanico e Biogeografico Italiano 61: 143-168.
- Domsh, K.H., Gams, W. & Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Vol.1. Academic Press, N.York.
- Frisullo, S & Rossi, V. (1991). Variazioni delle popolazioni fungine associate al "mal del piede del frumento duro nell'Italia meridionale. Petria 1:99-110
- Gilbert, J. (1989). Current views on the occurrence and significance of *Fusarium* toxins. In: Moss et al. (Eds.) Filamentous fungi in foods and feeds. Symposium series N° 18. Blackwell Scient. Publ. Oxford. pp. 89-98
- Gordon, T.R. & Okamoto, D. (1992). Population structure and the relationship between pathogenic and non pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 82:73-77
- Handoo, M.L. & Aulakh, K.S. (1979). Seed-borne fungi of maize in India. Seed. Res. 7:41-47
- Hesseltine, C. W. & Rogers, R. F. (1982). Longevity of *Aspergillus flavus* in corn. Mycologia 74:423-426
- Hill, R. A & Lacey, J. (1983). Factors determining the mycoflora of stored barley grain. Annals of Applied Biology 102:467-483
- Ivashchensko, V. G. (1989). Maize colonization by stalk rot pathogens in southern Ukraine. Mikologiya Fitopatologiya 23: 572-576
- (1991). Fungal diseases of maize stems and leaves in different eco-geographical zones. Mikologiya Fitopatologiya 25: 432-437
- Jiménez, M., Sanchíz, V., Mateo, R. & Hernández, E. (1986). *Penicillium* in pre-harvest corn in Valencia (Spain). Study of the enzymatic and toxigenic capacities of the species. Mycopathologia 96:13-18
- Kedera, J. C., Leslie, J. F. & Clafin, L. E. (1992). Systemic infection of corn by *Fusarium noniforme*. (Abstr.) Phytopathology 82:1138
- Krogh, P. (1989). The role of mycotoxins in disease of animals and man. In: Moss et al. (Eds.) Filamentous fungi in foods and feeds. Symposium series N° 18. Blackwell Scient. Publ. Oxford. pp. 99-104
- Lacey, J. (1989). Pre and Post Harvest ecology of fungi causing spoilage of food and other stored product. In: Moss, M.O et al (Eds.) J. of Appl. Bacter. Suppl. Symposium 18 :11-25
- Logrieco, A. & Bottalico, A. (1988). *Fusarium* species of the *Liseola* Section associated with stalk and ear rot of maize in southern Italy, and their ability to produce moniliformin. Br. mycol. Soc. 90:215-219
- Logrieco, A., Moretti, A., Altomare, C., Bottalico, A., & Carbonel, T. E. (1993). Occurrence and toxicity of *Fusarium subglutinans* from Peruvian maize. Mycopathologia 122:183-190
- Manandhar, J.B., Thapliyal, P.N., Cavanaugh, K.J & Sinclair, J.B. (1987). Interacción between pathogenic and saprobic fungi isolated from soybean roots and seeds. Mycopathologia 98: 69-75
- Mangiarotti, A. M., Del Frate, G., Picco, A.M. & Caretta, G. (1987). Antagonistic activity "in vitro" of some saprophytic fungi occurring on the phylloplane of rice, wheat and maize. Boletín Micológico 3:183-189.
- Mantle, P. G. (1989). Current views on the occurrence and significance of *Penicillium* toxins. In: Moss et al. (Eds.) Filamentous fungi in foods and feeds. Symposium series N° 18. Blackwell Scient. Publ. Oxford. pp. 83-88
- Marasas, W. F. O., Nelson, P. E. & Toussoun, T. A. (1984). Toxigenic *Fusarium* species: Identity and Mycotoxicology. Pennsylvania State University Press, University Park.
- Nelson, P.E.; Toussoun, T. A.; Cook, R. J. (1981). *Fusarium* diseases, biology and taxonomy. University Park, PA. Pennsylvania State University Press.
- (1981). Life cycles and epidemiology of *F. oxysporum*. In: Mace, M.B. et al. (Eds.) Fungal wilt disease of plants. Academic Press, N.York. pp.51-80
- Nwanma, B.N.O. & Nelson, P.E. (1993). The distribution of *Fusarium* species in soils planted to millet sorghum in Lesotho, Nigeria and Zimbabwe. Mycopathologia 121: 105-114.

- Ocrumb, C. M. & Kommedahl, T. (1994a). Growth of Rhizosphere competent and incompetent *Fusarium species* from corn carbon substrates. *Phytopathology* 84:508-514
- (1994 b). Rhizosphere competence of *Fusarium* species colonizing corn roots. *Phytopathology* 84:166-172
- Onyike, N. B. N. & Nelson, P. E. (1993). The distribution of *Fusarium* species in soils planted to millet and sorghum in Lesotho, Nigeria and Zimbabwe. *Mycopathologia* 121:105-114
- Paerson, R. C. & Hall, D. H. (1975). Factors affecting the occurrence and severity of blackmould of ripe tomato fruit caused by *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 65:1352-1359
- Paiero, P. & Locci, R. (1989). Lo stato fitosanitario del seme di soia. *Gior. soia* 5:20
- Pelhate, J. (1979). Mycoflore séminicole des maïs. I. Contamination avant récolte. *Rev. Mycol.* 43:109-129
- Pitt, J. I. & Hodking, A. D. (1985). *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press. Australia
- Pronczuk, M., Pronczuk, S. & Messyasz, M. (1991). Pathogenicity of *Fusarium spp.* contributing to the stalk rot maize in Poland. *Mycotoxin Research (A. Suppl.) Part II*. 7: 97-101
- Rouhani, H.; Davet, P.; Poinso, B.; Beyries, A.; Messiaen, C. (1979). Inventaire et évaluation du pouvoir pathogène des composants de la microflore fongiques sur racines de maïs en France. *Ann. Phytopathol.* 11:69-93
- Savino, E. (1986). Le aerospore fungine di Pavia: valutazione quantitativa nell'arco di un anno (1983). *Notiziario dell'Ecologia. Nuova Serie* 1:25-28
- Sharma, R. C.; Leon, C. de.; Payak, M. M. (1993) Disease of maize in South-East Asia: problems and progress. *Crop Protection*. 12:414-422
- Schumann, K.; Jamke, C. & Gossman, M. (1991). Untersuchungen zum endogenen Pilzbefall an Silomais *Fusarium* flora. *Archiv für Phytopath. und Pflanzensch.* 27: 135-141
- Sivan, A. & Chet, I. (1989). The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79:198-203
- Teich, A. H. (1989). Epidemiology of corn (*Zea mays* L.) ear rot caused by *Fusarium* spp. In: Chelkowski, J (Ed.) *Fusarium* mycotoxins, taxonomy, and pathogenic Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, pp.319-328
- Trainor, M. J. & Martinson, C. J. (1981). Epidemiology of *Alternaria alternata* leaf blight of maize. *Phytopathology* 71: 262-268
- Wicklow, D. T. (1991). Epidemiology of *Aspergillus flavus* in corn. In: Shotwell, O. L. & Hurburgh, C. R. Aflatoxin in corn. New perspective North Central Regional Res. Publication 329 Ames, Iowa, USA. pp. 315-328
- Zummo, N. & Scott, G. E. (1990). Cob and kernel infection by *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* in inoculated field-grown maize ears. *Plant Dis.* 74: 627-631
- (1992). Interacción of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. *Plant Dis.* 76: 771-773