

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castelló, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Los trabajos publicados en Serie Universitaria abarcan las siguientes especialidades:
Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas;
Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales;
Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía;
Física; Geología; Historia; Ingeniería;
Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina,
Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología.
A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares
que se reparte gratuitamente a investigadores,
Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Fundación Juan March



FJM-Uni 112-Gar
Mecanismos de defensa activa de las
García-Arenal Rodríguez, Fernand
1031774



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

Fernando García-Arenal Rodríguez

**Mecanismos de defensa activa de
las plantas ante los patógenos.**

FJM
Uni-
112
Gar
112

Mecanismos de defensa activa de las plantas ante los patógenos/ Fernando García-Arenal Rodríguez

Fundación Juan March
Serie Universitaria

112



Fernando García-Arenal Rodríguez

Mecanismos de defensa activa de las plantas ante los patógenos.

Las Fitoalexinas en la interacción
Phaseolus vulgaris-Botrytis cinerea.



Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6
Fundación Juan March (Madrid)

Convocatoria de España, 1978, individual
Departamento de Ciencias Agrarias
Centro de trabajo: Cátedra de Patología Vegetal
de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid.

Depósito Legal: M - 9090 - 1980

I.S.B.N. 84 - 7075 - 152 - 2

Impresión: Gráficas Ibérica, Tarragona, 34 - Madrid - 7

I N D I C E

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	3
II. LA TEORIA DE LAS FITOALEXINAS	4
II.1 Distribución y naturaleza de las fitoalexinas	4
II.2 Fitoalexinas y patogénesis	5
II.2.1. Toxicidad de las fitoalexinas	5
II.2.2. Las fitoalexinas como factores de resistencia	8
II.2.3. Acumulación de fitoalexinas y necrosis celular	10
Inducción por agentes abióticos	10
III. LAS FITOALEXINAS EN LA INTERACCION PHASEOLUS VULGARIS - BOTRYTIS CINEREA	12
III.1. Introducción	12
III.2 Toxicidad para B.cinerea de las fitoalexinas acumuladas en hipocótilos infectados	17
III.3 Dinámica de la acumulación de fitoalexinas en las distintas interacciones P.vulgaris - B.cinerea	21
III.4 Acumulación de fitoalexinas y necrosis	27
III.5 Respuesta al tratamiento con cloruro mercurico	28
III.6 Conclusiones	31
IV. BIBLIOGRAFIA	33

**La Fundación Juan March no se solidariza
necesariamente con las opiniones de los
autores cuyas obras publica.**

I - INTRODUCCION

El estudio de las relaciones huésped-patógeno es un punto central dentro de la Patología Vegetal, cuya importancia se ha reconocido desde que de BARY (1887) realizó los primeros trabajos sobre el tema.

Este área de la Patología Vegetal trata de dilucidar, fundamentalmente, las causas por las que un microorganismo es capaz de parasitar sólo a una planta, ó a un pequeño grupo de ellas (cosa cierta - incluso entre los denominados polífagos). Para ello ha de explicarse la naturaleza de los fenómenos de resistencia o susceptibilidad de las plantas ante las infecciones.

Para comprender la naturaleza de la relación huésped-patógeno debemos considerar que supone la participación de dos sistemas metabólicos distintos y es, por tanto, consecuencia de la interacción de los distintos componentes que forman cada uno de ellos. Entre estos componentes se incluyen los mecanismos de resistencia de las plantas.

Dentro de los mecanismos de resistencia podemos distinguir aquéllos constitutivos, presentes tanto en plantas enfermas como en sanas (por ejemplo caracteres estructurales de la epidermis), de los que se inducen en respuesta a la acción del patógeno (por ejemplo alteraciones en la composición de la pared celular) y que en conjunto forman la llamada defensa activa del huésped. Entre los mecanismos de defensa activa se ha prestado especial atención a la acumulación, por parte de la planta, de compuestos fungitóxicos o fitoalexinas.

La teoría de las fitoalexinas se origina en los trabajos de MULLER y BORGER (1940) sobre el sistema patata - Phytophthora infestans DBy: al infectar discos de tubérculo con razas avirulentas del hongo, éstos adquirirían resistencia a infecciones posteriores con razas virulentas, o con

otros hongos patógenos. La resistencia quedaba circunscrita a partes - del tejido próximas a las infectadas inicialmente, y no era debido a incompatibilidad entre los patógenos ensayados. Atribuyeron esta resistencia adquirida a la acumulación de hipotéticos compuestos fungitóxicos a los que denominaron fitoalexinas. MULLER (1956) define a las fitoalexinas como "antibióticos que se producen como resultado de la interacción de dos sistemas metabólicos distintos, huésped y parásito, y que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos de plantas".

Durante las dos últimas décadas se ha investigado intensamente sobre la naturaleza, inducción y síntesis, papel en la patogénesis y acción de las fitoalexinas sobre los patógenos, pero aún permanecen mal comprendidos numerosos aspectos de los puntos mencionados.

En este trabajo pretendemos presentar el estado actual de la teoría de las fitoalexinas con respecto a su papel en la relación huésped-patógeno, centrándonos en el trabajo que hemos realizado sobre el sistema Phaseolus vulgaris L (la judía común) - Botrytis cinerea -- Pers ex Fkl. Para una discusión más general del papel de las fitoalexinas nos remitimos a las recientes revisiones de DEVERALL (1976), CRUICKSHANK (1977) y VAN ETEN y PUEPPKE (1976).

II - LA TEORIA DE LAS FITOALEXINAS

II-1. - Distribución y naturaleza de las fitoalexinas.

En una primera etapa la investigación sobre las fitoalexinas se centró fundamentalmente en su presencia en distintas especies vegetales, principalmente de interés agrícola. Desde que CRUICKSHANK y PERRIN (1966) aislaron y caracterizaron, a partir de guisante, la primera fitoalexina (a la que denominaron pisatina), se han encontrado compuestos - que responden a la definición de MULLER en especies pertenecientes a numerosas familias no relacionadas taxonómicamente: Leguminosae, Chenopodiaceae, Malvaceae, Umbelliferae, Convolvulaceae, Solonaceae, Compo--

sitae y Orchidaceae. Sin embargo no puede asegurarse que la producción de fitoalexinas está generalizada dentro del reino vegetal, ya -- que en varias familias y géneros, algunos de gran interés agrícola -- aún no han podido encontrarse (por ejemplo en las Cucurbitaceae).

Las fitoalexinas son compuestos lipofílicos de bajo peso molecular y dentro de una misma familia botánica presentan, en general, una estructura química común. Por ejemplo, en el caso de las Leguminosae son isoflavonoides (excepto en el género Vicia en el que se han aislado dos acetilfuranoides). En una misma planta --- pueden acumularse distintas fitoalexinas, como es el caso de la judía común, en la que se han encontrado los compuestos representados en la Figura 1, presentes en distintas proporciones según la interacción considerada.

II-2. - Fitoalexinas y patogénesis

Como hemos señalado, el interés despertado por las fitoalexinas desde su descubrimiento, se debe a su posible participación causal en la resistencia. La importancia de estos compuestos -- en la resistencia es valorada muy distintamente por diferentes autores, centrándose la discusión sobre su papel en los puntos que analizamos -- a continuación.

II-2-1 - Toxicidad de las fitoalexinas

La toxicidad de las fitoalexinas para microorganismos patógenos de plantas, puesta de manifiesto por MÜLLER Y BORGER - (1940), fué la causa del interés despertado por estos compuestos. Sin embargo su mecanismo de acción es un tema relativamente mal conocido.

En el caso de las fitoalexinas de la judía la investigación se ha centrado principalmente en la faseolina, compuesto mayorita

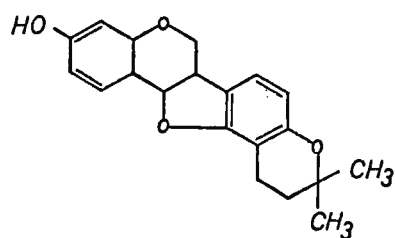
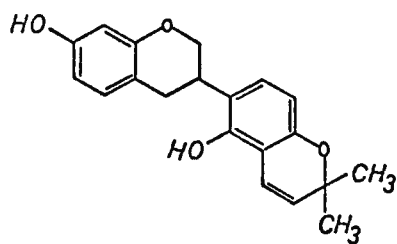
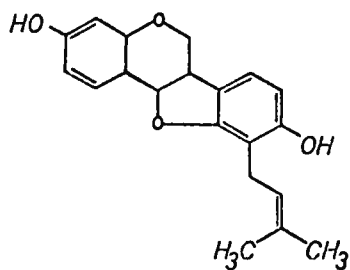
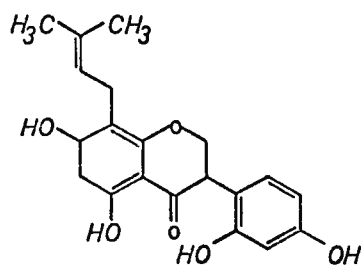
*Faseolina**Faseolinisoflavano**Faseolidina**Kievitona*

Fig. 1 - Fitoalexinas de la judía.

rio dentro del complejo de fitoalexinas de esta planta. Desde las primeras observaciones de MULLER (1956, 1958) con zoosporas de *P. infestans* hasta las mas recientes de VAN ET TEN y BATEMAN (1971) y SLAYMAN y VAN ET TEN (1974) con Rhizoctonia solani - Kúhn y Neurospora crassa Sher et Dodge, los datos parecen indicar que el punto de acción de la faseolina es la membrana celular sobre la que actuaría con efectos análogos a los antibióticos poliénicos. El mecanismo de acción, sin embargo, debe ser distinto - al de éstos, ya que la acción de la faseolina no es inhibida por el colesterol. Las alteraciones debidas a la faseolina tienen lugar - inmediatamente después de que el hongo entre en contacto con la - fitoalexina, lo cual puede ser especialmente importante al considerar el papel de la fitoalexina "in vivo".

