

Presencia de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter teleomorfo de *Septoria tritici* Rob apud Desm. en trigos maduros de la Argentina

Jordo Cristina A ¹, Analía Perelló ², HE Alippi ³ y HO Arriaga ⁴.

^{1,2} Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia. de Buenos Aires (CIC), Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Cátedra de Fitopatología.

^{3,4} Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la U.N.L.P. Cátedras de Fitopatología y Cerealicultura respectivamente. Calle 60 y 118 (1900) La Plata.

Recibido 31 de Marzo de 1992; aceptado 29 de Junio de 1992

RESUMEN

Este trabajo constituye la primera cita para el país de la ocurrencia de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter st. conidium: *Septoria tritici* Rob. apud Desm. Esta fase sexual del hongo mencionado fue hallado en lesiones foliares de plantas de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) maduro del cultivar Buck Poncho. Para la identificación del patógeno se realizaron observaciones con microscopio óptico y electrónico de barrido (SEM). El aislamiento fúngico se obtuvo por la descarga de ascosporas en un medio de cultivo (agar-agua) y posterior transferencia a otro más nutritivo (agar-malta). Se estudió la morfología, color y esporulación de las colonias y se observó y documentó el modo de germinación de las ascosporas. Los resultados del estudio realizado coinciden con la descripción original para *Mycosphaerella graminicola*, como el estado ascógeno de *Septoria tritici*. Se discute la probable incidencia del estado perfecto en la epidemiología de la enfermedad bajo las condiciones de la región triguera argentina.

Palabras claves: teleomorfo, *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, trigo, mancha de la hoja del trigo.

Presence of *Mycosphaerella graminicola* (FUCKEL) Schroeter, teleomorph of *Septoria tritici* Rob. apud Desm. in mature wheat plants of Argentina

SUMMARY

The perfect state of *Septoria tritici* Rob. apud Desm. (*Mycosphaerella graminicola*) (Fuckel) Schoeter was isolated from foliar lesions of mature wheat plants (Buck Poncho cv.) at J. Hirschhorn Experimental Station of Buenos Aires Province. This is the first report of the teleomorph of *Septoria tritici* in Argentina. All the diseases samples that were suspected to be *Mycosphaerella graminicola* were brought to the laboratory and optic and scanning microscopic examination were made to identify the pathogen. Ascocarps, asci and ascospores were described and measured. The fungus isolated were obtained by discharging ascospores in culture media. The morphology, colour and sporulation of the colony were studied. The ascospore germination process were observed through Fitzgerald and Cooke method.

The above mentioned microscopic observations of the fungus were close to the original description for *M. graminicola* (Fuckel) Schroeter, the ascogenous state of *S. tritici* Rob. apud Desm. Since the ascogenous state of this fungus has already been reported in neighbour countries (Chile and Brazil) its importance in the epidemiology of the disease is being intensively studied.

Key Words: Teleomorph, *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, wheat, speckled leaf blotch

INTRODUCCION

La variabilidad cultural y patogénica de los aislamientos y la heterogeneidad en la virulencia de las poblaciones de *Septoria tritici* Rob. apud Desm. en la Argentina, han sido frecuentemente citados (Cordo y Lindquist, 1987; Cordo y Arriaga, 1989; Cordo et al, 1989; Perelló et al, 1990; Perelló et al, 1991). Dicha variabilidad obstaculiza marcadamente la labor fitotécnica para lograr una resistencia duradera a la Mancha de la hoja del trigo. Uno de los factores más importantes que condicionan dicha variabilidad es la presencia de procesos sexuales en el ciclo de vida del patógeno (Sanderson et al., 1986).

Al haberse señalado la presencia del teleomorfo de *Septoria tritici* *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter, en países limítrofes (Metha en Brasil, 1989; Madariaga en Chile, 1986) se intensificó su búsqueda en el nuestro. Debe señalarse que uno de los autores (Cordo, 1986) ya lo había observado anteriormente sin aislarlo.

