

# CARACTERISTICAS CULTURALES Y PATOGENICIDAD DEL HONGO CAUSANTE DE LA MANCHA EN CADENA DEL SORGO

Darío Salvador y M.J. Garrido

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Sección de Microbiología, Apartado 4579, Maracay 2101.

La mención de productos químicos en este trabajo, no implica su recomendación.

Parte de la Tesis presentada por el primer autor para optar al Título de Ingeniero Agrónomo en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay.

Recibido: 4 de Mayo de 1990

## RESUMEN

Salvador, D. y Garrido, M.J. 1990. Características culturales y patogenicidad del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo. *Fitopatología Venezolana*. 3: 11-15

El hongo causante de la mancha en cadena del sorgo fue aislado por extensión superficial a partir de una suspensión de esporas obtenida de trocitos de lesiones colocados sobre medios de cultivo para inducir esporulación. De 13 medios de cultivo probados para crecimiento y esporulación del hongo, agar jugo V-8, agar papa dextrosa y agar jugo de tomate más carbonato de calcio, resultaron los mejores. Estos medios fueron ajustados a pH 6,0 y después de la siembra fueron sometidos a luz blanca fría continua a 25-30 °C y 45-70% HR durante cuatro días. Se realizaron pruebas de patogenicidad sobre *Sorghum bicolor*, *S. halepense*, *S. verticilliflorum* y *Zea mays*, y se encontró que el hongo infecta a las especies de *Sorghum*, pero no a *Z. mays*.

Palabra clave adicional: *Cercospora sorghi*

## ABSTRACT

Salvador, D. and Garrido, M.J. 1990. Cultural characteristics and pathogenicity of the fungus that causes the chain leaf spot of sorghum. *Fitopatología Venezolana* 3: 11-15

The causal fungus of the chain leaf spot of sorghum was isolated by superficial extension from a spore suspension obtained from small pieces of lesions placed on culture media to induce sporulation. Of 13 culture media tested for growth and sporulation of the fungus, V-8 juice agar, potato dextrose agar, and tomato juice agar plus calcium carbonate showed the best results. These media were adjusted to pH 6.0. The plates with the inoculated media were maintained under continuous cool white light at 25-30 °C and 45-70% RH during four days. In the pathogenicity tests in was found that the fungus infected *Sorghum bicolor*, *S. halepense*, and *S. verticilliflorum*, but not *Zea mays*.

Additional key word: *Cercospora sorghi*

## INTRODUCCION

La mancha en cadena del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), atribuida a una forma adaptada de *Cercospora sorghi* Ell. & Ev. (5), es una enfermedad de la cual se conoce muy poco en nuestro país, a pesar que su incidencia se ha incrementado notablemente en los últimos años y que puede llegar a causar daños de consideración al cultivo.

La literatura revisada indica que existe muy poca información acerca de las características culturales del patógeno. Ciccarone (5) señaló que en medio agarificado sintético y en agar papa dextrosa, el hongo causante de la mancha en cadena del sorgo, aislado a partir de tejido foliar afectado, solo produjo colonias de desarrollo lentísimo, con micelio inmerso y luego ligeramente elevado, de tonalidad verde oliváceo. El mismo autor (5) tampoco pudo lograr la esporulación del hongo usando otros sustratos y hojas de sorgo previamente esterilizadas. Pruebas de patogenicidad, utilizando trozos de colonias sin esporular como inóculo, dieron resultados negativos (5).

Varios investigadores (3, 4, 10, 14, 16) han señalado la dificultad de obtener *in vitro* un buen desarrollo y esporulación de especies de *Cercospora*, para la realización de pruebas de patogenicidad.

Kilpatrick y Johnson (8) señalaron que utilizando agar hojas de zanahoria obtuvieron poca y moderada esporulación de *C. sorghi*, aislado a partir de *Sorghum halepense* y *S. vulgare*, respectivamente. Sin embargo, esto no ocurría cuando el medio de cultivo era sometido a presión para su esterilización. Estos autores no obtuvieron esporulación con el medio agar raíz de zanahoria.