La acción de la kievitona sobre distintos hongos -- (SMITH, 1976) es similar a la de la faseolina, y los efectos de am mas son aditivos, lo que hace suponer un modo de acción similar - para estos dos compuestos. El modo de acción del resto de las -- fitoalexinas isoflavonoides ha sido poco estudiado.

La fitotoxicidad de las fitoalexinas es un punto aún menos estudiado. En el caso de la judía sabemos, únicamente, -- que la faseolina provoca cambios de permeabilidad en tejidos de -- P. vulgaris (ELNAGHY y HEITEFUSS; 1976) y que inhibe el crecimiento de cultivos de células de esta planta, provocando su muerte (GLAZENER y VAN ET TEN, 1978). Además estos cultivos celu-- lares son capaces de metabolizar la fitoalexina. Ambos fenómenos son de importancia a la hora de interpretar los datos de su acumulación en tejidos infectados, y su relación con la necrosis celular.

II-2-2 - Las fitoalexinas como factores de resistencia.

Numerosos autores han atribuido a las fitoalexinas - no sólo un papel como factores de resistencia, sino como los determinantes primarios de ésta. En este caso las fitoalexinas deberían ser responsables de la especificidad de la relación huésped-patógeno, lo que se ha tratado de explicar en base, fundamentalmente, a dos teorías extremas pero no excluyentes.

A - Hipótesis de la sensibilidad diferencial

Esta hipótesis (VAN'ETTEN y PUEPPKE, 1976) supone que el hecho que diferencia una reacción susceptible de una resistente es la respuesta del microorganismo parásito a las fitoalexinas del huésped. La interacción huésped-patógeno sería compatible en el caso de que el microorganismo fuera tolerante a las fitoalexinas, e incompatible si fuera sensible. Tolerancia y sensibilidad se refieren a concentraciones del orden de las presentes en tejidos infectados.

Esta hipótesis fué, en principio, elaborada a partir de datos de CRUICKSHANK (1962) que, estudiando el efecto de la pisatina sobre cincuenta aislamientos de hongos, observó correlación entre patogeneidad para el guisante y tolerancia a su fitoalexina. Resultados similares obtuvieron CRUICKSHANK y PERRIN --- (1971) para faseolina, y MANSFIELD y DEVERALL (1974) para el -- ácido vierónico (fitoalexina del haba). Sin embargo numerosos trabajos (por ejemplo SMITH et al 1975 y WARD et al 1974) llegan a conclusiones opuestas al no encontrar correlación sensibilidad-avirulencia en los sistemas estudiados.

Debemos destacar que, a lo contradictorio de los datos existentes debe sumarse la dificultad de comparar bioensayos distintos, que éstos nunca pueden reflejar fielmente las condiciones

"in vivo" y que los conceptos de tolerancia y sensibilidad son relativos.

En relación con la sensibilidad diferencial hay - que mencionar la capacidad de numerosos hongos, patógenos y - no patógenos, de metabolizar las fitoalexinas de una planta, me-
tabolismo que a menudo implica detoxificación, como se ha ob-
servado, por ejemplo con Fusarium solani Mast (Sacc) f. sp. ---
phaseoli (Burlc) Snyd et Haus, y B. cinerea con faseolina ---
(HEUVEL Y VAN ETTEN, 1973; HEUVEL, 1976). La correla-
ción entre esta capacidad de detoxificación y virulencia tampoco
es generalizable.

B - Hipótesis de la síntesis diferencial

Según esta hipótesis la reacción resistente es el resultado de una acumulación rápida en el huésped de elevadas cantidades de fitoalexinas, mientras que la reacción susceptible se caracteriza por un índice bajo de acumulación (VAN ETTEN y PUEPPKE, 1976).

Los primeros datos experimentales que apoyan esta hipótesis se deben a CRUICKSHANK y PERRIN (1965) y al sistema guisante - Ascochita pisi Lib. Entre los numerosos - trabajos con resultados similares podemos destacar los de KEEN (1971) con soja - Phytophthora megasperma Drechs var Soja ---
Hild y BAILEY y DEVERALL (1971) con judía - Colletotrichum lindemuthianum (Sacc & Magn) Br. et Cav.

La diferente acumulación de fitoalexinas observa-
da en un mismo huésped según cual sea el microorganismo in-
fectante, debe ser controlada, de algún modo, por éste.

KEEN (1975) sugiere que la alta concentración - de fitoalexinas propia de las interacciones incompatibles es debida a la acción sobre el huésped de inductores específicos de cada hongo. Se han aislado inductores de este tipo a partir de -- distintos hongos. Estos inductores son, en general, polisacáridos de la pared celular y en los pocos casos en que se han purificado y caracterizado (por ejemplo de distintas especies de - Colletotrichum, ANDERSON 1978) no difieren ni en capacidad - de inducción ni en composición, por lo que no se les puede responsabilizar de la diferente acumulación de fitoalexinas observada en distintas interacciones.

Por otro lado RAHE y ARNOLD (1975) sugieren que la acumulación de fitoalexinas es debida a una alteración -- inespecífica de las células del huésped, y la acumulación sería reprimida específicamente en el caso de las interacciones compatibles. Esta hipótesis, carente de base experimental, es relacionable con otro grupo de datos que comentamos a continuación.

II-2-3 - Acumulación de fitoalexinas y necrosis celular. - Inducción por agentes abióticos.

Hasta ahora nos hemos referido exclusivamente a hongos parásitos como agentes inductores de la acumulación - de fitoalexinas. Sin embargo existe una amplia gama de inductores de la acumulación de fitoalexinas, que se extiende desde - distintos agentes bióticos o de origen biótico (hongos, bacterias, nematodos, virus, polisacaridos de la pared de hongos, etc.) - a numerosos agentes abióticos (tratamientos con bajas temperaturas, irradiación con luz ultravioleta, sales de metales pesa-

dos, antimetabolitos, etc.). Esta variedad de inductores, a menudo completamente inespecíficos en su acción, no comparten más características que la de producir daño y muerte celulares.

Por otro lado, desde los trabajos de MULLER y BORGER (1940) se ha relacionado la acumulación de fitoalexinas con la necrosis o, fenómeno generalmente asociado, el pardeamiento celular. Las fitoalexinas, tóxicas para el microorganismo parásito y para las células de la planta, serían responsables de la limitación del crecimiento de aquél y del pardeamiento y muerte celulares que acompañan, usualmente, a la expresión de la resistencia. Alternativamente las fitoalexinas no serían responsables de estos procesos, sino compuestos originados en las células durante la necrosis. A esta segunda hipótesis parecen apuntar los resultados de SATO et al (1971) - con el sistema patata - P. infestans: la muerte del 20% de las células infectadas tiene lugar antes de que comience la acumulación de fitoalexinas. Asimismo KIRALYY et al (1974), -- trabajando con patata y diversos hongos, deduce que la acumulación de fitoalexinas no es responsable de la resistencia, sino que es posterior a la manifestación de ésta y está asociado a la necrosis celular.

Por el contrario los trabajos histológicos de MANSFIELD et al (1974), con habas, parecen demostrar que las fitoalexinas se acumulan en células vivas, y PAXTON et al (1974) han puesto de manifiesto que la acumulación de fitoalexinas puede tener lugar sin que haya pardeamiento o muerte celulares. Posteriores trabajos de distintos autores contribuyen a la independencia de los fenómenos de acumulación de fitoalexinas y necrosis celular.

Sin embargo el problema de la especificidad - del mecanismo de inducción de fitoalexinas y su relación con la necrosis celular sigue en pie. HARGREAVES y BAILEY - (1978), experimentando con hipocotilos de judía en los que pro vocan la muerte por congelación, concluyen que la síntesis de fitoalexinas se produce en tejidos vivos, pero su acumulación tiene lugar en tejidos muertos. La inducción de la síntesis - se debería a metabolitos constitutivos, liberados al producirse la muerte celular, mecanismo que podría ser común a - los distintos agentes inductores. Los trabajos enzimológicos de DIXON y LAMB (1979) sobre inducción de faseolina, señalan también una similitud entre los mecanismos de inducción en inductores abióticos y de origen biológico.

Por otro lado, YOSHIKAWA (1978) propone - distintos mecanismos de inducción de la acumulación de gliceolina en soja: los agentes bióticos estimularían la síntesis de la fitoalexina, los abióticos inhibirían su degradación por - las células de la planta. Hay que destacar que en tejidos sanos de soja tiene lugar la síntesis y degradación (pero no acu mulación) de gliceolina, y la generalización de este modelo a plantas, como la judía, en las que las fitoalexinas se sintetizan sólo tras la infección, es problemática.

