# NOVEDADES SOBRE LAS CARIES DEL TRIGO («TILLETIA» SPP.)

### Y SU DISTRIBUCION

# EN LAS DIVERSAS REGIONES TRIGUERAS DE LA ARGENTINA

### Por ELISA HIRSCHHORN Y JOSEFA CALVO 1

Las "caries" que parasitan los trigos en la Argentina, son diferenciadas morfológicamente, en especial, por el episporio: liso, en *T. foetida* (Wallr.) Liro; reticulado en *T. caries* (DC.) Tul. y reticulado encerrado en una envoltura hialino-gelatinosa en *T. contraversa* Kühn. En el cuadro A puede encontrarse los caracteres más detallados, según diversos especialistas.

La primera de las autoras comprobó, en 1941, (8) que el material clamidospórico de las "caries" en la Argentina, presentaba variaciones en color, forma y episporio, muchas de las cuales tan extremas, que hacía difícil o imposible su identificación específica. Estas variaciones fueron consideradas híbridos espontáneos, resultantes de cruzamientos entre T. caries y T. foetida. Consideraciones que Holton (11) confirmó experimentalmente, con posterioridad, diciendo que: "los tipos descriptos por Hirschhorn, son el resultado de hibridaciones entre T. caries × T. foetida". El mismo investigador y Kendrick, en 1956 (16), en un sustancioso trabajo sobre "caries", en el que analizan las variaciones por el problema taxonómico que plantea, confirman la existencia de tales híbridos "naturales" para el N. O. de Estados Unidos. Es obvio destacar la importancia técnico-práctica que implica el conocimiento de la exis-

¹ Técnica del Instituto de Patología Vegetal I.N.T.A., destacada en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Llavallol, y del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, respectivamente, donde se realizó el trabajo. Publicación del Inst. Fit. de Santa Catalina nº 73.

tencia de tales híbridos naturales, por ser fuentes generadoras de formas fisiológicas o patógenas diferentes, dificultando así, y en forma permanente, la lucha contra las epifitias, mediante la creación de cultivares resistentes. En base a ello, a la presencia de T. contraversa, la que no responde a los métodos de control de las otras "caries", y debido a la frecuente información que recibimos, que, en regiones trigueras o en sembrados en los que se trató la semilla con sustancias recomendadas para el control de T. foetida y T. caries, se produjeron intensos y amplios ataques; por todo ello, consideramos necesario efectuar un estudio, sobre la mayor cantidad de muestras de material patógeno proveniente de todas las regiones trigueras del país, a fin de establecer la identidad de las especies de Tilletia que atacan actualmente los trigos argentinos, su grado de difusión y, en lo posible, sus características morfofisiológicas.

En efecto, el estudio sobre 197 muestras que representan, cada una, mezclas de varios lotes de granos de diferentes variedades, de trigo, provenientes de regiones ecológicas muy diferentes, nos permitió establecer: 1º la distribución geográfica actual de las tresespecies; 2º la existencia en el país de una nueva especie de carie para nuestra flora, y de variedades o tipos, probablemente diferenciales en T. caries, T. contraversa y T. foetida; 3º características de germinación de las entidades mencionadas, su variabilidad y sus relaciones con la existencia en el país de formas fisiológicas diferentes; 4º clamidosporos con tipo de germinación excepcional y desconocido en estas especies y, además, tipos anormales o atípicos.

Incluimos además, cuadros descriptivos, un mapa con la distribución geográfica actual y otro correspondiente a material recolectado 1934-41 con fines comparativos, y microfotografías de las especies, de sus variantes morfológicas y de su germinación.

#### MATERIAL Y METODOS

La mayor parte de las muestras examinadas nos fueron enviadas por el Tribunal de Fiscalización de la Bolsa de Comercio, por la Junta Nacional de Granos y Elevadores y por la Estación Experimental de Barrow, a quienes expresamos nuestro agradecimiento;

En su mayoría, las muestras examinadas estaban formadas por granos y no por espigas, representando, por lo tanto, cada muestra, material proveniente de cultivos diversos de una región determinada. Pudimos obtener espigas carbonudas, solamente de Santa Rosa (La Pampa); Barrow (Buenos Aires) y de Paraná (Entre Ríos).

Hemos examinado 2.169 granos carbonudos, pertenecientes a 197 muestras diferentes, recolectados durante las cosechas de 1959/60, 1960/61 y 1961/62, de Buenos Aires, La Pampa, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba y San Luis. En los cuadros 1-6 se consigna la procedencia, el nombre de la especie parásita y el nombre de las variedades de trigo, en los casos en que fue posible, sobre los que se encontró el parásito. La identificación de los parásitos fue hecha en base a las descripciones originales, de las de otros especialistas y, en los casos que nos fue posible, haciendo la confrontación con el ejemplar tipo (T. contraversa y T. foetida).

La germinación de los clamidosporos se hizo en agar agua, en agar papa glucosado o en agar con extracto de suelo; se anotó la temperatura exigida en cada caso, el tiempo que tardaron para germinar, longitud de los promicelios y el número de conidios formados. Estos caracteres fueron considerados, especialmente con miras a diferenciar formas fisiológicas, de acuerdo a los resultados de las investigaciones de Holton (10-14) y de sus colaboradores, quienes establecieron que dichos caracteres están relacionados con formas fisiológicas diferentes, lo que permite establecerlas "in vitro". No obtuvimos germinación en todas las muestras sometidas a estudio, a pesar de los repetidos ensayos y de mantener el grano carbonudo en maceración, a baja temperatura, durante varios meses. La casi totalidad del material clamidospórico que germinó, lo hizo sin haber estado previamente en maceración a bajas temperaturas. T. contraversa que, según los especialistas de EE. UU., es la especie que presenta las mayores dificultades para germinar, porque tarda entre 30-60 días. Nuestro material, en cambio, germinó en menos días y con mucha facilidad.

