

PRUEBAS DE RESISTENCIA DE LINEAS DE GARBANZO A ENFERMEDADES DE LA RAIZ

Por María Elena Huitrón M. y Alfredo Campos Tierrafría

Se estudia la resistencia de quince líneas de garbanzo *Cicer arietinum* L. a varios géneros de hongos de plantas de garbanzo enfermas, encontrándose una amplia variabilidad de respuesta a los distintos hongos inoculados.

Uno de los factores limitantes en el aumento de la producción de garbanzo por unidad de superficie, ha sido el relativo a las enfermedades y, en especial, a las enfermedades causantes de la pudrición de la raíz.

El presente trabajo es un estudio de las enfermedades de la semilla y de la raíz del garbanzo, en el cual se han analizado los efectos producidos por ciertos patógenos conocidos por su virulencia en este cultivo y se le ha dado énfasis especial a la prueba y obtención de líneas resistentes, para que en el futuro se pueda hacer una mejor planeación de sistemas de hibridación y mejoramiento de este cultivo.

Revisión de literatura

Los primeros estudios en México sobre estas enfermedades se hicieron entre 1922 y 1925 suponiéndose que los factores que predisponían a la marchitez eran defectos del terreno utilizado para el cultivo, pero sin llegar a establecer exactamente la causa. Casi al mismo tiempo, diversos investigadores aislaron varios hongos de plantas de garbanzo con marchitez, entre los que se encontraban especies de *Fusarium* y *Sclerotium rolfsi* obteniendo resultados negativos al utilizarlos en inoculaciones experimentales. Sin embargo, estudios hechos de 1928 a 1942 demostraron la patogenicidad de *Fusarium* y de *Rhizoctonia*, hongos obtenidos de plantas enfermas en estos años, encontrándose que algunas aislamientos de *Fusarium* causaban pudrición severa de la semilla, y otros, marchitez.

Erwin (1957), además de tener un aislamiento de *Fusarium* como posible patógeno de la marchitez de las plantas de garbanzo, obtuvo el hongo *Verticillium albo-atrum* y demostró su patogenicidad en el garbanzo al producir necrosis del xilema y marchitez en las plantas inoculadas. Garza Chapa (1961), en estudios realizados en México, encontró que organismos de los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Sclerotium* y *Sclerotinia*, ocasionaban la pudrición de las semillas sembradas en el campo y la marchitez en las plantas de garbanzo.

Delacroix (1919) señaló que los síntomas de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. *pisi*, eran enanismo y amarillamiento del follaje, así como la falta en la formación de las vainas. Este autor suponía que el organismo se diseminaba por las semillas infectadas, pudiendo permanecer indefinidamente en el suelo, necesitando de dos o más años para apreciar visiblemente una ligera existencia de la enfermedad, ya que la multiplicación del inóculo es muy lenta. Además, los efectos en la

planta eran a veces tan graduales que podían transcurrir veinticinco días después de la inoculación, antes de que se presentaran los síntomas, dependiendo de la temperatura y de la cantidad de inóculo presente en el suelo.

McRae (1932) encontró *Rhizoctonia solani* (*Corticium* sp.) y una nueva especie de *Sclerotium* en el cuello y la raíz de plantas de garbanzo que presentaban marchitez, resultando ambos organismos patógenos en pruebas experimentales. En el siguiente año, otro investigador observó cultivos muy dañados por la pudrición del cuello y la raíz, debido a *Rhizoctonia violacea* (*Helicobasidium purpureum*).

Además de los patógenos citados anteriormente, se han encontrado otros géneros de microorganismos causantes de las mismas enfermedades en el garbanzo. Así, otro hongo, *Phytophthora citrophthora*, fue considerado por Frezzi (1951) como el agente causal de una pudrición de la raíz del garbanzo encontrada en Argentina. Rangaswami (1961) encontró una bacteria, *Xanthomonas cassiae*, como causante de una pudrición post-emergente en la cual la radícula presentó lesiones húmedas de color pardo oscuro atacando los tejidos, y la plántula se marchitó en tres o cuatro días. Por otro lado, han sido estudiados algunos mecanismos de resistencia encontrados en plantas no susceptibles a los hongos mencionados, y, según algunos autores, existe alguna acción selectiva de los exudados de la raíz que afecta el desarrollo de los patógenos del suelo, inhibiéndolo tanto en un sentido específico, como general. Otros autores se refieren al mecanismo de acción patogénico de algunos de estos hongos, suponiendo que las hifas fungales causan un taponamiento mecánico de los vasos, o bien que los hongos excretan sustancias tóxicas, ocasionando la marchitez de la planta huésped.