III - LAS FITOALEXINAS EN LA INTERACCION PHASEOLUS VULGARIS - BOTRYTIS CINEREA.

III-1 - Introducción

Hemos enfocado el estudio de este problema - centrándolo en aquéllos aspectos de mayor relevancia para la

teoría de las fitoalexinas que se han señalado en el apartado anterior:

- a) Toxicidad de las fitoalexinas de la judía para el -- hongo B. cinerea y relación entre sensibilidad a -- las fitoalexinas y virulencia en distintas cepas del hongo.
- b) Acumulación de fitoalexinas en tejidos infectados y su relación con la naturaleza de la interacción huésped-patógeno.
- c) Relación entre necrosis celular y acumulación de -- fitoalexinas.
- d) Acumulación en respuesta a un inductor abiótico y -- comparación con la respuesta a B. cinerea.

Estos puntos los hemos abordado comparando los fenómenos que tienen lugar en dos cultivares de judía, de distinta susceptibilidad a B. cinerea, cuando son infectados por tres cepas de este hongo de distinta virulencia, o -- cuando son tratados con el inductor abiótico cloruro mercuri--co.

Se emplean los cultivares Fortune y Garra--fal Oro, ampliamente cultivados para producción de vaina --verde. Las cepas de B. cinerea utilizadas las hemos llamado SB11, obtenida de vid (Ciudad Real); SB21, de pi--miento (Almería) y SB215 obtenida de SB21 por cultivo conti--nuo de ésta sobre Agar Patata Dextrosa (APD).

Los tratamientos se realizan siempre sobre hipocótilos de plántulas de diez días de edad, momento en - que se ha completado la elongación de este órgano.

Los hipocótilos intactos se inoculan con dis- - cos de micelio, de 8 mm. de diámetro, cortados del borde de colonias en crecimiento sobre APD, permaneciendo las plan- - tas en tiestos, bajo condiciones controladas.

El tipo de la interacción se estima por la -- longitud de las lesiones producidas, considerando el periodo comprendido entre el primer y el quinto día tras la inocula- - ción.

La reacción ante la infección es distinta en ambos cultivares, siendo mayores las lesiones en el cv. - Fortune. Asimismo existen diferencias en el tamaño de -- las lesiones debidas a cada cepa, correspondiendo las mayo- - res a SB21 y las menores a SB215 (Tabla 1). Las distintas interacciones se corresponden, además, con diferentes tipos de lesión: la infección de Garrafal Oro con SB11 o SB215 -- produce lesiones de coloración pardo oscuro y crecimiento - lento, controlado tras el segundo o tercer día. Las lesio- - nes debidas a la infección de Fortune con SB21 son de as- - pecto hidrópico y crecimiento rápido que concluye, al -- quinto día, con el colapso del 96% de las plantas. Las -- lesiones producidas por SB11 o SB215 en Fortune, y por - SB21 en Garrafal Oro, son de tipo intermedio, pero difie- - ren en la proporción de lesiones controladas: 67% en SB11- Fortune, 73% en SB215-Fortune y 83% en SB21 - Garrafal - Oro (datos del quinto día).

TABLA No. 1 - TAMAÑO DE LESION EN LOS CULTIVARES FORTUNE Y -
GARRAFAL ORO TRAS LA INOCULACION CON DISTINTAS
CEPAS DE B. CINEREA. a)

Días tras la inocu- lación	SB11		SB21		SB215							
	cv.	Fortune	cv.	G. Oro	cv.	Fortune	cv.	G. Oro				
1	8, 97 ⁺	0, 46	7, 47 ⁺	0, 49	10, 73 ⁺	0, 21	9, 40 ⁺	0, 16	9, 23 ⁺	0, 62	5, 90 ⁺	0, 72
2	10, 07 ⁺	0, 39	8, 27 ⁺	0, 48	18, 53 ⁺	0, 61	11, 69 ⁺	0, 33	9, 80 ⁺	0, 49	6, 27 ⁺	0, 66
3	11, 45 ⁺	0, 77	8, 52 ⁺	0, 49	27, 93 ⁺	1, 07	14, 05 ⁺	0, 52	10, 77 ⁺	0, 49	7, 27 ⁺	0, 59
4	14, 13 ⁺	1, 31	8, 87 ⁺	0, 53	39, 20 ⁺	1, 69	16, 78 ⁺	0, 87	12, 75 ⁺	0, 83	7, 45 ⁺	0, 60
5	18, 35 ⁺	2, 10	9, 38 ⁺	0, 59	51, 60 ⁺	1, 96	18, 79 ⁺	1, 08	15, 48 ⁺	1, 36	8, 00 ⁺	0, 58

a) Longitudes medias (mm) y error standard en 30 repeticiones.

TABLA Nº. 2 - TOXICIDAD PARA C. CUCUMERINUM DE LOS
COMPUESTOS FUNGITÓXICOS DE HIPOCOTI--
LOS INFECTADOS CON B. CINEREA a)

	Germinación		Crecimiento de tubos germinativos	
	Nº. esporas b) germinadas	% inhibi- ción c)	Longitud de tubos b) germinativos (µm)	% inhibi- ción c)
Control	47,75 ± 0,50	-	59,09 ± 8,15	-
Compuesto A	43,25 ± 1,89	9,45	20,79 ± 9,19	64,82
Compuesto B	47,25 ± 1,50	-	33,64 ± 4,46	43,07
Compuesto C	1,75 ± 0,96	96,34	4,65 ± 0,00	92,13
Compuesto D	45,50 ± 1,29	4,75	27,97 ± 5,80	52,67
Compuesto K	47,25 ± 0,96	-	42,94 ± 5,73	27,33

a) Cantidad de compuestos correspondiente a extracto de hipocotilos de Garrafal Oro 5 días tras la infección con SB21

b) Media y error standard de 4 replicaciones. Se consideran 50 conidias / replicación.

c) Diferencias con control significativas ($p \leq 0,05$).

Tenemos, por tanto, dos cultivares de distinta susceptibilidad y tres cepas cuya virulencia se ordena, de mayor a menor, SB21, SB11, SB215. Este sistema nos permite comparar interacciones de distinto tipo y estudiar el papel de las fitoalexinas en relación a las diferencias de resistencia del huésped y de virulencia del patógeno.

III-2 - Toxicidad para B. cinerea de las fitoalexinas acumuladas en hipocótilos infectados.

En extractos etanólicos de hipocótilos de Fortune y Garrafal Oro infectados por SB21 aparecen cuatro compuestos que inhiben la germinación de conidias y el crecimiento de tubos germinativos de Cladosporium cucumerinum Ellis et Auth, hongo no patógeno de la judía, utilizado sistemáticamente en bioensayos de las fitoalexinas de esta planta (Tabla 2) (GARCIA-ARENAL et al 1978). Los espectros de absorción en el ultravioleta, las reacciones con Dinitroanilina y Fast Blue Salt B, la movilidad en distintos sistemas cromatográficos y los espectros de resonancia magnética de protón, permiten identificar tales compuestos como las fitoalexinas faseolina, faseolidina, faseolinisoflavano y kievitona. Un quinto compuesto que hemos denominado D, se encuentra en los extractos de Fortune, pero no de Garrafal Oro, y es también tóxico para C. cucumerinum pero no para B. cinerea. Este compuesto es un isoflavonoide cuya caracterización no hemos llevado a cabo.

Las cuatro fitoalexinas mencionadas se encuentran en extractos de ambos cultivares infectados por cualquiera de las cepas SB11, SB21 y SB215. No se han encontrado otros compuestos fungitóxicos señalados en otras interacciones de judía y distintos patógenos, como 2'-metoxifaseolinisoflavano (VAN ETTEN, 1973) y cumestrol (LYON y WOOD, 1975).

Se ha estudiado la toxicidad de tres de estas fitoalexinas, faseolina, faseolinisoflavano y kievitona, sobre las cepas de Botrytis empleadas, considerando dos parámetros: germinación de esporas y crecimiento de tubos germinativos de esporas ya germinadas. Faseolidina no se incluyó en estos ensayos por no disponer de suficiente cantidad de la fitoalexina purificada.

Las tres fitoalexinas (Tabla 3) inhiben la germinación de esporas de las tres cepas, siendo considerablemente más tóxicas faseolina y faseolinisoflavano que kievitona. Existen diferencias de sensibilidad entre las cepas, siendo SB215 más sensible que SB21 a las tres fitoalexinas ensayadas.

Estas fitoalexinas también inhiben el crecimiento de tubos germinativos de las tres cepas (excepto kievitona para SB215, caso en el que se obtienen resultados anómalos) (Tabla 4). Igual que para germinación de esporas las fitoalexinas no son igualmente tóxicas: faseolinisoflavano es el compuesto de mayor toxicidad y kievitona el de menor. En este caso, sin embargo, no pueden establecerse diferencias de sensibilidad entre las cepas.