Las observaciones microscópicas fueron hechas sobre clamidosporos montados en lacto-fenol o en líquido de Shear. Las microfotografías <sup>1</sup> fueron hechas con lente de inmersión.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> El señor Salomón Velázquez, ayudante del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, colaboró en su obtención, lo que le agradecemos.

#### RESULTADOS

#### ESPECIES IDENTIFICADAS Y SU DISTRIBUCIÓN EN LAS REGIONES TRIGUERAS

Sobre los 2.169 granos carbonudos examinados, el carbón de 1.782 granos perteneció a T. foetida; de 240 granos a T. contraversa; de 95 granos pertenecieron a T. caries, en muchos casos en forma no muy típica; de 9, a T. intermedia y el de 55 granos perteneció a variantes que se apartan de los caracteres típicos de las tres especies señaladas (cuadros 1-6), entre los que se encuentra T. intermedia (Gassner) Savul. (22), especie que no ha sido señalada hasta la fecha en el país, caracterizada por poseer reticulaciones muy pequeñas y superficiales, y que Gassner (5) y otros consideran de origen híbrido entre T. caries y T. foetida. Esta especie la encontramos pura sólo en material proveniente de Bolívar (Buenos Aires) y Guatraché (La Pampa) (Lám. I, figs. 7-9) y sus clamidosporos, además de particularizarse por su episporio provisto de muy tenues reticulaciones, poseen a veces, envoltura hialina muy estrecha.

Por otra parte, aparece un tipo semejante a T. contraversa, pero con reticulaciones más profundas y de aspecto cerebriforme, encerrados, generalmente, en amplia envoltura hialina (lâm. II, figs. 2, 3, 7). Se destaca otro tipo semejante a T. foetida por sus clamidosporos liscs, pero se diferencia por ser mucho más irregular y anguloso, con episporio más grueso, sobre todo en las zonas angulosas (lâm. I, fig. 3) que designamos T. foetida tipo 1.

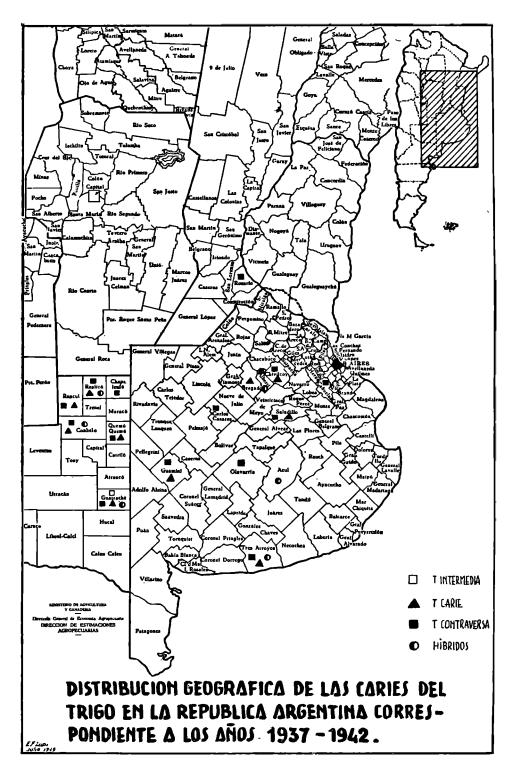
Las 55 variantes de referencia, comprenden una escala muy amplia de variaciones, que va, desde clamidosporos lisos a reticulados con todos los grados intermedios; globosos a muy irregulares, sin o con envoltura hialina que varía desde casi imperceptible a muy amplia, etc.

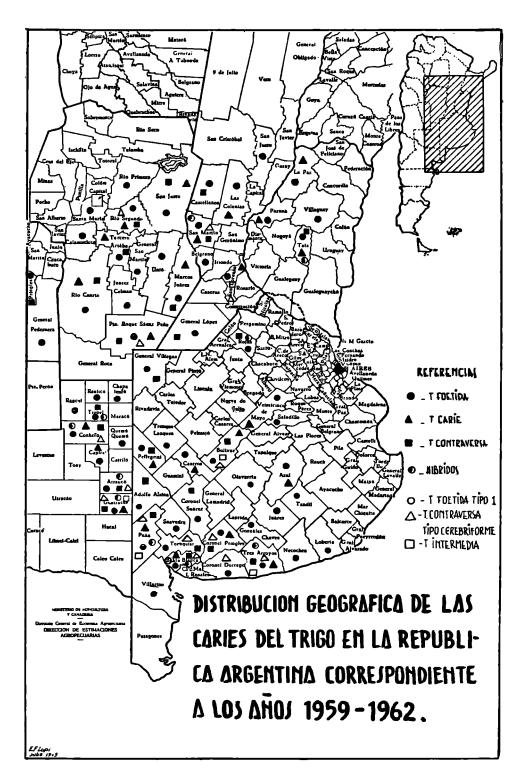
Como parece evidente, el carbón duro de la mayor parte de las muestras, correspondió al que denominamos T. foetida, siguiéndole en segundo término T. contraversa, en tercer término T. caries, en cuarto las variantes y por último T. contraversa tipo cerebriforme, T. intermedia y T. foetida tipo 1. T. intermedia se encuentra también en otros países y al igual que en el nuestro, con menos frecuencia que las otras especies. Según Holton y Kendrick (16) esta

especie se presenta raramente, puesto que de un examen de "2.000 espigas carbonudas, 8 pertenecían a esta especie".