Con respecto a variedades resistentes a estas enfermedades existen pocos trabajos en la literatura, siendo uno de ellos el efectuado por Mathur (1961) en la India. Este investigador logró obtener seis de 94 líneas de *Cicer arietinum* como resistentes a *Fusarium orthoceras* var. *ciceri* con menos del 10% de plantas marchitas en suelos fuertemente infestados.

Materiales y métodos

La colección de plantas de garbanzo con síntomas de enfermedad, principalmente en la raíz, se hizo en diferentes fechas en los siguientes lugares: El Crucero, Jala, Mpio. de San Martín, Hgo.; Ciudad Obregón, Son.; Corralejo, Gto.; La Piedad, Mich.; Valle de Santiago, Gto.; y Chapingo, Méx. En este último se colectaron semillas que, habiendo sido sembradas, no llegaron a germinar debido a pudrición de las mismas.

Para aislar los microorganismos causantes de las enfermedades en estudio, se desinfectaron superficialmente las raíces y semillas enfermas, lavándolas previamente con agua de la llave; se cortaron en trocitos de 3 a 5 mm y se lavaron con agua destilada estéril. En seguida se procedió a la desinfección mediante una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% en agua destilada estéril, en la que se mantuvieron los cortes durante 30 segundos, repitiéndose el lavado mediante varios cambios de agua destilada estéril. Después se sembraron en un medio de cultivo de papa-dextrosa-agar (Difco).

Los microorganismos obtenidos se aislaron y purificaron. En la mayoría de los hongos aislados sólo se llegó a clasificar hasta género (ver Cuadro 1). Los aislamientos bacterianos no se identificaron debido a que ninguno de ellos se probó en las líneas de garbanzo en estudio; solamente se hizo una breve descripción de las características de cultivo que presentaron las colonias desarrolladas en tubos de ensaye conteniendo papa-dextrosa-agar.

CUADRO 1

Número de colección, nombre botánico y origen de los aislamientos de hongos utilizados en las pruebas de resistencia de varias líneas de garbanzo

NÚMERO DE COLECCION	HONGOS	LUGAR DE ORIGEN
XX	<i>Rizoctonia</i> sp.	Valle de Santiago, Guanajuato
LXIII	<i>Sclerotium</i> sp.	Valle de Santiago, Guanajuato
LIII	<i>Fusarium</i> sp. (*)	Chapingo, México
LJ	<i>Fusarium</i> sp.	Valle de Santiago, Guanajuato
LIV	<i>Fusarium</i> sp.	Valle de Santiago, Guanajuato
XIX	<i>F. oxysporum</i>	San Martín, Hidalgo
I	<i>Verticillium</i> sp.	San Martín, Hidalgo
I'	<i>Verticillium</i> sp.	Ciudad Obregón, Sonora
XIV	<i>Sclerotinia</i> sp.	Valle de Santiago, Guanajuato

(*) Hongo con micelio rojo carmín obtenido de semilla podrida sembrada en el campo sin llegar a germinar.

Con el objeto de inocular los hongos aislados de raíces con pudrición, en semillas de diferentes líneas de garbanzo y probar la resistencia o susceptibilidad de éstas, se hicieron varias pruebas de desinfección para obtener semillas y plantas sanas. De esta manera, se procuró evitar cualquier interferencia por parte de hongos y bacterias provenientes de semillas de garbanzo cosechadas y almacenadas durante un año.