TABLA N^o. 3 - TOXICIDAD DE LAS FITOALEXINAS DE LA JUDIA
(% INHIBICION) PARA LA GERMINACION DE ESPO
RAS DE B. CINEREA a)

COMPUESTO b)	SB11	SB21	SB215
A	0, 025 mM	1, 37 ± 0, 58 2, 53 ± 0, 72	1, 79 ± 1, 67
	0, 050 mM	4, 81 ± 1, 05 3, 54 ± 0, 97	17, 37 ± 2, 88
	0, 100 mM	64, 89 ± 2, 05 51, 10 ± 1, 35	57, 96 ± 2, 86
C	0, 025 mM	1, 78 ± 1, 36 0, 51 ± 0, 93	11, 70 ± 3, 09
	0, 050 mM	3, 10 ± 1, 40 2, 02 ± 0, 84	19, 74 ± 3, 90
	0, 100 mM	31, 50 ± 5, 82 56, 82 ± 2, 61	72, 77 ± 5, 49
K	0, 025 mM	2, 92 ± 0, 71 0, 50 ± 0, 34	18, 65 ± 2, 87
	0, 050 mM	3, 78 ± 1, 23 0, 67 ± 0, 48	12, 61 ± 3, 49
	0, 100 mM	5, 33 ± 1, 90 1, 68 ± 0, 41	14, 04 ± 3, 33

a) Media y error standard de 6 repeticiones. Se consideran 100 conidias por repeticion.

b) Donde A=Faseolina, C=Faseolinisoflavano, K=Kievitona.

TABLA Nº. 4 - TOXICIDAD DE LAS FITOALEXINAS DE LA JUDIA
(% INHIBICION) PARA EL CRECIMIENTO DE TU--
BOS GERMINATIVOS DE B. CINEREA a)

COMPUESTO b)		SB11	SB21	SB215
A	0,015 mM	26,15 $\pm$ 2,00	1,78 $\pm$ 6,29	5,62 $\pm$ 1,12
	0,030 mM	56,95 $\pm$ 3,60	23,42 $\pm$ 4,62	38,24 $\pm$ 6,28
	0,060 mM	56,99 $\pm$ 4,49	30,13 $\pm$ 7,41	20,91 $\pm$ 5,23
C	0,025 mM	49,45 $\pm$ 1,36	12,24 $\pm$ 6,41	7,79 $\pm$ 4,30
	0,050 mM	70,21 $\pm$ 1,51	68,35 $\pm$ 3,64	62,84 $\pm$ 3,75
	0,075 mM	60,90 $\pm$ 2,05	73,29 $\pm$ 2,52	59,96 $\pm$ 1,82
K	0,025 mM	14,18 $\pm$ 5,97	10,35 $\pm$ 6,30	16,08 $\pm$ 6,52
	0,050 mM	11,94 $\pm$ 3,20	9,18 $\pm$ 4,16	12,03 $\pm$ 5,04
	0,075 mM	9,67 $\pm$ 5,14	-4,82 $\pm$ 6,49	-10,45 $\pm$ 4,71

a) Media y error standard de 6 repeticiones. Se consideran 50 tubos por repetición.

b) Donde A=Faseolina, C=Faseolinisoflavano, K=Kievitona.

El crecimiento de tubos germinativos es más sensible a la acción de las fitoalexinas que la germinación de esporas, lo que está de acuerdo con los datos existentes (por ejemplo SKIPP y BAILEY, 1977) y es explicable por la distinta permeabilidad y/o las propiedades de absorción de las paredes de esporas y tubos germinativos.

Si bien existe correlación entre la tolerancia de las esporas a las fitoalexinas y la virulencia de las cepas SB21 y SB215, tal correlación no aparece en el caso de tubos germinativos y la cepa SB11 no puede incluirse en esta ordenación. No podemos, por tanto, atribuir la diferente virulencia de las cepas a una distinta sensibilidad a las fitoalexinas, máxime cuando en general se considera que el bioensayo que mejor refleja la situación "in vivo" es el efectuado sobre tubos germinativos (SKIPP y BAILEY, 1977), en el que se manifiesta más claramente la correlación virulencia-tolerancia a las fitoalexinas, cuando existe (CRUICKSHANK, 1977).

III-3 - Dinámica de la acumulación de fitoalexinas en las distintas interacciones P. vulgaris-B. cinerea

La cuantificación de fitoalexinas en hipocotilos infectados se realiza a las 24, 72 y 120 h tras la inóculación. Se observa (Fig. 2, 3 y 4) que las fitoalexinas faseolina y kievitona se encuentran desde las 24 h.

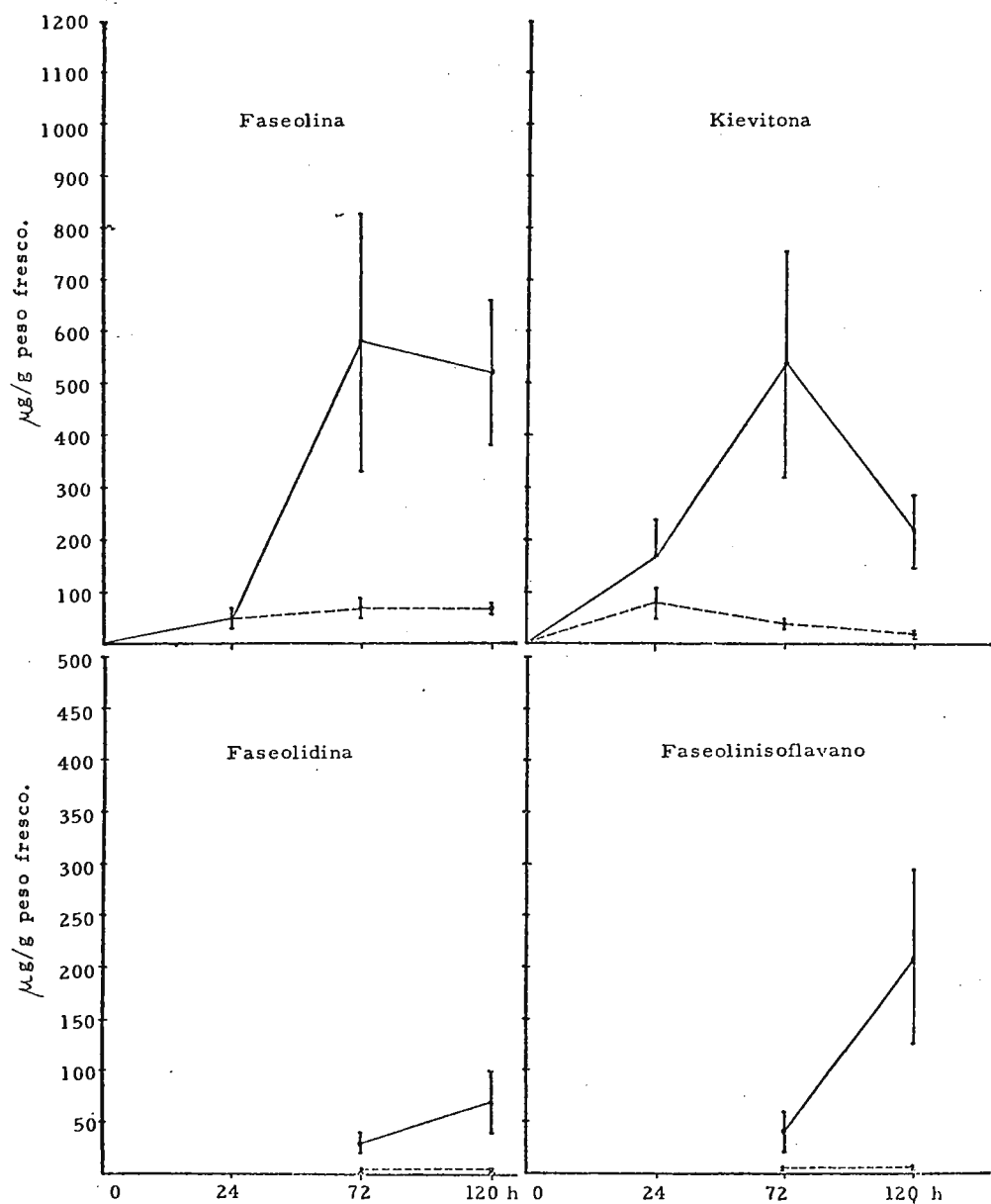


Fig. 2 - Acumulación de fitoalexinas en hipocótilos de los cvs Garráfal Oro (—) y Fortune (---) tras la inoculación con la cepa SB11. Media y error standard de al menos cuatro repeticiones.