Lo importante de esta revisión reside en el hecho de que nos pone en condiciones de indicar que:

- 1º T. foetida es la especie que se mantiene como la más ampliamente difundida en el país (cuadro 1-6 y mapas 1 y 2), tal como ocurre en otros países.
- 2º T. contraversa está mucho más ampliamente difundida en el país de lo que se sabía hasta ahora. Cuadros 1-6, mapa 2.
- 3º T. caries se encuentra mucho menos difundida de lo que se creía, suplantada en este sentido por T. contraversa y T. contraversa tipo cerebriforme, etc., la cual resulta a veces muy difícil de distinguir. Cuadro 1-6, mapa 2.
- 4º Existe una especie nueva de "caries", T. intermedia (lam. I, figs. 7-9) y dos tipos diferenciables morfológicamente, no registrados anteriormente, a los que no consideramos oportuno dar jerarquia taxonómica o específica hasta tanto no se realicen más pruebas experimentales pertinentes. La presencia de T. intermedia (Gassner) Savul. (22) o var. intermedia Gassner (5) llamarla forma, variedad o especie, para el caso es lo mismo, puesto que lo importante es que constituye una entidad presente en granos carbonudos, en los que la casi totalidad de sus clamidosporos está representada por los caracteres que la distingue, aunque, en otros casos, se encuentra mezclado con los clamidosporos de las otras especies o variantes. Dentro de los 2.169 granos carbonudos examinados, encontramos 9 ejemplares provenientes de La Pampa (Guatraché) y Buenos Aires (Bolívar), en los que el 99 % aproximadamente de los clamidosporos correspondían a T. intermedia. El mapa 2 y los cuadros 1 a 6, señalan la distribución geográfica actual de las especies y variantes, número de muestras y de granos carbonudos examinados y los cultivares de trigo atacados, pero no en todos los casos. El mapa no 1, muestra la distribución de las caries, correspondiente a 1937-41.





CUADRO 1

Distribución geográfica de las caries en la provincia de Córdoba (cosecha 1959-1962)

		anitandas al lote	E	-	le carbo anos ca			-	nero
Departamento	Variedad atacada	No de muestras examinados correspondientes al lote cosechado	T. intermedia	T. contraversa tlpn cerebriforme	T. foetida	T. caries	T. contraversa	Hibridos o variantes	Total
Calamuchita	Klein 157, B. Que- quén	2		_	8	_ :	_	_	8
Gral. San Martín	K. 32, K. Rendi- dor, K. Petiso, Benvenuto Inca		_	_	12	-	-	_	12
Juárez Celman		2	_	l	22	_		~	22
Marcos Juárez		2	_	_ '	23	2	1	_	26
Río 1º	K. Rendidor, K. Petiso, K. Co- meta, K. 32.	1	–	_	6	-	_	_	6
Río 2º		2	-	×¹	4	1	5	_	10
Río 4•	K. Cometa.	17	—	_	173	5	4	_	182
R. Sáenz Peña	K. Cometa.	3		۲×	7	1	12	_	20
Sau Justo	K. Cometa, K. Rendidor, K. Petiso, K. 32.	6	_	_	29	1	1		31
Santa María		1		_	7		_	_	7
Tercero Arriba		1	_	_	5	1	1		7
Unión		2	_	_	15	_	_	_	15
Totales		41			311	11	24	_	346
Por ciento			١ .		89,62	3,18	6,93		

⁴ × Presencia.

CUADRO 2 Distribución geográfica de las caries en la provincia de La Pampa (cosecha 1959-1962)

		property of the control of the corresponding to the corresponding to the consequence of t		Especies de carbón identificadas y número de granos carbonudos examinados							
Departamento	Variedad atacada		I. intermedia	T. contraversa	T. foetida	T. caries	T. contraversa	Hibridus o variantes	Total		
Atreucó	Gral., Roca M.A. G., Buck Atlán- tico.	4	-	×¹	45	_	1	_	46		
Capital	K. Lucero, Gral. Roca M. A. G., Buck Quequén, K. Crédito, K.			-	103	2	_	1	105		
Conhelo	Klein Petiso, K. 157, K. 32, K. Reudidor.	10	-	×٠	90	6	10	17	123		
Chapalenfú Guatraché	Buck Quequén, K. Crédito, K.	1	-	_	4	_	_	-	4		
	Aniversario.	8	×۱	×'	55	3	72	1	131		
Quemú-Quemú	K. Rendidor.	3	_	_	32		—	_	32		
Rancul		1	-		8	_	—	_	8		
Realicó		1	<b> </b>	_	10	_	<b>!</b> — .	_	10		
Trenel		_1			5		5	1	11		
Totales		40			352	11	88	19	470		
Por cieuto					74,89	2,34	18,72	4,04			

<sup>1 ×</sup> Presencia.

CUADRO 3

Distribución geográfica de las caries en la provincia de Entre Ríos (cosecha 1959-1962)

		examinadas es al lote do	Especies de carbón identificadas y número de granos carbonndos examinados						
Departamento	Variedades	No de muestras exam correspondientes al cosechado	T. intermedia	T. contraversa tho cerebriforme	T. foetida	T. caries	T. contraversa	Hibridos o variantes	Total
						!			_
La Paz	K. Cometa	9	<b> </b>	_	179	2	1	_	182
	K. Lucero								
Paranú	Sinvalocho, K.	5	-	-	72	3	_	- :	75
	Cometa, K. Pe-						·		
	tiso, K. 157				39	1	1	1	42
R. del Tala		1	_	_		1	•	1	
Villaguay	Magnif. Entre-	)	—		20	_	_	_	20
	rriano		<u> </u>						
Totales		16			310	6	2	1	319
Por ciento	l	ļ			97,17	1,88	0,62	0,31	