Las líneas de garbanzo probadas en este trabajo se presentan en el Cuadro 2 y corresponden a las que dieron un mejor rendimiento durante la cosecha de 1961-1962, en el Campo Agrícola Experimental "La Cal Grande", cerca de La Piedad, Michoacán, demostrando una mayor resistencia a las enfermedades de la raíz bajo condiciones de campo, así como mejores condiciones agronómicas. Como desinfectantes se utilizaron las siguientes sustancias: agua caliente, hipoclorito de sodio (compuesto halogenado), complejo estreptomycina-oxitetraclina (Agrimycin 100), un compuesto orgánico de mercurio (Tillantina-DP), hidroximercurio-clorofenol (Uspulum soluble), bicloruro de mercurio, y fosfato de etil-mercúrico (Semesan Jr.).

Se hicieron dos tipos de tratamiento de desinfección: 1) En húmedo, en los que se utilizaron desinfectantes en forma de solución, y 2) En seco, efectuados con desinfectantes en polvo. En ambos tipos se usaron los desinfectantes en forma individual y combinada, en varias concentraciones y tiempos de exposición de las semillas. Con el propósito de eliminar el desinfectante y observar su eficacia, se lavaron las semillas y se colocaron en matraces Erlenmeyer, que contenían, como medio de cultivo, papa-dextrosa-agar o suelo estéril.

CUADRO 2

Número de colección y origen de las mejores líneas de garbanzo utilizadas en las pruebas de resistencia. La Cal Grande, Mich., Verano de 1961.

LÍNEA C - 61 - 62	Número de colección	Lugar de origen
4	C - 128	Sahuayo, Michoacán
14	C - 8	Villagrán, Guanajuato
15	C - 81	Carretera Salamanca-Morelia
16	C - 21	Palo Blanco, Guanajuato
18	C - 96	Morelia, Michoacán
19	S - 31	(B-22-1) Morelia, Michoacán
20	C - 147	El Capulín, Jalisco
23	C - 20 - 1	Palo Blanco, Guanajuato
24	C - 20 - 2	Palo Blanco, Guanajuato
27	S - 22	(B-6-1) Morelia, Michoacán
30	P - 61 - R	Bajío (desconocido)
32	C - 44 - 6	Valle de Santiago, Guanajuato
33	C - 44 - 18	Valle de Santiago, Guanajuato
35	R - S - 10	Kala (Negro liso), India
36	C - 44 - 1	Valle de Santiago, Guanajuato

El inóculo utilizado en las pruebas de resistencia se multiplicó en matraces Erlenmeyer de 250 ml de capacidad, conteniendo 60 ml de medio de cultivo líquido a base de papa y dextrosa y a 25°C durante tres días. Las semillas de cada línea de garbanzo a probar se seleccionaron utilizándose las más sanas en apariencia. Estas se desinfectaron por medio del tratamiento que resultó como el más eficiente en las pruebas de desinfección y se lavaron con agua destilada y estéril.

Después de la desinfección, las semillas se dejaron en reposo durante 12 horas, sin estar en contacto con agua libre; pasando este tiempo, se inocularon con los hongos seleccionados. Antes de cada inoculación se mezcló el inóculo de tres matraces correspondiente a un solo aislamiento, se colocó en una caja de Petri estéril y las semillas desinfectadas se sumergieron en este medio durante dos minutos; se tuvieron testigos con semillas desinfectadas no inoculadas. Después de la inoculación, se sembraron las semillas en suelo estéril contenido en recipientes de tres tipos (matraces Erlenmeyer, vasos de plástico y macetas de barro) con el propósito de observar si existían diferencias en la patogenicidad bajo diferentes condiciones de desarrollo. En el caso de los matraces, la humedad fue más alta que en los recipientes de plástico y menor aún en los de barro. Se sembraron 8 semillas inoculadas y 8 no inoculadas (testigos) por línea de garbanzo y por tipo de recipiente. Lo anterior se efectuó con cada uno de los hongos inoculados.

En seguida de la siembra de todas las líneas en estudio, el inóculo sobrante de cada aislamiento se distribuyó uniformemente en los recipientes, procurándose que este inóculo quedara en contacto con las semillas ya sembradas. Los matraces, vasos de plástico y macetas de barro conteniendo las semillas inoculadas y las no inoculadas, se trasladaron al invernadero, en donde las condiciones de humedad y temperatura prevalentes se registraron en un higrotermógrafo. Se utilizó agua de la llave esterilizada para el riego diario de los vasos de plástico y las macetas de barro.