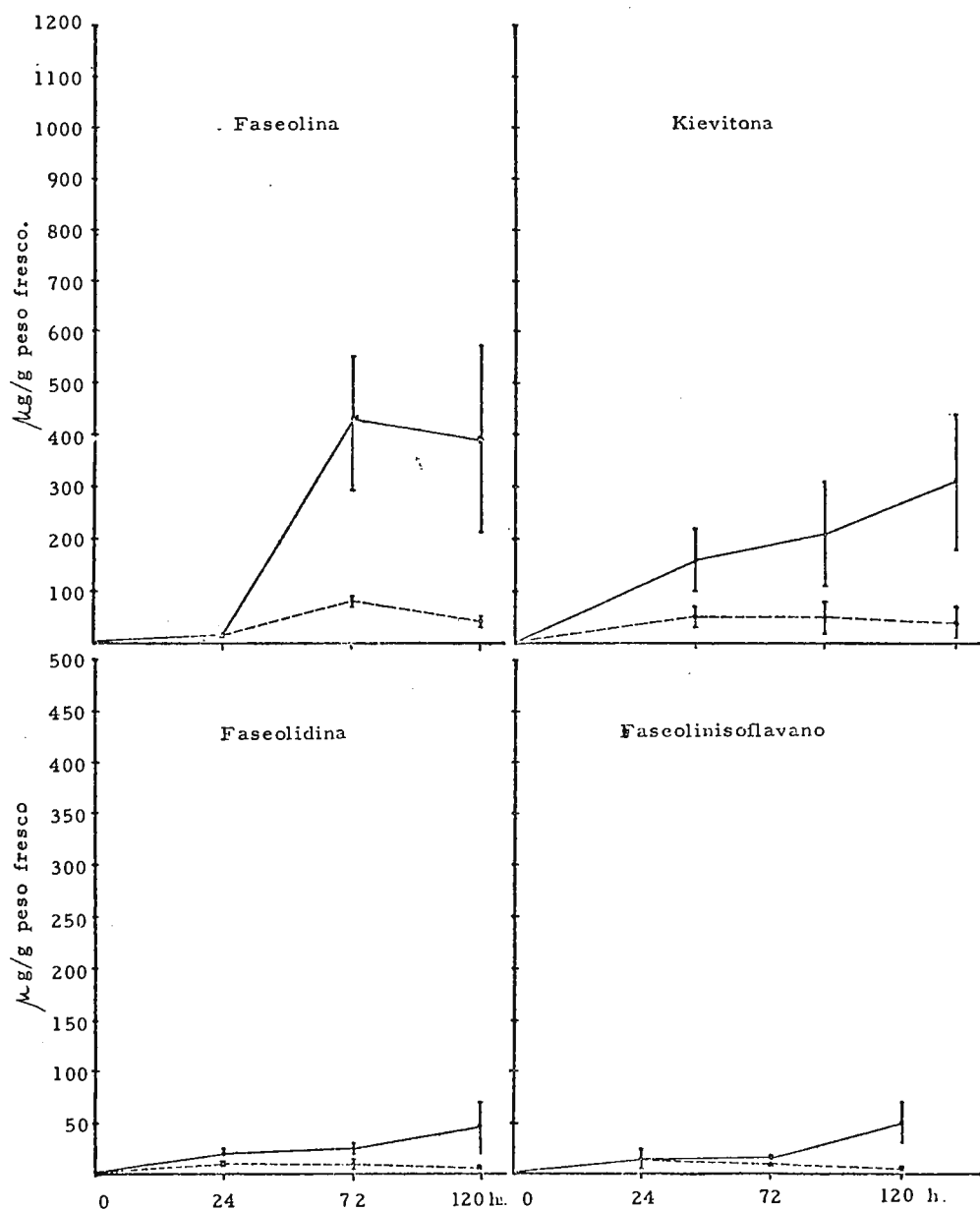


Fig. 3 - Acumulación de fitoalexinas en hipocótilos de los cvs. Garráfal - Oro (—) y Fortune (---) tras la inoculación con la cepa SB21. Media y error standard de al menos cuatro repeticiones.

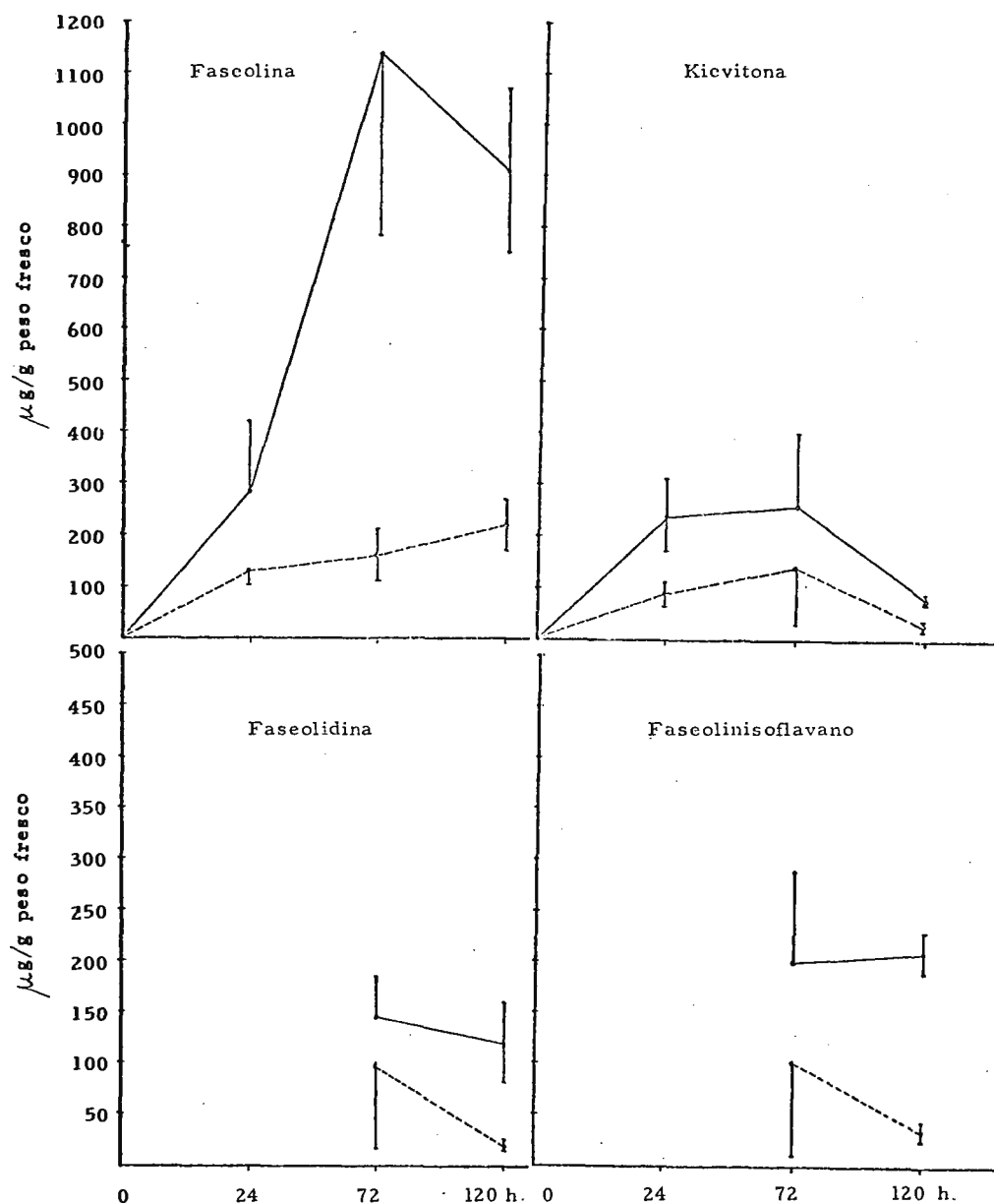


Fig. 4 - Acumulación de fitoalexinas en hipocótilos de los cvs. Garrafal - Oro (—) y Fortune (---) tras la inoculación con la cepa SB215. Media y error standard de al menos cuatro repeticiones.

en las lesiones producidas por cualquiera de las cepas, -- mientras que faseolidina y faseolinisoflavano sólo se en--- cuentan, en ese momento, en las lesiones debidas a SB21.

Considerando globalmente las cuatro fitoa-- lexinas la cantidad acumulada es mayor, para cualquier ce pa, en tejidos del cultivar menos susceptible. Existen tam-- bién diferencias significativas entre aislamientos en cuanto a las cantidades globales de fitoalexinas acumuladas ---- (SB215 > SB11 > SB21). Es decir, la máxima acumulación - corresponde a la cepa menos virulenta (SB215), y la mí- nima a la más virulenta (SB21).

En todos los casos la fitoalexina que se acu- mula en mayor cantidad es la faseolina. Los modelos de - acumulación observados varían para cada compuesto y ca-- da interacción: normalmente la concentración de fitoalexinas alcanza un nivel estable tras 24 ó 72 h., en algunos casos - hay un máximo a 72 h. y en la interacción SB11-Garrafa -- Oro hay acumulación continua de faseolinisoflavano (FRAILE et al 1979).

Parece, por tanto, que la resistencia de la judía a la infección por B. cinerea está correlacionada con - altos niveles de acumulación de fitoalexinas, como se ha -- señalado para otros sistemas huésped-parásito (por ejemplo CRUIEKSHANK y PERRIN 1965, BAILEY y DEVERAL 1971,

KEEN 1971). En cada cultivar el nivel de fitoalexinas depende de la cepa infectante : está inversamente correlacionado con la resistencia, y el modelo de acumulación es específico para cada interacción. Por tanto parece que el tipo de interacción está determinado, al menos en parte, - por el nivel de fitoalexinas que se acumula : sin embargo deben intervenir también otros factores, como indica el -- muy distinto nivel de acumulación en las interacciones SB21 Garrafal Oro y SB11 - Fortune, mientras que el tipo de -- reacción es muy similar.