CUADRO 4 Distribución geográfica de las caries en la provincia de Santa Fe (cosecha 1959-1962)

			Es	•	le carbó inos car			•	ero
Departamento	Variedad atacada	N° de muestras examinadas correspondientes al lote cosechado	T. intermedia	T. contraversa	T. foetida	T. caries	T. contraversa	Hfbridos o variantes	Total
Belgrano	K Rendidor.	1			6	_	_	_	6
	K. Petiso, K. Co-	1	_		6		1		7
Vasicitatios	meta.		_	_	"		•		•
Gral. López	Buck Atlantico, K. Rendidor, K. Petiso, K.		_	_	39	_	3	_	42
Las Colonias		1	l	l _	13	1	_	_	14
San Lorenzo	K. Petiso.	3	ı×۱	×	4	1	_	_	5
San Martin	K. Rendidor, K.	7		l x'	75	3	12	2	92
	Comets, K. Pe-			' '					
	tiso, K. Lucero			1					
San Justo		1	<u> </u>		3				3
Totales		15			146	5	16	2	169
Por ciento					86,39	2,95	9,46	1,18	

¹ × Presencia.

CUADRO 5

Distribución geográfica de las caries en la provincia de Buenos Aires
(cosecha 1959-1962)

		sminadas al lote	Es		de carbo anos car				ero
Partido	Variedad atacada	N° de muestras examinadas correspondientes al lote coseolado	· I. intermedia	T. contraversa tipo cerebriforme	I. foetida	T. caries	I. contraversa	Hibridos o variantes	Total
Adolfo Alsina Azul Bahía Blanca		3 3 5	111	_ _ ב	24 31 13	_ 1 2	2 — 25	- 3	26 32 43
Barrow (Tres Arroyos) Bolívar Bs. Aires (Prov.) Caseros Coronel Dorrego	k. Crédito.	6 5 4 1 2	×' 3 -	×:		39 4 3 1	28 6 16	20 - 2	87 54 46 7 12
Coronel Pringles Coronel Suárez Gral. Villegas González Chaves		1 3 1 1		× ×	2 25 5 11	1 - -	3 1 1	_ _ _ _ _	6 26 6 11 27
Juárez Lobería Necochea Olavarría Pellegrini	K. 157.	2 2 1 6 5	_ _ _ _	- - - -	27 31 11 36 22		- - - 8	- - - -	31 11 36 31
Puán	K. Rendidor, K. Crédito, Gral. Roca M. A. G., Buck Atlántico		×	×	126	8	8	3	145
Saavedra Saladillo Tandil Tornquist		1 1 2 2		_ _ _ _ ×	6 10 37 16		- - - 1	_ _ _ _	6 10 37 17
Trenque Lauquen Tres Arroyos 25 de Mayo Villarino		1 4 1 2	_  	- - - -	3 53 13 6	1 1 	- - -		3 54 14 6
Totales		82			607 75,40	62 7,70	106 13,16		805

<sup>&#</sup>x27; × Presencia

CUADRO 6

Distribución geográfica de las caries en la provincia de San Luis
(cosecha 1959-1962)

		examinadas es al lote do	Especies de carbón identificadas y número de granos carbonudos examinados						
Departamento	Variedad atacada	No de muestras exi correspondientes cosechado	T. intermedia	T. contraversa tipo cerebriforme	F. foetida	T. caries	T. contraversa	Hibridos o variantes	Total
Pedernera		1	_	_	13	_	4	_	17
Pringles		2	—	-	43				43
Totales		3			56	_	4	_	60
Por ciento					93,3		6,7	[	r

Es muy probable que un recorrido detenido por los cultivos de trigo en la época de espigazón, permita extender el área de dispersión de *T. contraversa*, puesto que, los granos cosechados con esta especie corresponden a plantas que alcanzaron una altura suficiente como para poder ser recogidos por la máquina cosechadora. Todas las plantas atacadas por la especie, pero con menor talla, habrán quedado sin cosechar, pudiendo haber escapado así a su posible reconocimiento, zonas que, por sus condiciones ecológicas acentuara la enanización.

Consideramos que los datos que suministramos sobre el particular, son de especial interés para quienes tienen la responsabilidad de procurar el mejoramiento de este cultivo, pues, además de *T. contraversa* que se encuentra más difundida en el país de lo que se sabía, existe otra especie nueva para el país, y otro "tipos", bien diferenciados morfológicamente <sup>1</sup>.

En base a la forma que se nos presentó el material de "caries" en la Argentina, procedimos a completar su descripción en forma sintética y comparativa, tal como la damos en el cuadro nº 7. Su

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Es presumible que el material con características morfológicas diferentes, esté asociado a características patógenas también diferentes.

CUADRO 7
Síntesis comparativa de los caracteres microscópicos y de germinación que presentan las caries de la República Argentina