La primera mención sobre *M. graminicola* fue realizada por Fuckel (1870) que la designó como *Sphaerella graminicola* e inmediatamente Schroeter (1870) la reubica como *Mycosphaerella graminicola*. Transcurrió un largo periodo sin referencias en la bibliografía sobre este patógeno hasta que Sanderson (1976) en Nueva Zelanda, establece la relación entre *M. graminicola* y *S. tritici* y, desconociendo el trabajo de Schroeter, efectúa la nueva combinación, pero al año siguiente (1977) la enmienda, anulándola.

En Inglaterra fue descrita y estudiada por Scott, Sanderson y Benedikz (1988). Otros investigadores (Sanderson y Hampton, 1987)(Sanderson

et al., 1986) tuvieron como objetivo realizar estudios genéticos y epidemiológicos de aislamientos de *M. graminicola*.

La finalidad del presente trabajo fue señalar por primera vez en la Argentina, la presencia de *graminicola* (Fuckel) Schroeter, teleomorfo *Septoria tritici* Rob. apud Desm.

MATERIALES Y METODOS

La búsqueda de material se realizó en la Estación Experimental J. Hirschhorn de Los Hornos a fines de primavera, sobre un ensayo de trigo constituido por cultivares con germoplasma de reciente aparición en el mercado. A diferencia de lo señalado por otros autores, la búsqueda se efectuó sobre plantas en un estado de madurez avanzado y antes de la cosecha, no habiendo pasado aquellas por un período prolongado en el campo que determinara el inicio de la desintegración por acción biológica.

Las hojas con síntomas y signos de la "Mancha de la Hoja del Trigo" del cultivar Buenos Aires Poncho se observaron bajo microscopio estereoscópico. Se localizaron zonas blanquecinas donde la epidermis aparecía erosionada y el parénquima adelgazado. En ellas se encontraban los pseudotecios (ascocarpos) de color castaño muy oscuro, los que se extrajeron para efectuar las observaciones microscópicas. Para las observaciones en el microscopio óptico los pseudotecios se montaron en lactofenol y se aplastaron con cubreobjetos. Para microscopía electrónica de barrido, el mismo material confirmado en la observación óptica se montó (en seco o con lactofenol) en tacos metálicos sobre cinta de celofán bifaz y se

estabilizaron al vacío.

Los aislamientos del hongo se lograron mediante descarga de ascosporas sobre el medio de cultivo. Para ello se colocaron trozos de hojas senescentes del cultivar Buck Poncho adheridas en cinta bifaz a las tapas de las cajas de Petri y las bases contenían agar-agua solidificado. Las cajas se dejaron en reposo durante la noche de tal manera que los ostíolos de los pseudotecios estaban dirigidos hacia el agar. Las ascosporas fueron sucesionalmente descargadas, originando una línea de colonias sobre el medio de cultivo. Posteriormente, esas colonias se transfirieron en forma aislada a agar-malta.

Para observar la germinación de las ascosporas se aplicó el método de la membrana de cellofán (Fitzgerald y Cooke, 1989) sobre agar-guay y la tinción con azul de algodón. La preparación de los trozos de hojas con pseudotecios fue similar a la aplicada para obtener aislamientos.

RESULTADOS

El examen con el microscopio óptico permitió la observación y medición de pseudotecios, ascos y ascosporas. Estas estructuras coinciden

con las descritas por Sanderson (1976) Scott (1988) Madariaga (1986) y Metha (1989).

Asocarpos o pseudotecios, castaño oscuro, inmersos en el tejido del hospedante, globosos u ovoides, de 90-112,2 μm x 86,2-93,7 μm .



Figura 1- Asocarp de *M. graminicola* en tejido senescente de hoja de trigo del cultivar Buck Poncho. Observación mediante microscopio óptico. (barra equivale a 20 μm).