Wall *et al.* (17) mencionaron que no existe una buena

técnica para inocular *C. sorghi*, debido a la dificultad para obtener abundante esporulación *in vitro*. Sembrando discos de agar con micelio del hongo, de 10 d de edad, en agar jugo V-8 y utilizando luz ultravioleta por 48 h y luego 24 h de oscuridad, obtuvieron una esporulación de  $3 \times 10^6$  conidios por caja de Petri (17).

La presente investigación fue llevada a cabo con el propósito de inducir *in vitro* la esporulación del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo, estudiar sus características culturales y efectuar las correspondientes pruebas de patogenicidad. Avances de los resultados de este trabajo, fueron presentados con anterioridad en forma de resúmenes (11, 12, 13).

## MATERIALES Y METODOS

**Origen de las muestras.** Para el aislamiento del hongo fueron utilizadas muestras foliares de falso johnson (*Sorghum verticilliflorum* (Steud.) Stapf), que exhibían síntomas típicos de la enfermedad (Fig. 1), recolectadas en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay. Parte de este material fue depositado en el Herbario Micológico del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP), Maracay (colecciones VIA 4907, 4958 y 4965).

**Inducción del crecimiento del hongo sobre sustrato natural.** Hojas con síntomas característicos de la enfermedad se limpiaron con un algodón humedecido con agua para retirar posibles restos de polvo y tierra. A continuación, se cortaron trozos de áreas afectadas que presentaban signos del hongo y que previamente habían sido desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3% durante 2 min y lavadas con agua destilada estéril por 1 min. Estos

trozos fueron colocados sobre papel de filtro en cajas de Petri estériles, para eliminar la humedad. Sobre el mismo papel de filtro fueron divididos en trocitos de ca 2 x 2 mm o mantenidos completos (ca 4 x 20 mm) para ser utilizados en siembra directa en medios agarificados y cámaras húmedas, respectivamente.

Para la siembra directa en medios agarificados se añadió 1 ml de Rifocina (rifamicina) o Ampicilina (penicilina) (0,3 g/l) a cada caja de Petri al momento de verter el medio de cultivo, para evitar contaminación bacteriana. Una vez solidificado, se procedió a colocar 4-5 trocitos de tejido afectado por caja.

Para la preparación de cámaras húmedas se utilizaron cajas de Petri de 10 y 15 cm de diam, que contenían tres discos de papel de filtro cada una, esterilizadas en horno a 180°C durante 90 min. El papel se humedeció con 3 a 5 ml de agua destilada estéril de acuerdo al diámetro de la placa y sobre él se colocaron 10-20 trozos de tejido afectado por caja.

**Siembra del hongo.** Para la siembra del hongo fueron probados tres métodos:

a) **Estricción:** Con un asa de platino humedecida en agua destilada estéril, se tocó la superficie de colonias esporuladas y luego se hicieron estrías sobre la superficie de los medios de cultivo (7).

b) **Deslizamiento de lesiones esporuladas sobre la superficie del medio:** Trozos de tejido afectado fueron sembrados directamente en medios agarificados para inducir la esporulación del hongo. Luego, estos trozos se deslizaron en posición invertida sobre la superficie de los medios de cultivo.

c) **Extensión en superficie:** 10-15 trocitos de lesiones con el hongo esporulado se colocaron en un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril más 0,5 ml de Rifocina o Ampicilina (0,3 g/l). Con la ayuda de una varilla de vidrio se procedió a macerar los trocitos para que el micelio y los conidios quedaran libres. Esta suspensión fue pipeteada sobre los medios de cultivo a razón de 1 ml/caja, y luego se extendió sobre la superficie del medio con la ayuda de una espátula de vidrio (7).

Una vez que el hongo era sembrado sobre el medio de cultivo, las placas se colocaron durante 4 d bajo luz fluorescente blanca fría, continua, proveniente de un bombillo de 15 W, separado 15 cm de las placas, a temperatura de 25-30 °C y humedad relativa de 45-70%.