	T. foetida	T. caries	T. contraversa	T. intermedia	T. contraversa tipo cere- briforme o T. caries tipo cerebriforme	T. foetida tipo 1?
		CARACTER	ES DE LOS CLAMI	DOSPOROS		
Color	Castaño claro-oscu- ro, oliva-oscuro a muy claro o ama- rillo casi hialino	-		u oscuro o casi hia-		Castaño muy os- enro
Forma	Globosas, irregular- mente ovaladas, irregulares muy an- gulosas, piriforme	Globosas, ovaladas, irregulares o irre- gularmente alarga- das	Globosas, ovaladas o irregularmente alargadas	Globosas, ovaladas o ligeramente irre- gulares	Globosas, ovaladas o muy irregulares	Muy irregular- mente angulo- sos
Diámetro Episporio	Delgado a grueso, liso, sinuoso, pun- teado, provisto, a veces, de envoltu- ra hialina o de a-	14-25 × 14-16 µ Delgado, reticulado, de profundidad va- riable, casi liso o verrugoso, aureo- las pentagonales, exagonales, regula-	14-24 × 12-22 μ Delgado, reticula- ciones muy profun- das a superficiales o casi liso, aureo- las exagonales, pen- tagonales, cuadran-	0,5-1 × 0,5 μ de profundidad o más	aureolas pentago- nales cerebriforme, de 2-5 \mu de diame-	15-29 μ Mny grueso 2-3 μ
	péndice hialino y prolongaciones mi- celiales	res, irregulares o cerebriforme, de 2-5 \( \mu\) de diámetro $\times$ 0,5-2 \( \mu\) de profundidad, a veces encertados en muy entrecha envoltura histina	gulares o muy alar- gulares o muy alar- gudas, de 2-5 µ de diámetro × 1-3µ de profundidad, mu- chas de disposición cerebriforme, ence- rrados en estrecha o ampla envoltura	pequeño	voltura hialina es- trecha o amplia	

Color	Hialino	Hialiuo	Hialino	Hialino	Hialino	Ì
Forma	Globosas-alargadas	Globosas-alargadas	Globosas a irregula- res	Globosas o alarga- das	Globosas-alargadas, irregulares	
Diametro	9-22 × 14-18 μ	11-14 × 14-20 μ	14-18 × 12-18 μ	10-18 × 18-24 μ	16-18 × 18-20 µ	
Episporio	Liso	Liso o muy ligera- mente reticulado	Lisos o reticulados	Liso o finamente re- ticulado	Liso o reticulado	Liso

## CARACTERES DE GERMINACION DE LOS CLAMIDOSPOROS

Tiempo que tarda para germinar .	8-25 días	10-15 días	6-20 días	15 días	8-16 días	_
Porciento de germinación	30-100 °/ <sub>0</sub>	20-100 °/•	80-100 °/ <sub>0</sub>	80-90 °/•	80-100 °/,	Detienen la ger- minación al comienzo y no prosperan
Longitud de los promicelios		Nulo, largo 160 μ	Corto a largo 20- 160 µ	Corto a largo 20- 160 µ	Corto 20-40 μ	_
Nº de conidios	4-16	4-8	4-20	6-10	14	_
Fusión de coni- dios en forma de	н	н	н	H y en U	Hyen U	

<sup>&#</sup>x27; Promicelios: muy cortos = desde vestigios hasta 20  $\mu$  de largo; cortos = de 20-40  $\mu$ ; intermedio = de 40-70  $\nu$ ; largo = de 70-160  $\mu$  de longitud y muy largos desde 170  $\mu$ .

análisis revela que no existe una separación satisfactoria o suficientemente neta entre las especies, porque presentan gradaciones interespecíficas en todos los caracteres; por ejemplo, los del episporio, varía desde liso, punteado, verrugoso o con reticulación de espesor, diámetro y forma variable, y así en casi todos los demás caracteres específicos. Ello pone de manifiesto que la amplitud de las variaciones de referencia, excede los límites específicos dados en las descripciones originales, y que existen nexos o relaciones genéticas entre todas, que hacen difícil, complicada o problemática la identificación de las especies, y el significado biológico fundamental de las entidades consideradas como especie.

En resumen, tal como especificamos en páginas anteriores, junto a material de T. foetida, T. caries, T. contraversa y T. intermedia, encontramos T. contraversa con reticulaciones de tipo cerebriforme, (lám. II, figs. 2, 3 y 7) tipo que morfológicamente es semejante, por este carácter, a T. elymi (lám. II, fig. 1), que ataca a Elymus sp. Como indicamos en 1941 (8), existieron también entonces, una serie de granos carbonudos con clamidosporos lisos, sinuosos, punteados, verrugosos o con reticulacione de amplitud y profundidad muy variable. Entonces, carie "enana", era considerada una forma patógena de T. caries, y no se le reconocía presencia de envoltura hialina, la que, por cierto, es tan estrecha a veces que resulta casi imperceptible si no se la observa con lente de inmersión y montada en líquido de Shear. Por otra parte, junto a clamidosporos de T. foetida se encuentra, con frecuencia, otro tipo con toda la apariencia de poseer envoltura hialina (lám. I, fig. 5) y casos en T. foetida con clamidosporos aparentemente dobles (lám. I, fig. 1a) o sin haber completado la división entre los mismos, semejantes a lo que es característico de ciertos clamidosporos del género Mundkurella descripto por Thiramulachar (24).

Dada la heterogeneidad referida, del material de caries, tratamos de estudiar sus caracteres germinativos y la relación de éstos con los caracteres morfológicos. Resultó que sólo en algunos casos parece existir cierta relación entre el tipo de germinación con los clamodisporos de T. intermedia y T. contraversa tipo cerebriforme. T.foetida tipo I no germinó normalmente, pues inició el proceso y quedó detenido inmediatamente después de producido un pequeño tubo hialino.

Dentro de cada especie, unas poblaciones tardaron más que otras para germinar, produciendo un número de conidios también variable, pero siempre constante para la población dada. Por su constancia, consideramos que estos caracteres, están relacionados con la diferenciación de formas fisiológicas "in vitro", que detallamos a continuación.

#### GERMINACION DE LOS CLAMIDOSPOROS: SUS CARACTERISTICAS

Germinaciones normales: El método seguido para obtener germinación de los clamidosporos fue descripto al principio. En algunos pocos casos los clamidosporos germinaron poco tiempo después de su maduración morfológica, pero en la gran mayoría, casi el 100 %, germinó sólo después de un año de ser mantenidos en condiciones ambientales comunes. Ocurrió así con muchas muestras de T. foetida, T. contraversa y variantes con caracteres de T. intermedia y de T. contraversa tipo cerebriforme. T. caries presentó muchas dificultades para germinar, cualquiera fuera la edad de los clamidosporos y lo que aparece en los cuadros como T. caries germinado, pertenece a material clamidospórico no muy típico.