- Asocarp of *M. graminicola* from debris tissue of wheat leaf from Buck Poncho cv. Viewed by optic microscope (barr= 20 μm).

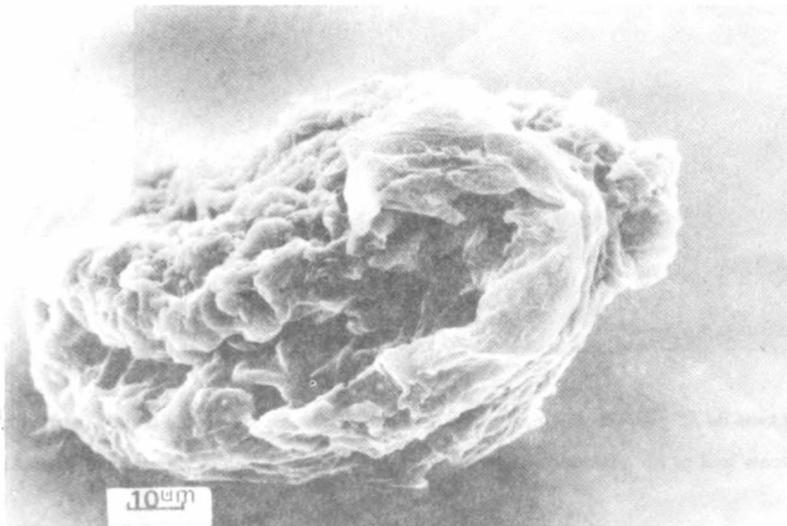


Figura 2- Asocarp de *M. graminicola*. Observación por microscopía electrónica de barrido (barra equivale a 10 μm).

Asocarp of *M. graminicola*. Viewed by SEM (Scanning Electron Microscope) (barr=10 μm).

Ascospiras bitunicadas, ob-piriformes, de 30-39 x 10-15 μm (término medio 36 x 12 μm). Cada asco contiene 8 ascosporas dispuestas irregularmente.

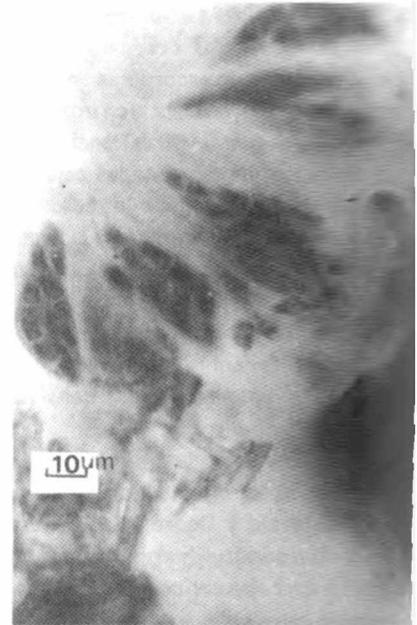


Figura 3-
Asco y ascosporas de *M. graminicola* teñidos con lactofenol-azul de algodón. (barrá equivale a 10 μm).
- Asc and ascospores of *M. graminicola* mounted in lactophenol-cotton blue staine (barr=10 μm)