Resultados

La sintomatología del material colectado fue variable debido a que correspondió a un complejo de microorganismos y condiciones ambientales, resultando difícil delimitar los síntomas causados por cada organismo bajo condiciones de campo. En general, éstos fueron los siguientes:

Decaimiento de las hojas y necrosis de los tejidos en el cuello y raíces principales; el 50 por ciento de las muestras presentaron la raíz trozada a una altura de 3 o 4 cm abajo de la corona, observándose una lesión muy avanzada en este nivel. En otros casos, también con infección avanzada, las raíces tuvieron una pudrición seca, escasas raicillas y una constricción de la raíz principal que podía presentarse a una altura que iba de 1.5 cm a 3 o 4 cm abajo de la corona, en la llamada región desnuda de la raíz. Además, se observaron lesiones en forma de manchas superficiales de color pardo a negro sobre la misma raíz.

En algunos casos la raíz presentó solamente lesiones superficiales. Se hicieron cortes transversales y se notó una pudrición parda oscura en el centro, quedando los márgenes de color claro normal. Hacia arriba de la raíz, la pudrición se extendió hasta que sólo ocupó un punto en el centro del cilindro central de la raíz, llegando en ocasiones a la parte inferior del tallo. En resumen, las lesiones en la raíz variaron desde simples manchas pardas superficiales e irregulares en distintos niveles, hasta la completa desintegración de la raíz.

Con respecto al follaje, éste permaneció normal hasta antes de la floración, época en la que comenzó a marchitarse y en la cual se observó que la pudrición de la raíz ya estaba avanzada. La mayor parte de las colecciones se hicieron en esa etapa del ciclo vegetativo, debido a que hasta ese momento se pudo deducir a simple vista en el campo la incidencia de marchitez. El follaje presentó una marchitez general con amarillamiento de las hojas, hojas escasas y falta de formación de vainas; las plantas enfermas fueron un poco más pequeñas que las plantas sanas.

Las semillas colectadas en el campo, que no habían llegado a germinar, presentaron dos tipos de pudriciones: seca o suave. El primer tipo correspondió a semillas de una variedad comercial y el segundo, a semillas de la variedad California.

Con respecto a los desinfectantes probados para obtener semilla libre de microorganismos, el tratamiento combinado de hipoclorito de sodio y Agrimycin 100 (estreptomocina-oxitetraciclina) fue el más eficiente y, por lo tanto, el utilizado para desinfectar la semilla de las diferentes líneas de garbanzo probadas. Se hicieron diferentes combinaciones de las dos sustancias tomando en cuenta sus propiedades fungicida y bactericida, respectivamente, y se seleccionó una concentración de hipoclorito de sodio al 6% durante 10 minutos de exposición a la semilla y de Agrimycin 100 al 4% durante 10 minutos.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados del presente trabajo referentes a la resistencia o susceptibilidad de las diferentes líneas de garbanzo inoculadas en ciertos aislamientos de hongos de la raíz. Como puede observarse en este cuadro, *Sclerotinia* sp no fue patógeno en ninguna de las líneas sembradas en matraces Erlenmeyer y vasos de plástico; por consiguiente, este aislamiento no fue probado en las líneas de garbanzo sembradas en macetas de barro. *Rhizoctonia* sp fue altamente virulento

CUADRO 3

Sumario de la reacción de 15 líneas de garbanzo a nueve aislamientos de hongos bajo condiciones de invernadero, en matraces Erlenmeyer, vasos de plástico y macetas de barro