**Efecto de la luz y el pH sobre el crecimiento y esporulación.** El hongo una vez sembrado en los medios de cultivo, fue sometido a varios tratamientos que incluían luz fluorescente blanca fría, continua, durante 4-5 d; luz y oscuridad en forma alterna (12 h luz y 12 h oscuridad) por 4-5 d; oscuridad continua durante 4-5 d; y luz ultravioleta por 48 h y luego 24 h de oscuridad.

Los medios de cultivo fueron ajustados a un rango de pH entre 4,5 y 7,0, ambos inclusive, con intervalos de 0,5 unidad de pH. Después de la siembra de las placas fueron sometidas a la luz fluorescente blanca fría, continua, durante 4 d.

En todos los métodos y pruebas anteriormente descritos, los medios de cultivo utilizados fueron: agar jugo de ocho verduras, agar conejarina y agar jugo de tomate más carbonato de calcio, ajustados a pH 6,0. Estos medios han sido señalados por la literatura para el crecimiento y esporulación de *C. sorghi* y otras especies de *Cercospora* (1, 15, 17).

### **Esporulación de diferentes medios de cultivo.**

Una suspensión de 100.000 conidios/ml, a razón de 1 ml/placa, se sembró por extensión en superficie en los siguientes medios de cultivo ajustados a pH 6,0 y esterilizados en autoclave durante 15 min a 121 °C y 15 lb/pulg<sup>2</sup> de presión: agar jugo de ocho verduras (AJV-8) (2), agar jugo de tomate más carbonato de calcio (AJT+CC)(15), agar conejarina (AC)(1), agar papa dextrosa (PDA)(1), agar sorgo avena (ASA) basado en Smith (14), agar extracto de sorgo (AES) basado en Kilpatrick y Johnson (8), agar harina de maíz (AHM) preparado en el laboratorio (natural) y procedente de la casa Difco (1), agar hojas de zanahoria (AHZ)(8), agar harina de maíz más carbonato de calcio (AHM+CC), agar papa dextrosa más carbonato de calcio (PDA+CC), agar conejarina más carbonato de calcio (AC+CC) y agar harina de avena (AHA)(1). Las placas así preparadas se incubaron por 4 d bajo luz fluorescente blanca fría, continua. Al cabo de ese tiempo, se prepararon suspensiones de conidios, agregando 9 ml de agua destilada estéril a cada placa, para determinar el número de esporas. Para ello se utilizó una cámara Neubauer marca Hauser, ultraplana (1/400 mm<sup>2</sup> y 1/10 mm de profundidad).

Considerando un diseño completamente aleatorizado con doce tratamientos (medios de cultivo) y ocho repeticiones, se realizó el análisis de la varianza y la comparación de medias por la prueba de rango múltiple de Duncan, para establecer grupos de medios de cultivo en relación al grado de esporulación observado en ellos.

Aun cuando no se determinó la influencia de la temperatura en el crecimiento y esporulación del hongo, en todas las pruebas realizadas la temperatura varió en un rango de 25 a 30 °C.

**Pruebas de patogenicidad.** Para la realización de las pruebas de patogenicidad se utilizó sorgo (*S. bicolor*) cvs Atlas, Rio, Wray y RTx-430; maíz (*Zea mays* L.) cvs Pajimaca, Arichuna y Ohio-28; falso johnson (*S. verticilliflorum*) y paja johnson (*S. halepense* (L.) Pers.). Semillas de estas especies se colocaron a pregerminar en cajas de Petri con papel filtro humedecido y al cabo de 2-3 d, se procedía a sembrarlas en materos plásticos de 0,5 l de capacidad, con una mezcla de tierra negra y arena en la proporción 3:1 (v/v, respectivamente) esterilizada en autoclave (121 °C y 15 lb/pulg<sup>2</sup>) durante 2 h. Las plantas de 20-30 d de edad fueron inoculadas con una suspensión de 100.000 conidios/ml y luego se colocaron en un ambiente con temperatura promedio de 27 °C y humedad relativa de 90-100% durante 36 h. Posteriormente las plantas fueron colocadas en una jaula cubierta con una malla fina, a una temperatura promedio de 27 °C y humedad relativa de 70% hasta la aparición de los síntomas. A la suspensión de inóculo se agregó 3 gotas de Tween 80- Difco por cada 100 ml de suspensión. Las plantas testigos fueron inoculadas con agua destilada estéril y sometidas a las mismas condiciones. De cada uno de los materiales probados fueron inoculadas 25-35 plantas.