Por otro lado debemos tener en cuenta la - capacidad de B. cinerea de detoxificar las fitoalexinas de la judía como señala HEUVEL (1976). En caso de que hubiera diferencias en la capacidad de degradación de las distintas - cepas, correlacionada con su virulencia, ésto podría determinar la concentración de fitoalexinas en cada interacción, - ya que la acumulación final es el balance de la síntesis y - la degradación por parte del microorganismo y de las células del huésped.

La pérdida de virulencia del aislamiento -- SB215, que procede del altamente virulento SB21, podría - estar asociada con una pérdida de la capacidad de degradar las fitoalexinas y/o una mayor capacidad de inducir -- la acumulación de éstas en el huésped.

III-4. Acumulación de fitoalexinas y necrosis

Hemos estudiado, histoquímicamente, la localización y el momento de la acumulación de fitoalexinas en hipocótilos de Garrafal Oro y Fortune infectados por la cepa SB21' (GARCIA-ARENAL y MATEO-SAGASTA 1977), utilizando la tinción con Fast Blue Salt B (FBB), que da una coloración específica rosa-anaranjado con los isoflavonoides. Aunque esta reacción es general de isoflavonoides, ya que esta clase de compuestos no existe en tejidos sanos de judía (como señalan RATHMELL y BENDALL, 1971, y hemos comprobado por la reacción negativa en hipocótilos sanos) es razonable considerar una reacción positiva con FBB como indicadora de la presencia de fitoalexinas.

De este modo hemos detectado, de igual modo en ambos cultivares, acumulación de isoflavonoides en células epidérmicas a los 60 min. de la inoculación. La respuesta de acumulación de fitoalexinas es, por consiguiente, sumamente rápida, y precede con mucho a las primeras manifestaciones morfológicas de la acción del parásito (colapso de la epidermis, que comienza a las 6 h.) y a la penetración, que tiene lugar a partir de las 12 h. Al progresar la infección la acumulación de isoflavonoides continúa observándose en células sanas vecinas a las infectadas.

Estudiando simultaneamente la deposición de callosa en las paredes celulares observamos que tiene lugar, aunque posteriormente (comienza a los 90 min.), en las mismas células en que se han acumulado fitoalexinas. Esto indica que la acumulación de fitoalexinas tiene lugar en células metabólicamente activas, y que además comienza antes de las primeras necrosis de células del huésped. Parece claro que, en la interacción estudiada, la acumulación de fitoalexinas no es causada por la necrosis celular, siendo el primer fenómeno una altera

ción mediatizada por la presencia del hongo y muy anterior a la penetración de éste.

III - 5. Respuesta al tratamiento con cloruro mercuríco.

El tratamiento de los hipocótilos con - - - Hg Cl_2 $6 \times 10^{-4} \text{M}$ produce lesiones pardas, de igual tamaño en los dos cultivares, cuya longitud no aumenta con el tiempo - (Tabla 5).

Las concentraciones de fitoalexinas en estas lesiones, medidas a las 24, 72 y 120 h., aparecen en la -- Fig. 5. Las cuatro fitoalexinas están presentes desde 24 h. tras el tratamiento. No existen diferencias significativas en tre los cultivares en cuanto a las cantidades de fitoalexinas acumuladas, tanto si se consideran individualmente como en su conjunto.

Como ocurría en las infecciones por B.cinerea, faseolina es el compuesto que se acumula en mayores - cantidades. Los modelos de acumulación son distintos a los encontrados en las interacciones con B.cinerea (FRAILE et - al 1979).

Estas respuestas, claramente distintas al -- caso de Botrytis, sugieren la existencia de distintos mecanismos de inducción para los inductores abiótico y biótico. Esto está, aparentemente, en contradicción con la hipótesis, ya comentada, de HARGREAVES y BAILEY (1978) que propone la existencia de un inductor constitutivo presente en células sanas de judía, y liberado por la acción de cualquier tipo de -- agente exterior. Esta contradicción no sería tal si suponemos

TABLA Nº. 5 - TAMAÑO DE LESION EN LOS CULTIVARES
FORTUNE Y GARRAFAL ORO TRAS EL --
TRATAMIENTO CON HgCl_2 . a)

Días tras el tratamiento	CULTIVARES	
	Fortune	Garrafal Oro
1	7,14 $\pm$ 0,42	6,64 $\pm$ 1,65
3	6,97 $\pm$ 0,36	5,96 $\pm$ 1,31
5	7,99 $\pm$ 0,82	6,54 $\pm$ 1,62

a) Longitudes medias (mm) y error standard de 30 repeticiones.

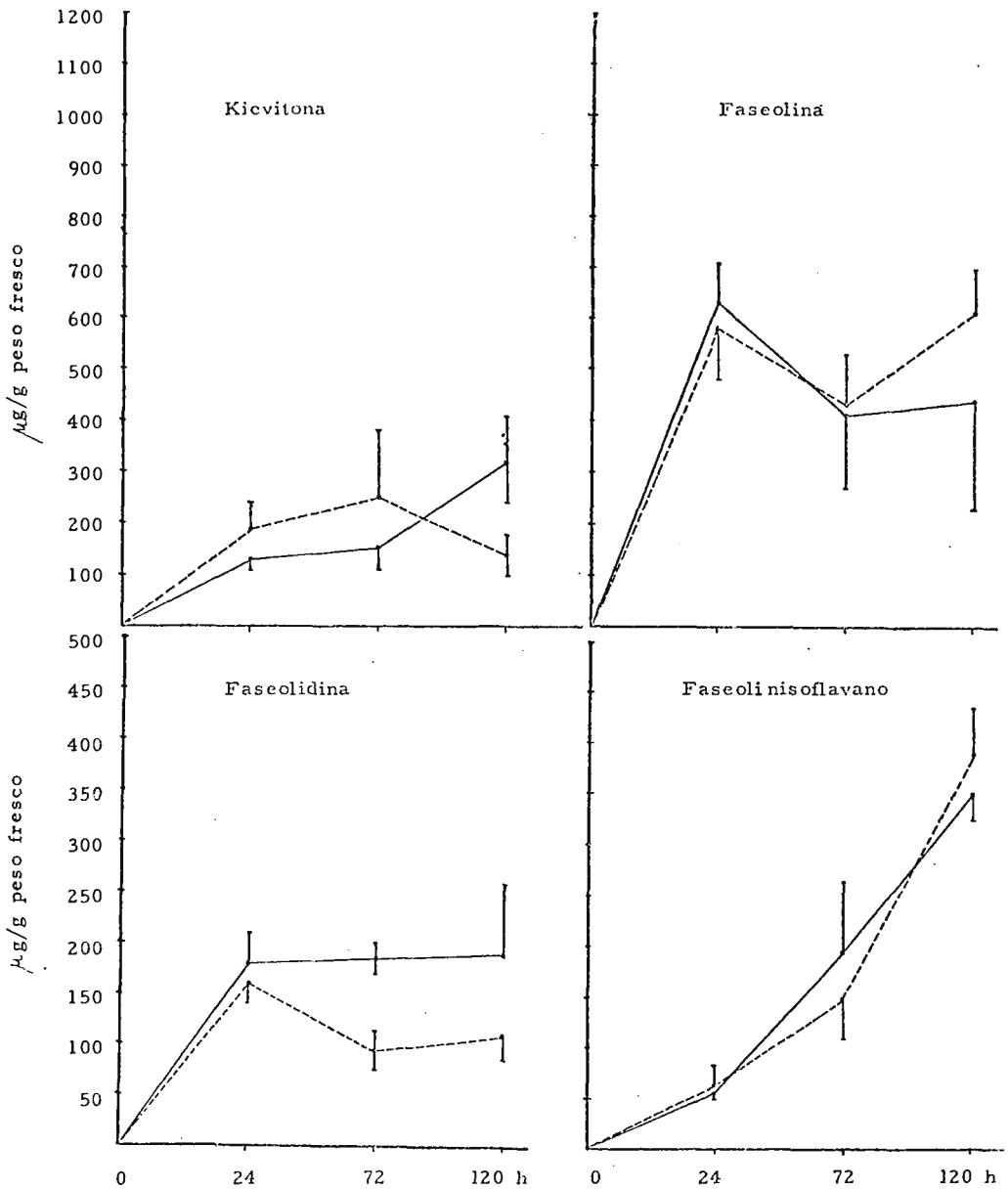


Fig. 5 - Acumulación de fitoalexinas en hipocótilos de los cvs. Garrafal - Oro (—) y Fortune (---) tras el tratamiento con cloruro mercúrico.

Media y error standard de al menos cuatro repeticiones.

la existencia de distintos inductores constitutivos, con modos de acción no idénticos, o bien que existiendo un solo inductor su efecto variara con la dosis liberada, función a su vez del tipo de agente exterior.

Por otro lado, los datos de acumulación - en respuesta al Hg Cl_2 muestran que plantas que tienen -- igual capacidad para acumular fitoalexinas no reaccionan de la misma manera ante distintos inductores, y que las cantidades de fitoalexinas acumuladas dependen tanto de la planta como del agente inductor.