HONGOS	LINEAS DE GARBANZO Y SU REACCION														
	C-128	C-8	C-81	C-21	C-96	S-31	C-147	C-20-1	C-20-2	S-22	P-61-R	C-44-6	C-44-18	R-S-10	C-44-1
Sclerotinia sp.	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Fusarium sp (LIII)	S	R-S	R	S	S	S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	S	S	S	S
F. oxysporum	R-S	S	S	R-S	R-S	R-S	R	R	R-S	R-S	R	S	S	R-S	R-S
Sclerotium sp.	S	S	S	S	R-S	S	S	S	S	S	S	S-R	S	S	S
Rhizoctonia sp.	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sclerotinia sp.	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Fusarium sp (LIII)	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	S	R-S	S-R	S-R
F. oxysporum	S	R	S	R	R-S	R-S	R	R	S	R-S	S	S	S	S	S
Sclerotium sp.	R-S	R	R	R	R-S	R-S	S	S	S	R-S	R	R-S	R	S	R-S
Rhizoctonia sp.	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Fusarium sp (LIII)	R	R	R	R-S	R	R-S	R	R	R	S-R	R	R-S	R	R	R
F. oxysporum	R	R	R-S	R-S	R	R-S	R	R	R	R-S	R	R	R	R	R
Sclerotium sp.	R	R	R	R-S	S-R	R-S	R-S	R-S	R-S	R-S	R	R-S	S	S-R	R
Rhizoctonia sp.	S	S*	S	S*	S	S	S*	S*	S	S	S*	S	S	S	S
Fusarium sp (II)	R-S	R	R-S	S-R	S-R	R-S	S	R-S	R	S-R	R	R	R	R-S	S-R
Fusarium sp (LIV)	S	R-S	R-S	R	R	R	R	R-S	R	S	R	R	R-S	R-S	S-R
Verticillium sp (I)	R-S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Verticillium sp (I')	R	R	R-S	R	R	R	R-S	R	S	R	S-R	R	S-R	R	R-S

y las líneas probadas en los tres tipos de recipientes presentaron susceptibilidad en todos los casos.

La mayoría de las líneas inoculadas con *Fusarium* sp (LIII, micelio rojo) y *Fusarium oxysporum*, fueron susceptibles cuando las semillas se sembraron en matraces; de reacción variable (presentando unas plantas resistentes y otras susceptibles) cuando la siembra fue efectuada en vasos de plástico y resistentes cuando se utilizaron macetas de barro.

En el caso de *Sclerotium* sp., la mayoría de las líneas sembradas en matraces Erlenmeyer fueron susceptibles: en vasos de plástico, el 50% de las líneas fue de reacción variable y el 50% resistente; en macetas de barro, la mayoría fueron de reacción variable.

De los aislamientos de hongos que solamente se probaron en macetas de barro, *Fusarium* sp (II) produjo una reacción variable en la mayoría de las líneas; en *Fusarium* sp (LIV), aproximadamente la mitad de las líneas fueron resistentes y la otra mitad, susceptibles; en cambio con *Verticillium* sp (I) y *Verticillium* sp (I') inoculadas por separado, la mayoría de las líneas fueron resistentes.

Se tuvieron testigos en los tres tipos de recipientes utilizados pero no se anotaron en el Cuadro 3 por razones prácticas, pues tuvieron reacción resistente en todos los casos.

Con el propósito de relacionar el tipo de infección con el número de raíces secundarias obtenido en cada una de las líneas probadas, y ver si había o no correlación entre ellos, se efectuó un análisis de correlación para encontrar el coeficiente de correlación (r) que indicara el grado de asociación entre dos variables. Los datos obtenidos se llevaron a diagramas de dispersión, resultando una recta de pendiente negativa que indica que los datos obtenidos para el tipo de infección y para el número de raíces, se correlacionan, siendo, además, inversamente proporcionales. Este análisis resultó similar a los resultados de las pruebas de resistencia, concluyendo que con un tipo de infección menor se obtiene mayor número de raíces secundarias y viceversa. La recta en el diagrama de dispersión se normalizó por medio de la ecuación de regresión $Y = a + bx$.

Habiendo obtenido resultados positivos con respecto a la correlación de los tipos de infección (resistencia o susceptibilidad de las líneas probadas) con el número de raíces secundarias, se construyó un histograma para cada hongo inoculado. En la Figura 1 se muestran cuatro histogramas de los hongos más patógenos a las líneas probadas, en donde se observa la variabilidad entre las líneas en cuanto a su resistencia o susceptibilidad en función del número de raíces secundarias obtenido y calculado en tanto por ciento con respecto al número de raíces secundarias obtenido en las plantas testigo.