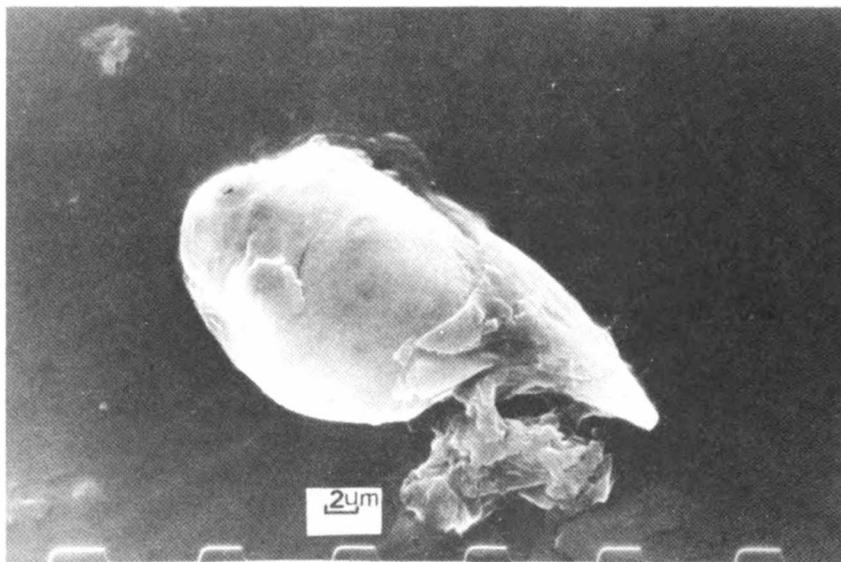


Figura 4-
Asco/s bitunicado/s de *M. graminicola*. Observación con microscopía electrónica de barrido (barrá equivale a 2 μm).
- Bitunicate asc of *M. graminicola*. Viewed by SEM (Scanning Electron Microscope) (barr=2 μm)

Ascosporas ovales, con extremos obtusos; 13,2-18 x 3-4,5 μm , con un tabique hacia la parte media, de tal forma, que una de las células es ligeramente más larga y ancha que la otra.

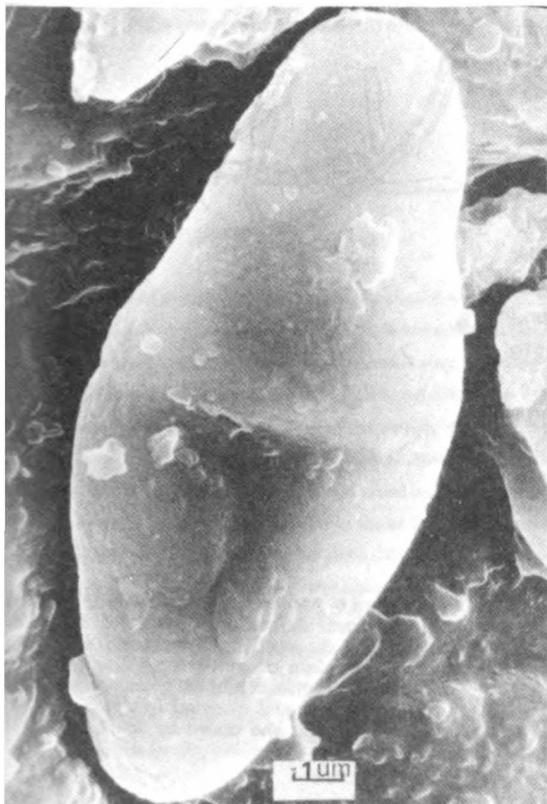
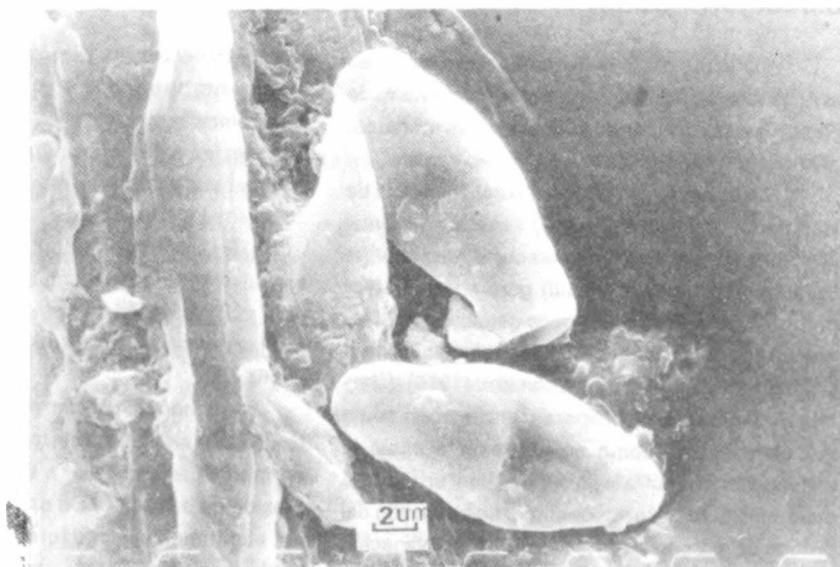