**Conservación del hongo aislado.** De una suspensión de micelio y conidios preparada a partir de colonias del hongo, se sembró 0,5 ml por cada tubo de ensayo (18 x 150 mm) con AJV-8 en cuña. Los tubos se mantuvieron a 25 -30 °C, bajo luz fluorescente continua por 4 d para obtener una esporulación abundante. Posteriormente se conservaron en una nevera a 8-10 °C.

## RESULTADOS Y DISCUSION

**Características culturales.** En relación a los métodos utilizados para inducir el crecimiento del hongo sobre sustrato natural, la siembra directa de trocitos de lesiones en medios agarificados permitió obtener colonias compactas y bien esporuladas, lo cual era indispensable para la siembra del hongo en los medios de cultivo. En el caso de cámara húmeda, se produjo una menor esporulación y se observó cierto grado de contaminación con bacterias y levaduras.

La siembra por extensión en superficie permitió obtener el mayor número de colonias por caja de Petri (Fig. 2). Este método fue utilizado con éxito por Beckman y Payne (3) para la siembra de *Cercospora zae-maydis* en AJV-8. Con el método de siembra por estrización se observó el menor número de colonias.

En siembras realizadas con suspensiones que presentaban una alta concentración de conidios, se obtuvo poco micelio y gran esporulación. Nagel (10) y Calpouzos y Stallknecht (4) obtuvieron resultados similares con varias especies de *Cercospora*.

Al someter al hongo a luz fluorescente continua por 4-5 d se obtuvo una esporulación relativamente abundante. Con luz y oscuridad en forma alterna (12 h luz y 12 h oscuridad) por 4-5 d se observó mayor formación de micelio y poca esporulación, mientras que con oscuridad continua por 4-5 d sólo formó micelio. Cuando el hongo fue sometido a luz ultravioleta por 48 h y luego 24 h de oscuridad, se observó formación de micelio y numerosas clamidosporas. De acuerdo a estos resultados la luz fluorescente continua juega un papel muy importante en la esporulación del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo.

A pH 6,0 se observó el mayor crecimiento del hongo y la más alta esporulación, lo cual coincide con la señalado para la mayoría de los hongos (1). A valores de pH comprendidos entre 4,5 y 5,5 se observó poco desarrollo de micelio y una escasa esporulación. A pH 6,5 y 7,0 el hongo generalmente produjo sólo micelio.

La producción de esporas en los diferentes medios de cultivo expresada en valores promedio de conidios/ml se presenta en el Cuadro 1. El promedio más bajo de producción se obtuvo en los medios AES, AC + CC, AC y AHM-Difco, con valores que oscilaron entre 115.625 y 215.625 conidios/ml. Un nivel considerado como intermedio se observó en los medios AHM+CC, AHM-natural, PDA+CC, AHA y ASA, con una concentración de 340.625 a 621.875 conidios/ml. Los medios de cultivos AJT+CC, PDA y AJV-8, presentaron la producción más alta de conidios con valores entre 1.318.750 y 1.968.750 conidios/ml.

La producción de conidios en el medio AHZ no se presenta en el Cuadro 1, por problemas con el medio al momento de la siembra. Sin embargo, en pruebas preliminares se obtuvo una esporulación de 50.000 - 125.000 conidios/ml.