La significación estadística efectuada por medio del análisis de varianza indica: para el caso de las repeticiones no se obtuvo diferencia significativa, es decir que existió uniformidad en ellas; para el caso de los hongos, tampoco hubo diferencia significativa, señalando que son uniformes en cuanto a que causan el mismo tipo de enfermedad; con respecto a las líneas de garbanzo, la diferencia fue altamente significativa, habiendo variabilidad de respuesta entre ellas a los hongos probados, y

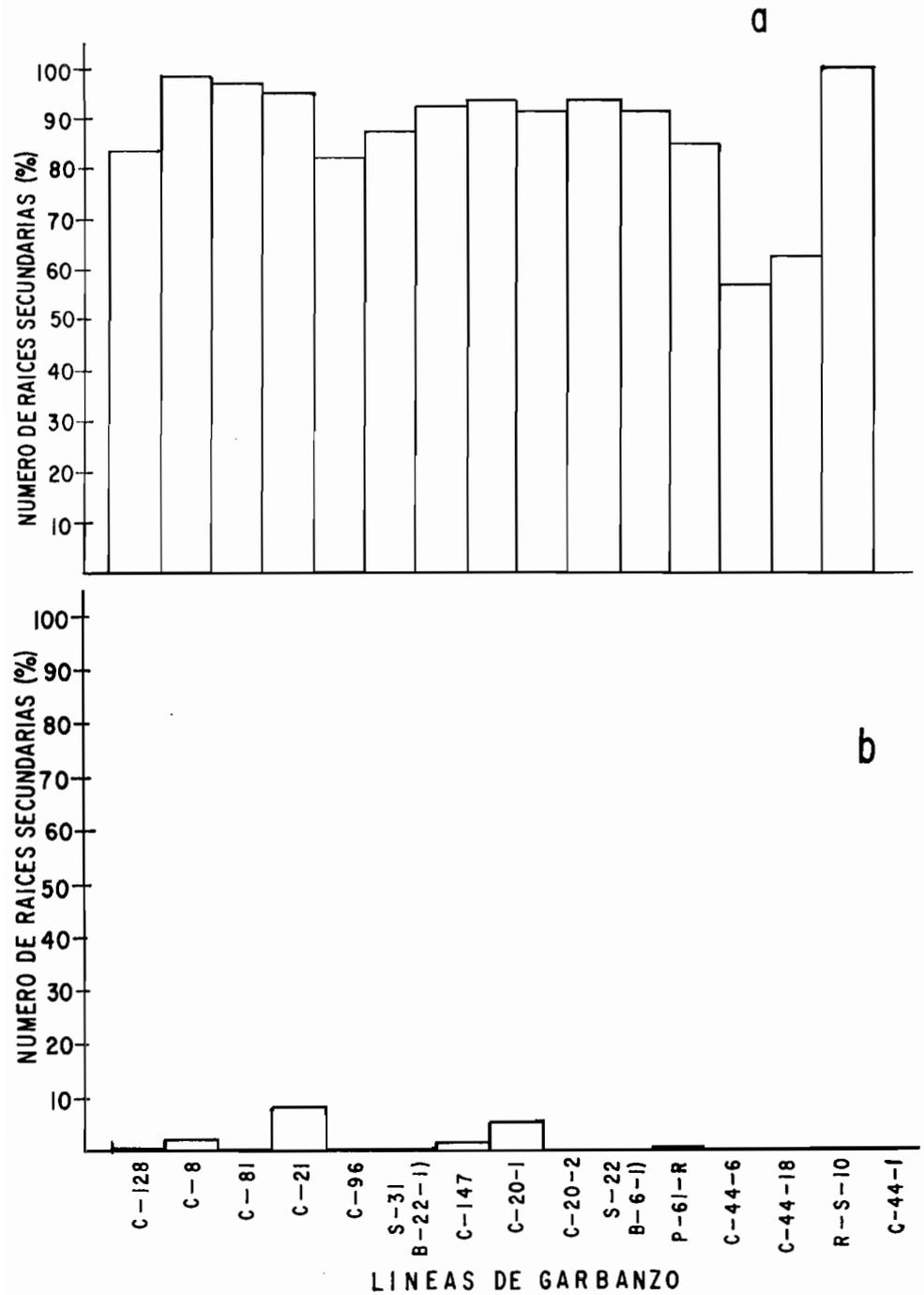
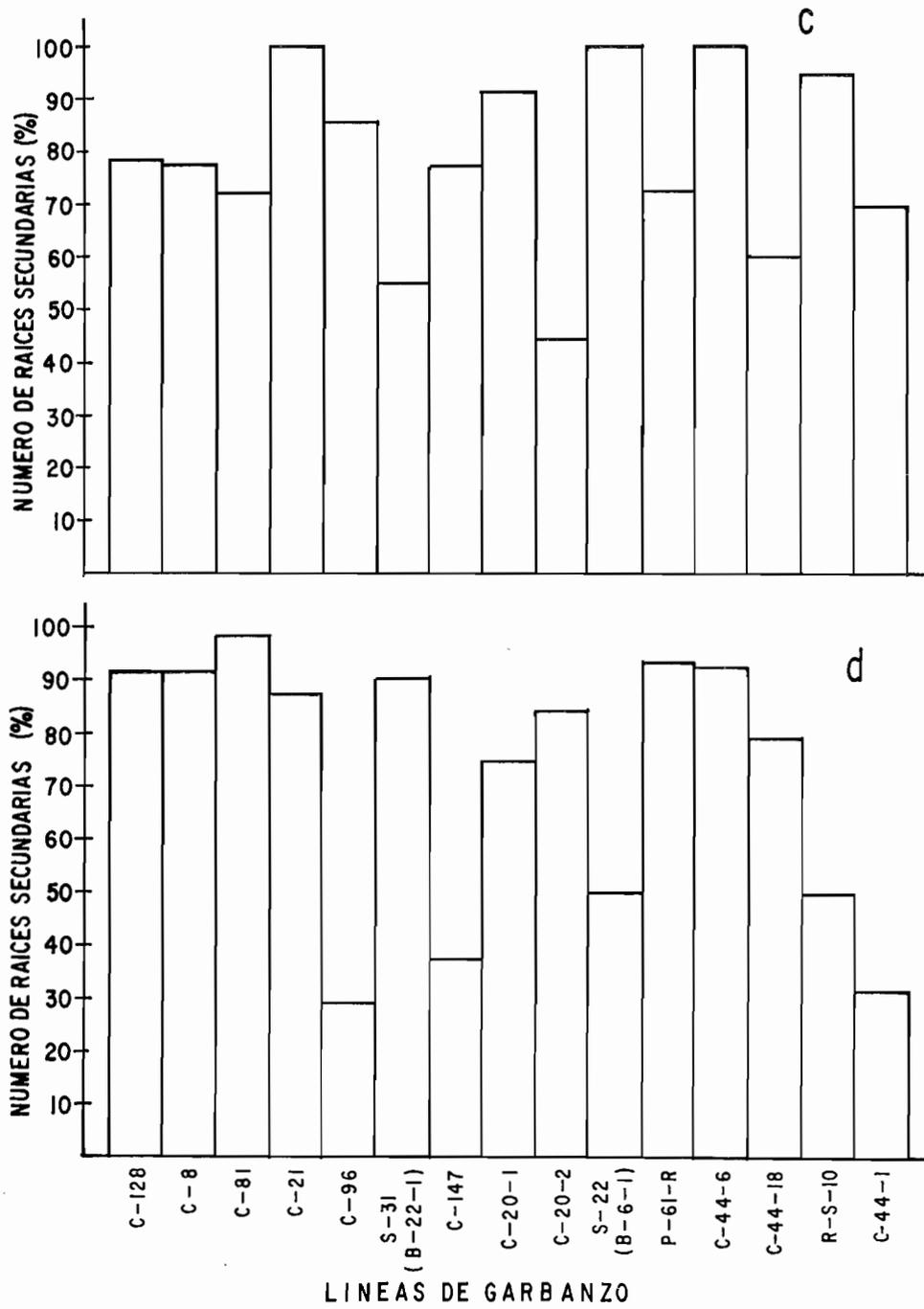