El cuadro nº 8 consigna las características de los clamidosporos y de las germinaciones de cada especie según las procedencias, tiempo que tardaron en germinar, número de conidios producidos, etc. Así, el material considerado T. foetida tardó 8-25 días, en la mavoría de los casos más de 15 días. T. caries tardó 10-15 días, mientras que T. contraversa, 6-20 días, habiendo germinado la mayor parte del material, entre 6-8 días, y sólo en dos casos tardó entre 15-25 días. Abundante número de muestras pertenecientes a las tres especies, no germinaron No sabemos si se trata de material que corresponde a tipos o formas genéticamente diferentes, que exigen otras condiciones para iniciar la germinación, puesto que fueron mantenidos durante dos o más meses en condiciones adecuadas, sin lograr su germinación. El material de las diversas procedencias acusó diferencias en el tiempo que tardó para germinar, en la longitud de los promicelios y en el número de conidios o esporidios producido dentro de lo que consideramos una especie. Los promicelios variaron desde casi nulos a muy largos y con un número de esporidias primarias oscilante entre 4-16 en T. foetida,

4-8 en T. caries, 4-20 en T. contraversa, 6-10 en T. intermedia y de 14 en T. contraversa tipo cerebriforme. Si analizamos los cuadros nos 7 y 8 y el sintético indicado a continuación, vemos que la diferencia, más acentuada y constante corresponde al número de esporidias primarias que producen, que a la longitud de los promicelios. Por lo que dentro de cada especie resultaron agrupables en relación probable, de formas (Holton op. cit.), y diferenciables "in vitro", tal como especificamos a continuación:

T. foetida		T. contraversa				
Entre Ríos (La Paz) . La Pampa	. 4-3 e 6-10	esporídias "	La Pamp	oa (Guatraché)	<b>4-10</b> 6-10	esporídias.
-	12-16	79	Santa F	e	10-16	29
B. Aires (Barrow)	8-10	"	Buenos	Aires	8-12	77
Santa Fe (Conhelo)					12-14	**
					14-20	77
T. car	ies			T. interm	edia	
S. Fe (Las Colonias)	. 6-8 •	sporídias			6-10 e	sporídias.

.. (San Lorenzo) . 4

T. contraversa tipo cerebriforme

14 esporídias

Aunque carecemos de datos correspondientes a su comportamiento hereditario, nos inclinamos a considerar las diferencias encontradas en el número de conidios producidos dentro de cada especie como debidas a formas o razas distintas, en base a las experiencias referidas de Holton y colaboradores.

Referente a la germinación, es interesante destacar que aparecieron casos frecuentes de conidios que, en lugar de fusionarse en forma de H (lám. IV, fig. 2a), comportamiento característico de estas especies, lo hicieron por la base en forma de U (lám. IV. fig. 2b), tanto en T. foetida (lám. IV, fig. 5) como en T. contraversa tipo cerebriforme y más abundante en T. intermedia, en la que cerca del 30 % del material se comportó en esta forma, comportamiento desconocido hasta el presente, en esta especie, según nuestra información.

Estos tipos de fusión, totalmente desconocidos, como decíamos, constituyen de por sí un caso excepcional en el género Tilletia,

CUADRO A

Caracteres por los que se diferencian las tres caries, según diversos especialistas

T. contraversa	T. caries	T. foetida
Clamidosporos reticulados,	Clamidosporos reticulados,	Clamidosporos lisos,
19-24 µ	14-25 μ	$14-22~\mu$
Reticulado muy profundo, general- mente con aureolas poligonales a veces subcerebriformes '	Reticulado menos profundo, a veces cerebriforme (1)	_
Clamidosporos con envoltura gelati- nosa	Clamidosporos sin envoltura gelatinosa	Clamidosporos sin envoltura gelatinosa
Germinación difícil	Germinación fácil	Germinación fácil
Promicelio con 9-60 conidios	Promicelio con menos conidios, 4-20	Promicelio con 4-16 conidios
Temperatura que requiere para ger- minar: 5-15° C	Temperatura que requiere para germi- nar: 11-20° C	Temperatura que requiere para germi- nar: 11 a 20° C
Temperatura que requiere para ger- minar en suelo : 2° C	Temperatura que requiere para germi- nar en suelo: 6-10° C	-
Infección por el suelo	Infección por semilla	Infección por semilla
Grano carbonudo duro y compacto	Grano carbonudo de duro a blando	Grano carbonudo blando
Se controla por tratamiento del suelo	Se controla por tratamiento de semilla	Se controla por tratamiento de semilla
Plantas atacadas disminuyen altura y aumenta macollaje	Plantas atacadas no disminuyen altura, no varía macollaje	_
En espiga, separa marcadamente la pálea de lemma	En la espiga, separa poco la pálea y la lemma	Poco separada la pálea de lemma