III - 6. Conclusiones.

La toxicidad de las fitoalexinas de la judía para los aislamientos de B.cinerea indica que estos com--puestos son factores que contribuyen a limitar el crecimiento del hongo en los tejidos de la planta.

La acumulación de las fitoalexinas se pro-duce en células metabólicamente activas, con anterioridad - a que sean invadidas por el parásito y comienza antes de - que tengan lugar las primeras necrosis de células del huésped.

Estas observaciones descartan la posibili-dad de que las fitoalexinas sean compuestos asociados a la necrosis celular, cuya acumulación acompañará o siguiera-a la manifestación de la resistencia y deja abierta la posibilidad de su participación en este fenómeno.

Por otro lado, las distintas respuestas de acumulación observadas entre las diferentes interacciones -

P.vulgaris - B.cinerea estudiadas y entre estas y el tratamiento con Hg Cl_2 , demuestran que la acumulación de fitoalexinas es un fenómeno altamente específico que podría representar un papel importante en la determinación de la naturaleza de la relación huésped-patógeno.

Los datos obtenidos respecto a la toxicidad de las fitoalexinas para B.cinerea, sugieren que la sensibilidad de las distintas cepas para las fitoalexinas no es un factor importante que condicione la virulencia y la naturaleza de la interacción.

La correlación entre acumulación de fitoalexinas y tipo de reacción del huésped parece indicar que el éxito de las distintas cepas en colonizar los tejidos de aquél, está determinado por los distintos niveles de fitoalexinas.

Sin embargo, los casos intermedios SB21 - Garrafal Oro, SB11-Fortune y SB215-Fortune, sugieren la participación de otros factores en la determinación del tipo de interacción. Dada la complejidad, varias veces subrayada, de la interacción huésped-patógeno, no es de esperar que el caso expuesto se pudiese explicar considerando solamente el factor fitoalexinas.

Por último debemos señalar que para obtener una visión más completa del papel de las fitoalexinas en la interacción P.vulgaris - B.cinerea, sería necesario estudiar otros aspectos, como la capacidad del patógeno de degradar y detoxificar las fitoalexinas, o la acumulación en los primeros momentos de la interacción, antes de la penetración del parásito.

IV - BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, A. J. , 1978 - *Phytopathology* 68, 189-194 .
- BAILEY, J. A. , BURDEN, R. S. , 1971 - *Physiol. Plant Pathol.* 1, 435-449.
- BARY, A. de. 1887 - "Comparative morphology and biology of the fungi, mycetoza and bacteria" Clarendon Press, Oxford. 525 p.
- CRUICKSHANK, I. A. M. , 1962 - *Aust. J. biol. Sci.* 15, 147-159.
- CRUICKSHANK, I. A. M. , 1977 - *Pontificiae Acad. Sci. Scripta Var.* n^o. 41
- CRUICKSHANK, I. A. M. , PERRIN, D. R. , 1965 - *Aust. J. biol. Sci.* 7, 449-458.
- CRUICKSHANK, I. A. M. , PERRIN, D. R. , 1971 - *Phytopath. Z.* -- 70, 209-229.
- DEVERALL, B. J. , 1976 - In "Biochemical Aspects of Plant-Parasite Relationships" (Ed. J. Friend and D. R. Threlfall) -- pp. 207-223, Academic Press, London.
- DIXON, R. A. , LAMB, C. J. , 1979 - *Biochim. + Biophys. Acta* 586, 453-463.
- ELNAGHY, M. A. , HEITEFUSS, R. , 1976 - *Physiol. Plant Pathol.* 8, 269-278.
- FRAILE, A. , GARCIA-ARENAL, F. , SAGASTA, E. M. , 1979 - - *Physiol. Plant Pathol.* 15 (en prensa).
- GARCIA-ARENAL, F. , SAGASTA, E. M. , 1977 - *Plant Sci. Lett.* 10, 305-312.
- GARCIA-ARENAL, F. , FRAILE, A. , SAGASTA, E. M. , 1978 - *Physiol. Plant Pathol.* 13, 151-156.
- GLAZENER, J. A. , VAN ETEN, H. D. , 1978 - *Phytopathology* 68, 111-118.

- HARGREAVES, J. A., BAILEY, J. A., 1978 - *Physiol. Plant Pathol.* 13, 89-100.
- HEUVEL, J. van den, 1976 - *Neth. J. Pl. Path.* 82, 153-160.
- HEUVEL, J. van den, VAN ETTEN, H. D., 1973 - *Physiol. Plant Pathol.* 3, 327-339.
- KEEN, N. T., 1971 - *Physiol. Plant Pathol.* 1, 265-275.
- KEEN, N. T., 1975 - *Science* 187, 74-75.
- KIRALY, Z., BARNA, B., ERSEK, T., 1972 - *Nature* 239, 456-458.
- LYON, F. M., WOOD, R. K. S., 1975 - *Physiol. Plant Pathol.* -- 6, 117-124.
- MANSFIELD, J. W., DEVERALL, B. J., 1974 - *Ann. appl. Biol.* 76, 77-89.
- MANSFIELD, J. W., HARGREAVES, J. A., BOYLE, F. C., 1974 - *Nature* 252, 316-317.
- MULLER, K. O., 1956 - *Phytopathol. Z.* 27, 237-254.
- MULLER, K. O., 1958 - *Aust. J. biol. Sci.* 11, 275-300.
- MULLER, K. O., BORGER, H., 1940 - *Reichsant. Land. u. --- Forstw.* 23, 189-231.
- PAXTON, J., GOODCHILD, D. J., CRUICKSHANK, I. A. M., 1974 - *Physiol. Plant Pathol.* 4, 167-171.
- RAHE, J. E., ARNOLD, R. M., 1975 - *Can. J. Bot.* 53, 921-928.
- RATHMELL, W. G., BENDALL, D. S., 1971 - *Physiol. Plant Pathol.* 1, 351-362.
- SATO, N., KITAZAWA, K., TOMIYAMA, K. 1971 - *Physiol. Plant Pathol.* 1, 289-295.
- SKIPP, R. A., BAILEY, J. A., 1977 - *Physiol. Plant Pathol.* - 11, 101-112.

- SLAYMAN, C.L., VAN ETTEN, H.D., 1974 - Pl. Physiol. - suppl. 134 (Abstr.).
- SMITH, D.A., 1976 - Physiol. Plant Pathol. 9, 45-56.
- SMITH, D.A., VAN ETTEN, H.D., BATEMAN, D.F., 1975 - Physiol. Plant Pathol. 5, 51-64.
- VAN ETTEN, H.D., 1973 - Phytochemistry, 12, 1791-1792.
- VAN ETTEN, H.D., BATEMAN, D.F., 1971 - Phytopathology 61, 1363-1372.
- VAN ETTEN, H.D., PUEPPKE, S.G., 1976 - In "Biochemical Aspects of Plant-Parasite Relationships" (Ed. J. Friend and D.R. Threlfall) pp. 239-289, Academic Press, London.
- WARD, E.W.B., UNWIN, C.H., STOESSL, A., 1974 - Can. J. Bot. 52, 2481-2488.
- YOSHIKAWA, M., 1978 - Nature 275, 546-547.



FUNDACION JUAN MARCH

SERIE UNIVERSITARIA

TITULOS PUBLICADOS

Serie Marrón

(Filosofía, Teología, Historia, Artes Plásticas, Música, Literatura y Filología)

- | | |
|--|--|
| 1 Fierro, A.:
Semántica del lenguaje religioso. | 60 Alcalá Galvé, A.:
El sistema de Servet. |
| 10 Torres Monreal, F.:
El teatro español en Francia (1935-1973). | 61 Mourão-Ferreira, D., y Ferreira, V.:
Dos estudios sobre literatura portuguesa contemporánea. |
| 12 Curto Herrero, F. Fco.:
Los libros españoles de caballerías en el siglo XVI. | 62 Manzano Arjona, M.ª:
Sistemas intermedios. |
| 14 Valle Rodríguez, C. del:
La obra gramatical de Abraham Ibn Ezra. | 67 Acero Fernández, J. J.:
La teoría de los juegos semánticos. Una presentación. |
| 16 Solís Santos, C.:
El significado teórico de los términos descriptivos. | 68 Ortega López, M.:
El problema de la tierra en el expediente de Ley Agraria. |
| 18 García Montalvo, P.:
La imaginación natural (estudios sobre la literatura fantástica norteamericana). | 70 Martín Zorraquino, M.ª A.:
Construcciones pronominales anómalas. |
| 21 Durán-Lóriga, M.:
El hombre y el diseño industrial. | 71 Fernández Bastarreche, F.:
Sociología del ejército español en el siglo XIX. |
| 32 Acosta Méndez, E.:
Estudios sobre la moral de Epicuro y el Aristóteles esotérico. | 72 García Casanova, J. F.:
La filosofía hegeliana en la España del siglo XIX. |
| 40 Estefanía Álvarez, M.ª del D. N.:
Estructuras de la épica latina. | 73 Meya Llopart, M.:
Procesamiento de datos lingüísticos. Modelo de traducción automática del español al alemán. |
| 53 Herrera Hernández, M.ª T.:
Compendio de la salud humana de Johannes de Ketham. | 75 Artola Gallego, M.:
El modelo constitucional español del siglo XIX. |
| 54 Flaquer Montequi, R.:
Breve introducción a la historia del Señorío de Bultrago. | 77 Almagro-Gorbea, M., y otros:
C-14 y Prehistoria de la Península ibérica. |

- 94 Falcón Márquez, T.:
La Catedral de Sevilla.
- 98 Vega Cernuda, S. D.:
J. S. Bach y los sistemas contrapuntísticos.
- 100 Alonso Tapia, J.:
El desorden formal de pensamiento en la esquizofrenia.
- 102 Puentes Florido, F.:
Rafael Cansinos Assens (novelista, poeta, crítico, ensayista y traductor).
- 110 Pitarch, A. J., y Dalmases Balañá, Nuria:
El diseño artístico y su influencia en la industria (arte e industria en España desde finales del siglo XVII hasta los inicios del XX).