Figura 1. Histogramas que muestran la resistencia a 15 líneas de *Cicer arietinum* L. a los siguientes hongos: a) *Sclerotium* sp. (aislado de plantas de garbanzo enfermas colectadas en Valle de Santiago, Gto.); b) *Rhizoctonia* sp. (Valle de Santiago, Gto.); c) *Verticillium* sp. (I') (Ciudad Obregón, Son.), y d) *Fusarium* sp. (II) (Valle de Santiago, Gto.)



finalmente, para la interacción entre hongos y líneas, hubo diferencia altamente significativa, indicando también una alta variabilidad.

Conclusiones

Este estudio se efectuó con el objeto de identificar los hongos y otros microorganismos causantes de la pudrición de la raíz en las plantas de garbanzo, así como el de encontrar líneas de garbanzo resistentes.

La identificación de los hongos aislados se hizo únicamente hasta género. Los aislamientos más numerosos fueron los correspondientes a *Fusarium* sp. Además, se obtuvo *Verticillium* sp ocupando un segundo lugar en frecuencia; en cambio, *Rhizoctonia* sp y *Sclerotium* sp se obtuvieron en forma escasa.

Los hongos utilizados en la inoculación de 15 líneas de garbanzo, para probar su resistencia a éstos, fueron aislados de plantas enfermas colectadas en Valle de Santiago, Gto.; Chapingo, Méx.; San Martín, Hgo. y Cd. Obregón, Son. Estos datos pueden ser base para futuros estudios que se limiten a probar aislamientos provenientes de Valle de Santiago, Gto., lugar en que se encontraron la mayoría de los hongos patogénicos.

Las líneas de garbanzo que mostraron resistencia a la mayor parte de los hongos inoculados, en las pruebas en macetas de barro, fueron las siguientes: C-8 de Villagrán, Gto.; C-96 de Morelia, Mich.; C-21 y C-20-2 de Palo Blanco, Gto.; P-61-R de El Bajío (desconocido) y C-44-6 de Valle de Santiago, Gto.

Los resultados obtenidos en este estudio son preliminares y se recomienda hacer estas pruebas de resistencia bajo condiciones de campo.

Referencias citadas

- CAMPOS TIERRAFRÍA, A., *et al.* (1961.) *Selección de variedades de garbanzo en tres regiones de México.* Agricultura Técnica en México, 11:16-18.
- GARZA CHAPA, R. (1961.) *Estudio preliminar sobre algunas enfermedades del garbanzo Cicer arietinum L. en México.* Tesis de Maestría en Ciencias del Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- DELACROIX, G. (1919.) *Enfermedades parasitarias de las plantas cultivadas.* Barcelona.
- ERWIN, D. C. (1957.) *Fusarium & Verticillium wilt diseases of Cicer arietinum.* Phytopathology, 47:10.
- FREZZI, M. J. (1951.) *Las especies de Phytophthora en la Argentina.* Rev. Invest. Agric., Buenos Aires, Vol. 4:47-133. 1950. Cons. Rev. of Appl. Myc., 30:433.
- MATHUR, R. S., J. S. JAIN y S. C. ATHEYA. (1961.) *Resistance of Gram varieties to Fusarium wilt in Uttar Pradesh, 1949-1958.* Curr. Sci. 29:403. 1960. The Rev. of Appl. Myc. 40:448.
- MC RAE, W. (1932.) *Report of the Imperial Mycologist.* Scient. Repts. Imper. Inst. Agric. Res.; Pusa 1930-1931:73-86. 1932. Cons. The Rev. of Appl. Myc., 11:425.
- RANGASWAMI, G., y N. A. PRASAD. (1961.) *A bacterial disease of Cicer arietinum L.* Indian Phytopathology, 12:172-175. 1960. Cons. The Rev. of Appl. Myc., 40:447.