1 Según Fischer y Durán (op. cit.)

CUADRO 8

Caracteres germinativos de las caries examinadas

Procedencia	Tiempo que tar- dan para germi- nar (en días)	Longitud de promicelios en µ	Número de coni- dios primarios formados
	T. foe	lida	
Entre Ríos (La Paz)	25	20-40	4-8
Santa Fe (S. Martín)	25	nulos-20	4-6
La Pampa (Conhelo)	10	70-160	6-10
»	10	40-70	12-16
Buenos Aires (25 de Mayo)	23	20-40	9-10
» (Barrow)	8-15	20-160	6-8
	T. car	ies	
Santa Fe (Las Colonias)	15	nulo-20	6-8
San Lorenzo	10	nulo	4
	T. contra	rer8a	
Santa Fe (San Martín)	15	nulo-20	6-8
	15-20	vestigios-20	10-16
La Pampa (Guatraché)	8	40-160	8-10
» »	8-10	nulo-160	4-10
» »	20	nulo-70	6-10
Bs. Aires (Cnel. Pringles).		20-40	6-8
» (Bahía Blanca)		nulo-40	6-10
» (Barrow)	6-8	100-160 ramif.	14-20
» »	6-8	70-160	12-14
» »l	6-8 l	40-160 bipol.	12-14
	T. interm	edia	
Buenos Aires (Bolívar)	15	20-160	6-10
<b>T.</b> 0	ontraversa tipe	cerebriforme	
Bs. Aires (Bahía Blanca)	8 j	20-40	] 14

pues, es exclusivo de *T. asperifolia*, Hirschhorn 1953 (9), Holton 1953 <sup>1</sup> (13) (lám. IV, fig. 2a y 2b).

T. intermedia, presenta, en muchos casos, otras marcadas diferencias con respecto a las demás especies, por sus conídios cilíndricos y cortos, que no se fusionan entre sí (lám. IV, fig. 6) y caso excepcionales de fusiones de tres conídios primarios (lám. IV, fig. 4a) dos de ellos en H y otro en U.

#### ANORMALIDADES REGISTRADAS DURANTE LA GERMINACION

Dentro de lo que llamamos T. contraversa, T. foetida o T. caries, encontramos gran cantidad de clamidosporos que, en lugar de producir germinaciones comunes, esto es, formación de promicelios de longitud variables, con conidios en el ápice o en el ápice de ramas laterales, se formaron promicelios bipolares. En la lámina V, figura 1-7, pueden verse diversos estadios de estas germinaciones, correspondientes a clamidosporos de T. contraversa del tipo cerebriforme con envoltura hialina. En algunos casos, uno de los promicelios bipolares originó conidios, u otros casos en que cerca de un 50 % de los clamidosporos produjo promicelios largos sin conidios (lám. IV, fig. 2). Además, frecuentes casos en que, apenas comienza a germinar o asomar el pequeño tubo germinativo, se hincha, crece muy lentamente hasta deformarse y detener su crecimiento (lám. V, figs. 2, 4. 5). En pocos casos creció algo más, pero sufrió fenómenos de desintegración o lisis (lám. V, fig. 1). Estos tipos aparecieron con frecuencia en las poblaciones de Barrow y Guatraché, regiones donde precisamente se encuentra la mayor cantidad de tipos morfo y fisiológicamente diferentes, y donde es evidente la existencia de híbridos interespecíficos naturales, mezclados con los taxones que denominamos T. foetida, T. caries o T. contraversa.

<sup>1</sup>Holton y Siang describen este comportamiento en *T. asperifolia* como un caso único de fusión en el género. En el mismo año, e independientemente, E. Hirschhorn descubre el mismo fenómeno en *T. heremophila*. Es interesante destacar este hecho, porque, con posterioridad y también independientemente, Fischer consolidó estas dos especies en base a caracteres morfológicos, hecho que destaca el concepto acertado del taxónomo cuando posee criterio biológico.

Un caso curioso lo constituye el ilustrado en la lámina V, figura 9, en el que, clamidosporos provenientes de un grano de trigo atacado por T. foetida, germinaron en forma normal unos y otros formando un promicelio o tubo de aspecto de un conidio primario, prolongándose en tubo micelial delgado. El tipo ilustrado en la figura, posee un comienzo de germinación bipolar, el que no prospero. Toda esta diversidad de tipos anormales de germinación, podría ser originada por hibridaciones interespecíficas naturales, aludidas en otra parte.

#### DISCUSION Y CONCLUSION

I. Sobre Triticum spp. fueron descriptas, además de las especies consideradas anteriormente, T. triticoides Savul. (21), T. indica Mit. (17) y T. triticina Ranoj. (20). T. triticina es sinónimo de T. lolli (1) según Filscher y Durán (op. cit.). T. intermedia, descripta en 1938 por Gassner (5), como variedad de T. caries a la que consideró teóricamente un híbrido interespecífico entre T. caries y T. foetida, fue elevada a especie por Savulescu y Hulea (22). Por las características de su episporio y de su germinación, es bastante diferenciable de la de las otras especies, mereciendo ser mantenida como especie diferente,a nuestro criterio, hasta que un estudio genético no aclare la relación o establezca que las caries de trigo corresponden a una sola especie colectiva, integrada por una gran población de formas diferenciables morfo, fisiológica y patológicamente. La existencia de clamidosporos con caracteres de T. intermedia, ya fue señalada en 1932 por Flor (4), sobre colecciones de "caries" de U.SA. y por Hirschhorn en 1941 (8) sobre material de nuestro país. Pero, en aquella oportunidad, ninguno de los especialistas mencionados habían encontrado material en que la totalidad o gran parte de los clamidosporos fueron del tipo T. intermedia. Por otra parte, los ejemplares con reticulaciones de aspecto cerebriforme, (comprobadas por Holton et all (11-14) de ser el resultado de cruzamientos entre T. caries y T. foetida), corresponderían igualmente considerarlas como variedad diferente, no sólo por el carácter cerebriforme el episporio sino porque poseen conidios que se fusionan en forma de U. Este tipo es semejante a T. elymi por sus reticulaciones cerebriformes (lám. II, fig. 1 y lám. IV) y a T. asperifolia

porque las esporidias de esta especie se fusionan también por la base. Lám. IV, fig. 2 b. T. indica se diferencia de todas las demás caries del trigo por sus clamidosporos de diámetro mucho mayor, y por el episporio provisto de proyecciones gruesas, truncadas y por !as células estériles en forma de lágrima. En cambio, T. triticoides parecería ser forma de T. caries.