Serie Verde

(Matemáticas, Física, Química, Biología, Medicina)

- 2 Mulet, A.:
Calculador en una operación de rectificación discontinua.
- 4 Santiuste, J. M.:
Combustión de compuestos oxigenados.
- 5 Vicent López, J. L.:
Películas ferromagnéticas a baja temperatura.
- 7 Salvá Lacombe, J. A.:
Mantenimiento del hígado dador In vitro en cirugía experimental.
- 8 Plá Carrera, J.:
Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos.
- 11 Drake Moyano, J. M.:
Simulación electrónica del aparato vestibular.
- 19 Purroy Unanua, A.:
Estudios sobre la hormona Natriurética.
- 20 Serrano Molina, J. S.:
Análisis de acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos.
- 22 Pascual Acosta, A.:
Algunos tópicos sobre teoría de la información.
- 25 I Semana de Biología:
Neurobiología.
- 26 I Semana de Biología:
Genética.
- 27 I Semana de Biología:
Genética.
- 28 Zugastl Arbizu, V.:
Analizador diferencial digital para control en tiempo real.
- 29 Alonso, J. A.:
Transferencia de carga en aleaciones binarias.
- 30 Sebastián Franco, J. L.:
Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.
- 39 Blasco Olcina, J. L.:
Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos.
- 44 Sánchez Rodríguez, L.:
Estudio de mutantes de *saccharomyces cerevisiae*.
- 45 Acha Catalina, J. I.:
Sistema automático para la exploración del campo visual.
- 47 García-Sancho Martín, F. J.:
Uso del ácido salicílico para la medida del pH intracelular.
- 48 García García, A.:
Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina.
- 49 Trillas, E., y Alsina, C.:
Introducción a los espacios métricos generalizados.

- 50 Pando Ramos, E.:
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados.
- 51 Orozco, F., y López-Fanjul, C.:
Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora.
- 52 Gallego Fernández, A.:
Adaptación visual.
- 53 Castellet Solanas, M.:
Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas.
- 54 Sánchez Lazo, P.:
Fructosa 1,6 Bifosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales.
- 57 Carrasco Llamas, L.:
Estudios sobre la expresión genética de virus animales.
- 59 Afonso Rodríguez, C. N.:
Efectos magneto-ópticos de simetría par en metales ferromagnéticos.
- 63 Vidal Costa, F.:
A la escucha de los sonidos cerca de T_λ en el 4_{He} líquido.
- 65 Andréu Morales, J. M.:
Una proteína asociada a membrana y sus subunidades.
- 66 Blázquez Fernández, E.:
Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.
- 69 Vallejo Vicente, M.:
Razas vacunas autóctonas en vías de extinción.
- 76 Martín Pérez, R. C.:
Estudio de la susceptibilidad magnetoelectrica en el Cr_2O_3 policristalino.
- 80 Guerra Suárez, M.^a D.:
Reacción de Amidas con compuestos organoaluminicos.
- 82 Lamas de León, L.:
Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides.
- 84 Repollés Moliner, J.:
Nitrosación de aminas secundarias como factor de carcinogénesis ambiental.
- 86 Il Semana de Biología:
Flora y fauna acuáticas.
- 87 Il Semana de Biología:
Botánica.
- 88 Il Semana de Biología:
Zoología.
- 89 Il Semana de Biología:
Zoología.
- 91 Viéitez Martín, J. M.:
Ecología comparada de dos playas de las Rías de Pontevedra y Vigo.
- 92 Cortijo Mérida, M., y García Blanco, F.:
Estudios estructurales de la glucógeno fosforilasa b.
- 93 Aguilar Benítez de Lugo, E.:
Regulación de la secreción de LH y prolactina en cuadros anovulatorios experimentales.
- 95 Bueno de las Heras, J. L.:
Empleo de polielectrolitos para la floculación de suspensiones de partículas de carbón.
- 96 Núñez Alvarez, C., y Ballester Pérez, A.:
Lixiviación del cinabrio mediante el empleo de agentes complejantes.
- 101 Fernández de Heredia, C.:
Regulación de la expresión genética a nivel de transcripción durante la diferenciación de Artemia salina.
- 103 Guix Pericas, M.:
Estudio morfométrico, óptico y ultraestructural de los inmunocitos en la enfermedad celíaca.
- 105 Llobera i Sande, M.:
Gluconeogénesis «in vivo» en ratas sometidas a distintos estados tiroideos.
- 106 Usón Finkenzeller, J. M.:
Estudio clásico de las correcciones radiactivas en el átomo de hidrógeno.
- 107 Galián Jiménez, R.:
Teoría de la dimensión.
- 111 Obregón Perea, J. M.^a:
Detección precoz del hipotiroidismo congénito.

- 3 Velasco, F.:
Skarns en el batolito de Santa Olalla.
- 6 Alemán Vega, J.:
Flujo inestable de los polímeros fundidos.
- 9 Fernández-Longoria Pinazo, F.:
El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.
- 13 Fernández García, M.^a P.:
Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos.
- 15 Ruiz López, F.:
Proyecto de inversión en una empresa de energía eléctrica.
- 23 Bastarache Alfaro, M.:
Un modelo simple estático.
- 24 Martín Sánchez, J. M.:
Moderna teoría de control: método adaptativo-predictivo.
- 31 Zapata Ferrer, J.:
Estudio de los transistores FET de microondas en puerta común.
- 33 Ordóñez Delgado, S.:
Las Bauxitas españolas como mena de aluminio.
- 35 Juvé de la Barreda, N.:
Obtención de series aneuploides en variedades españolas de trigo común.
- 36 Alarcón Alvarez, E.:
Efectos dinámicos aleatorios en túneles y obras subterráneas.
- 38 Lasa Dolhagaray, J. M., y Silván López, A.:
Factores que influyen en el espigado de la remolacha azucarera.
- 41 Sandoval Hernández, F.:
Comunicación por fibras ópticas.
- 42 Pero-Sanz Elorz, J. A.:
Representación tridimensional de texturas en chapas metálicas del sistema cúbico.
- 43 Santiago-Alvarez, C.:
Virus de insectos: multiplicación, aislamiento y bioensayo de Baculovirus.
- 46 Ruiz Altisent, M.:
Propiedades físicas de las variedades de tomate para recolección mecánica.
- 58 Serradilla Manrique, J. M.:
Crecimiento, eficacia biológica y variabilidad genética en poblaciones de dípteros.
- 64 Farré Muntaner, J. R.:
Simulación cardiovascular mediante un computador híbrido.
- 79 Fraga González, B. M.:
Las Giberelinas. Aportaciones al estudio de su ruta biosintética.
- 81 Yáñez Parareda, G.:
Sobre arquitectura solar.
- 83 Díez Viejobueno, C.:
La Economía y la Geomatemática en prospección geoquímica.
- 90 Pernas Galí, F.:
Master en Planificación y Diseño de Servicios Sanitarios.
- 97 Joyanes Pérez, M.^a G.:
Estudios sobre el valor nutritivo de la proteína del mejillón y de su concentrado proteico.
- 99 Fernández Escobar, R.:
Factores que afectan a la polinización y cuajado de frutos en olivo (*Olea europaea* L.).
- 104 Oriol Marfá i Pagés, J.:
Economía de la producción de flor cortada en la Comarca de el Maresme.
- 109 García del Cura, M.^a A.:
Las sales sódicas, calcosódicas y magnésicas de la cuenca del Tajo.

Serie Azul

(Derecho, Economía, Ciencias Sociales, Comunicación Social)

- | | |
|--|--|
| <p>17 Ruiz Bravo, G.:
Modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos.</p> <p>34 Durán López, F.:
Los grupos profesionales en la prestación de trabajo: obreros y empleados.</p> <p>37 Lázaro Carreter, F., y otros:
Lenguaje en periodismo escrito.</p> <p>74 Hernández Lafuente, A.:
La Constitución de 1931 y la autonomía regional.</p> | <p>78 Martín Serrano, M., y otros:
Seminario sobre Cultura en Periodismo.</p> <p>85 Sirera Oliag, M.^a J.:
Las enseñanzas secundarias en el País Valenciano.</p> <p>108 Orizo, F. A.:
Factores socio-culturales y comportamientos económicos.</p> |
|--|--|