El análisis de la varianza para conidios/ml mostró diferencias altamente significativas entre medios de cultivo, lo cual confirma las diferencias entre los valores absolutos de conidios/ml presentados en el Cuadro 1. De acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan, los medios de cultivo quedaron agrupados de la manera siguiente: Un primer grupo formado por AJV-8, cuyo valor de producción promedio de conidios/ml fue de 1.968.750. Un segundo grupo conformado por PDA y AJT+CC, con

Cuadro 1. Producción de conidios del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo en diferentes medios de cultivo.

| Medio de cultivo                                   | Conidios/ml <sup>(1)</sup> |                  |
|--|----------------------------|------------------|
| Agar jugo de ocho verduras (AJV-8)                 | 1.968.750                  | a <sup>(2)</sup> |
| Agar papa dextrosa (PDA)                           | 1.365.625                  | b                |
| Agar jugo de tomate + carbonato de calcio (AJT+CC) | 1.318.750                  | b                |
| Agar sorgo avena (ASA)                             | 621.875                    | c                |
| Agar harina de avena (AHA)-Difco                   | 500.000                    | c d              |
| Agar papa dextrosa + carbonato de calcio (PDA+CC)  | 428.125                    | c d e            |
| Agar harina de maíz (AHM)                          | 359.375                    | c d e            |
| Agar harina de maíz + carbonato de calcio (AHM+CC) | 340.625                    | c d e            |
| Agar harina de maíz (AHM)-Difco                    | 215.625                    | d e              |
| Agar conejarina (AC)                               | 193.750                    | d e              |
| Agar conejarina + carbonato de calcio (AC+CC)      | 178.125                    | d e              |
| Agar extracto de sorgo (AES)                       | 115.625                    | e                |

(1) Valor promedio de 8 repeticiones.

(2) Medias seguidas por una letra común, no son significativamente diferentes en el nivel de 5%, de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan.

valores de producción promedio de conidios/ml que oscilaron entre 1.318.750 y 1.365.625. Un tercer grupo lo conforman ASA, AHA-Difco, PDA+CC, AHM y AHM+CC, con valores que oscilaron entre 340.625 y 621.875 conidios/ml. Un cuarto grupo constituido por AHA-Difco, PDA+CC, AHM, AHM+CC, AHM-Difco, AC y AC+CC, presentando valores que fluctuaron entre 193.750 y 500.000 conidios/ml. Un quinto grupo integrado por PDA+CC, AHM, AHM+CC, AHM-Difco, AC, AC+CC y AES, con valores que oscilaron entre 115.625 y 428.125 conidios/ml.

De acuerdo a los resultados obtenidos, AJV-8, PDA y AJT+CC resultaron, en ese mismo orden, los mejores medios para la esporulación del hongo. AJV-8 ha sido recomendado por algunos investigadores para el crecimiento y esporulación de *C. sorghi* (17), *C. zae maydis* (3) y otras especies de *Cercospora* (1).

Wall *et al.* (17) obtuvieron una producción de  $3 \times 10^6$  conidios/placa de *C. sorghi* en AJV-8, bajo luz ultravioleta por 48 h y luego 24 h de oscuridad. Sin embargo, utilizando esta metodología en el presente estudio, sólo se obtuvo formación de micelio anormal con presencia de numerosas clamidosporas.

Beckman y Payne (3), trabajando con *C. zae-maydis*, obtuvieron una esporulación muy pobre sobre PDA. Ciccarone (5) no pudo lograr la esporulación del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo en PDA. No obstante, en el presente trabajo se logró una alta esporulación (1.365.625 conidios/ml) en ese medio.

AC, el cual figura entre los medios de cultivo en los cuales se produjo menor esporulación, ha sido sugerido para inducir esporulación en diferentes especies de *Cercospora* (1).