Figura 5- Ascospora bicelular de *M. graminicola*. Observación con Microscopía Electronica de Barrido (barras equivalentes a 1 y 2 μm)

- Bicelular ascospore of *M. graminicola*. Viewed by SEM (barrs= and 2 μm).



Las colonias provenientes de la germinación de las ascosporas se obtuvieron después que estas fueran extraídas sobre agar-agua y transferidas a estrías de agar Malta. Cada ascopora, después de 4 días de germinada, produjo una corta hifa que continuó su crecimiento, al mismo tiempo que conidios secundarios por brotación.

Colonias de color crema, de aspecto mucoso y de superficie rugosa. Conidios hialinos, rectos o flexuosos, de 10-60 x 2-3 μm , con 3 o menos septos. Algunas colonias desarrollaron una superficie estromática negra, de aspecto cerebriforme.

Las pruebas de germinación de ascosporas sobre membrana de celofán evidenciaron que estas comienzan emitiendo un tubo o hifa corta, por uno de sus extremos y que al crecer apicalmente diferencian conidios secundarios. Estos, por brotación, finalmente originan las típicas colonias.

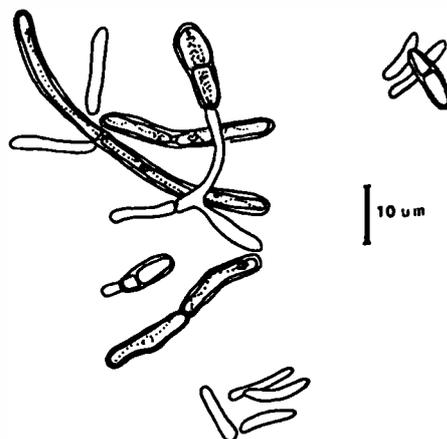


Figura 6- Ascospora germinada de *M. graminicola* sobre membrana de celofán y montados en colorante lactofenol-azul de algodón. Observación y dibujo mediante cámara clara de microscopio óptico.

- Germination of *M. graminicola* ascospores on cellophane film and mounted in lactophenol-cotton blue stains. Viewed and drawn by light-camera of an optic microscope.-

DISCUSION Y CONCLUSIONES

De estas observaciones se deduce que en la Argentina se encuentra presente el teleomorfo de *Septoria tritici*, formándose sobre trigos maduros, al finalizar la primavera.

La aparición de la fase sexual en el ciclo de vida de un hongo fitopatógeno tiene fundamental importancia en las interacciones con el hospedante. Este mecanismo (vía sexual) garantiza la mayor proporción de recombinaciones genéticas que luego segregarán en las generaciones siguientes de la población patógena. Sanderson et al (1986) determinaron que si las ascosporas funcionaban como inóculo primario, como en el presente caso, la distribución anemófila le permitiría cubrir una amplia superficie del cultivo hospedante. La población del patógeno segregada, después de la recombinación genética, sería seleccionada por el hospedante en

cada ciclo del cultivo. El inóculo sería haploide al momento de la infección pero en el hospedante al encontrarse con otras líneas infectivas, podría alcanzar la heterocariosis, permitiendo la acumulación y mantenimiento de los alelos no expresados dentro de la población.

En este tipo de enfermedades donde la fase sexual del patógeno juega un rol muy importante para su ciclo de vida, existe una alta probabilidad que la resistencia no sea durable (Sanderson et al 1986).