En AHZ se obtuvo 50.000-125.000 conidios/ml, lo cual sitúa este medio en el grupo 5 de acuerdo a la prueba de

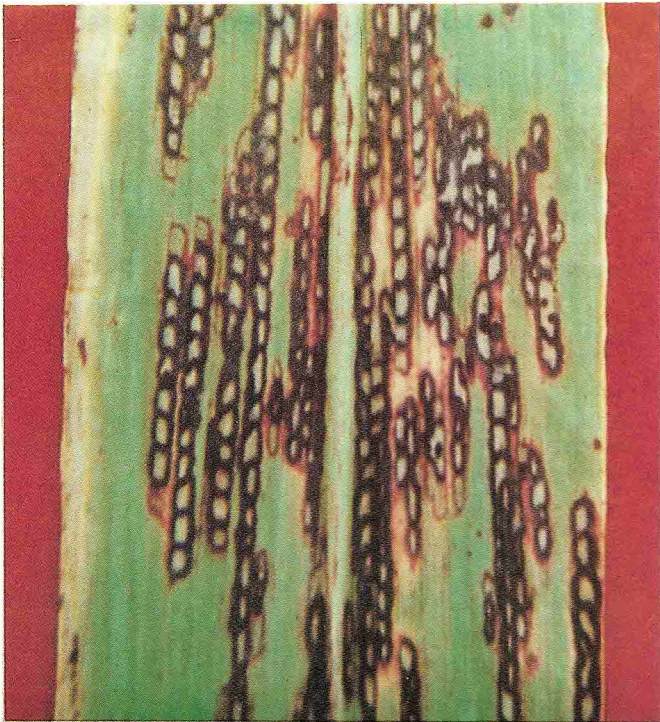


Fig. 1. Síntomas inducidos por el hongo causante de la mancha en cadena del sorgo en sorgo (*S. bicolor*) infectado naturalmente.

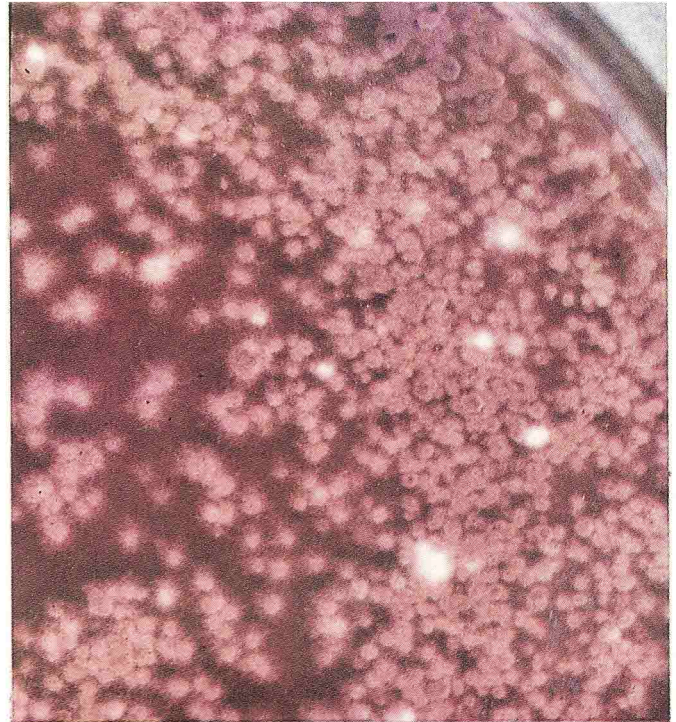


Fig. 2. Colonias del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo en agar jugo de ocho verduras (AJV-8).

medias. Kilpatrick y Johnson (8), obtuvieron poca o moderada esporulación de *C. sorghi* en AHZ, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, pues, el grupo 5 corresponde a los medios donde se produjo escasa esporulación.

Los otros medios de cultivo utilizados en este trabajo, no aparecen citados en la literatura revisada para el crecimiento y esporulación de *Cercospora* spp.

**Pruebas de patogenicidad.** Todos los cultivares de sorgo probados resultaron susceptibles al hongo. Los síntomas iniciales se manifiestan a los 8-10 d después de la inoculación, en forma de puntos o pequeñas lesiones rectangulares (1 x 4 mm) de color púrpura, en cualquier sitio de la lámina foliar. El dinamismo del síntoma fue lento y la forma típica de cadena apareció entre los 25-35 d después de la inoculación.