Cuando un cultivar mejorado es expuesto en una segunda etapa del mejoramiento, al cultivar en gran extensión resulta sometido a una fuerte presión de selección. De esta forma, el patógeno va experimentando diferentes combinaciones genéticas con la resultante acumulación de alelos de

variabilidad que superan la resistencia del nuevo var.

Por todo esto resulta muy importante profundizar los estudios sobre el ciclo de ocurrencia de

la "mancha de la hoja del trigo" para explicar la frecuente variabilidad patogénica y la imposibilidad de hallar niveles elevados de resistencia a esta enfermedad, en cultivares de este cereal.-

BIBLIOGRAFIA

- Cordeiro C (1986) Informe anual de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia. de Buenos Aires. 97 pp
- Cordeiro C y JC Lindquist (1987) Análisis cualitativo de la variabilidad cultural de *Septoria tritici*. Bol Soc Arg Botánica 25 (1-2) 59-77
- Cordeiro C y HO Arriaga (1987) Variación en patogenidad entre cepas argentinas de *Mycosphaerella graminicola* (anamorfo, *Septoria tritici*). Conferencia regional sobre la Septorioxis del Trigo. México D F :CIMMYT 84-86
- Cordeiro C, A Perelló y HO Arriaga (1989) Study of the stability of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) isolates. Proceedings of the Third International Workshop of Septoria of Cereals, Zurich Switzerland July 4-7 55-59
- Cordeiro C, W y BM Cooke (1989) Spore germination and pycnidial development in wheat and barley isolates of *S. nodorum* on cellulose film. Third International Workshop on Septoria Diseases of Cereals, Zurich, Switzerland, July 4-7
- Fuehrst (1870) *Sphaerella graminicola* Fuehrst Jahrb. Nassau Ver Naturk 23-24:101
- Garza R (1965) Presencia en Chile de *Mycosphaerella graminicola* (Fuehrst) Schroeter estado sexual de *Septoria tritici* Rob. et Deam. Agricultura Técnica. (Chile) 46, 209-211
- Garza R, YR (1989) Occurrence of *Septoria tritici* and its perfect state in Brazil. Third International Workshop of Septoria Diseases of Cereals, Zurich Switzerland July 4-7 34-35
- Perelló A, F Babinec y C Cordo (1987) Especialización fisiológica en cepas argentinas de *Septoria tritici* Rob. et Deam. (teleomorfo *Mycosphaerella graminicola* Fuehrst Schroeter). Conferencia Regional sobre la Septorioxis del Trigo. México, D F CIMMYT 101-107
- Perelló A, CA Cordo y HE Alippi (1990) Características morfológicas y patogénicas de aislamientos de *Septoria tritici* Rob. et Deam. Agronomía, INRA 10:641-648
- Perelló A, C Cordo, H Alippi y HO Arriaga (1991) Variation in virulence of *Septoria tritici* Rob. et Deam. Agronomía 11: 571-579
- Sanderson FR (1975) *Mycosphaerella graminicola* (Fuehrst) Sanderson comb. Nov., the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. et Deam. N Z J Botany 14:359-380
- Sanderson FR y JG Hampton (1978) Role of the perfect state in the epidemiology of the common *Septoria* Diseases of wheat. New Zealand Journal Agric Res 21: 277-281
- Sanderson FR, AL Scharen, Z Eyal y AC King (1986) A study of genetic segregation using single ascospore isolates of *Mycosphaerella graminicola*. Plant Breeding Symposium DSIR. Agronomy Society of New Zealand Special Publication N°3: 195-201
- Scott PR, FR Sanderson, PN Benediz (1988) Occurrence of *Mycosphaerella graminicola* teleomorph of *Septoria tritici* on wheat debris in the UK. Plant Pathology 37: 285-290
- Schroeter (1894) *Mycosphaerella graminicola* (Fuehrst) Schroeter in Cohn, KRYPT-FL. Schles 3:340