Las especies *S. halepense* y *S. verticilliflorum* también resultaron susceptibles, notándose una mayor susceptibilidad por parte de *S. verticilliflorum*. En esta última especie, el síntoma de mancha en cadena se observó a partir de los 10-15 d, tanto en la lámina foliar como en la hoja envainadora.

A nivel de campo, se observó frecuentemente una alta incidencia de la mancha en cadena del sorgo en *S. verticilliflorum*, lo cual confirma los resultados de las pruebas de patogenicidad y sugiere que esta maleza debe jugar un papel muy importante en la epidemiología de esta enfermedad.

Los cultivares de maíz 'Pajimaca', 'Arichuna' y 'Ohio-28', no presentaron síntomas de la enfermedad después de 60 d de haber sido inoculados. Ellis y Everhart (6) y Mulder y Holliday (9) citaron que *C. sorghi* infectaba al maíz. Esto sugiere que el hongo causante de la mancha en cadena del sorgo es diferente de *C. sorghi*.

La mancha en cadena del sorgo se observa con una alta frecuencia en plantas maduras. Sin embargo, las pruebas de patogenicidad demostraron que cuando las plantas son jóvenes y se dan las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo, éstas pueden ser infectadas.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su gratitud a la Dra. Ninoska Pons (FONAIAP-CENIAP, Maracay) por la revisión crítica del manuscrito, y al Prof. C.B. Mazzani (UCV, Fac. Agronomía, Maracay), por sus sugerencias y suministro de algunos materiales y equipos.

#### LITERATURA CITADA

1. American Type Culture Collection. 1987. Catalogue of FUNGI/YEASTS, 17th. ed. Rockville, EE.UU. 532 pp.
2. Beckman, P.M. and Payne, G.A. 1982. External growth, penetration, and development of *Cercospora zeae-maydis* in corn leaves. *Phytopathology* 72: 810-815.
3. Beckman, P.M. and Payne, G.A. 1983. Cultural techniques and conditions influencing growth and sporulation of *Cercospora zeae-maydis* and lesion development in corn. *Phytopathology* 73: 286-289.
4. Calpouzos, L. and Stallknecht, G.F. 1965. Sporulation of *Cercospora beticola* affected by an interaction between light and temperature. *Phytopathology* 55: 1370-1371.
5. Ciccarone, A. 1950. Alcune osservazioni su *Cercospora sorghi* E et E. *Annali della Sperimentazioni Agraria (Roma)* 4: 281-288.
6. Ellis, J.B. and Everhart, B.M. 1887. *Cercospora sorghi*. *Journal of Mycology* 3: 15.
7. French, E.R. y Hebert, T.T. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Costa Rica. 289 pp.

8. Kilpatrick, R.A. and Johnson, H.W. 1956. Sporulation of *Cercospora* species on carrot leaf decoction agar. *Phytopathology* 46: 180-181.
9. Mulder, J.L. and Holliday, P. 1974. *Cercospora sorghi*. Description of pathogenic Fungi and Bacteria N° 419. Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 2 pp.
10. Nagel, C.M. 1934. Conidial production in species of *Cercospora* in pure culture. *Phytopathology* 24: 1101-1110.
11. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Medios de Cultivo para la esporulación del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo (*Sorghum bicolor*). *Fitopatol. Venez.* 1: 45 (Resumen).
12. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Patogenicidad del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo. *Fitopatol. Venez.* 1:46 (Resumen).
13. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Técnicas para el aislamiento del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo. *Fitopatol. Venez.* 1:46 (Resumen).
14. Smith, D.H. 1971. A simple method for producing *Cercospora arachidicola* conidial inoculum, *Phytopathology* 61: 1414.
15. Ulloa, M. y Hanlin, R.T. 1978. Atlas de Micología Básica. México, Concepto, S.A. 157 pp.
16. Vatakos, M.G. and Walters, H.J. 1979. Production of conidia by *Cercospora kikuchii* in culture. *Phytopathology* 69: 832-833.
17. Wall, G.C., Odvody, G.N., and Frederiksen, R.A. 1983. A field inoculation technique for *Cercospora sorghi* in sorghum. *Phytopathology* 73: 507.