II. En su conjunto, el cuadro de las caries del trigo en la República Argentina, aparece como constituído por poblaciones originadas por hibridaciones, segregantes y recombinaciones intra o interespecíficas, que ya destacamos hace años, y que ahora mantenemos con una base de mayor cantidad de material y de localidades estudiadas. En la producción de los caracteres morfológicos y fisiológicos de estas poblaciones, parecería que hubiesen intervenido además de T. caries, T. contraversa y T. foetida, T. elymi y T. asperifolia, lo que hace más difícil aún la identificación específica, porque los caracteres específicos, considerados típicos, aparecen comunes a más de una especie y son pocos los caracteres que se presentan sólo en tal o cual especie, tal como ha sido descripta originalmente; todo lo cual conduce a plantear la pregunta: ¿representa realmente el ejem. plar tipo, o su descripción, la característica de la especie? Conviene considerar que, si los caracteres determinantes de las especies correspondieron a material puro, o especie típica, actualmente nos encontraríamos con material como perteneciente a poblaciones originadas por cruzamientos entre especies, y en consecuencia estaríamos en presencia de sus segregantes, entre los que también se encontrarían los progenitores, de manera que, considerando solamente los caracteres morfológicos señalados, no podemos decir que se trata de especies puras. Más aún, los caracteres (fisiológicos no visibles) indispensables (o inherentes) para la integración de una especie, se encuentran también entremezclados entre las especies, consideradas identificables por su aspecto morfológico.

Habiendo encontrado, dentro de los granos carbonudos, clamidosporos con caracteres pertenecientes a distintas especies y, a variantes diferentes de lo que se considera caracteres típicos de las mismas, indicaría la existencia de segregación dentro del grano. Esto no sería posible, si cada uno de los núcleos gaméticos del signo — y del signo + constituyeran o fueran un solo genotipo que penetra dentro del ovario de la planta de trigo, puesto que si ello aconteciera, se produciría un híbrido, 2n. de idéntica constitución

genética. Debemos aceptar entonces, una de las dos posibilidades que permiten interpretar o explicar la causa de la variabilidad registrada, a saber:

1) Que dentro del ovario de la planta hospedante, penetran varios núcleos del signo — y varios del signo + con variada constitución genética dentro de cada signo o núcleo sexual. El caso de la fusión simultánca de tres conidios diferentes que señalamos en el texto (lám. IV, fig. 4), daría fundamento a esta hipótesis; 2) la otra posibilidad, consistiría en la producción del fenómeno de Crossingover somático entre núcleos de — y de +.

Si las consideraciones precedentes son exactas, o equivalentes a los fenómenos que se producen, los trigos argentinos estarían atacados por poblaciones compuestas por:

- 1) T. foetida
- 2) T. caries
- 3) T. contraversa
- 4) T. intermedia
- 5) T. contraversa tipo cerebriforme
- 6) T. foetida tipo 1
- 7) T. elymi
- 8) T. asperifolia

T. elymi intervendría, por lo menos en parte, en los casos en los que se encuentran clamidosporos con episporio cerebriforme, y T. asperifolia, en los que aparecen conidios fusionados por la base.

T. foetida y T. contraversa, evidencian estar constituídos por formas fisiológicas diferenciables "in vitro" durante la germinación de los clamidosporos, en relación al número de esporidias que forman. Por el mucho menor tiempo que T. contraversa de la Argentina toma para germinar, aparece fisiológicamente muy diferente al de Estados Unidos, donde demora de 30 a 60 días y lo hace con mucha dificultad. Con respecto a T. caries llamamos la atención sobre la dificultad frecuente para diferenciarla de T. contraversa. Pues en casi todo el material examinado, lo que consideramos como tal ofrece dudas, porque muchos clamidosporos parecen estar provistos de una muy estrecha envoltura hialina. Carácter que se hace apenas más visible, cuando se observa con lente de inmersión,

sobre clamidosporos montados en líquido de Shear. Esta particularidad permite indicar que, quizás el 90 %, si no todo el material que consignamos actualmente en el país como *T. caries*, no es tal, sino que representa una serie de tipos o variantes producidos por hibridaciones interespecíficas (*T. caries* × *T. contraversa*?).

RESUMEN. — Por la importancia económica de las "caries" y dificultad para controlar gran parte de las mismas con tratamientos anticriptogámicos, nos pareció necesario reunir mayor información sobre características y distribución actual de las mismas, mediante un estudio bio-sistemático. La revisión de 197 muestras, que totalizaron 2.169 granos carbonudos, recolectados durante las cosechas 1959/1962, provenientes de las principales regiones trigueras del país, ha hecho posible saber que:

- T. contraversa se encuentra actualmente en las principales regiones trigueras del país; T. foetida es la más ampliamente difundida, y T. caries se encuentra sobre un área-mucho más restringida.
- Existe en el país una especie de carjes desconocida hasta ahora: T. intermerdia (Gass) Savul. sobre Triticum sp. en Bolívar y Guatraché.
- 3. Relacionada con T. contraversa, se distingue un tipo o variedad, singularizada por sus reticulaciones de tipo cerebriforme, semejantes a las de T. elymi, y por abundantes conidios que se fusionan por la base, iguales a los de T. asperifolia (especie considerada única con este carácter). Este tipo de fusión se encuentra, pero con menos frecuencia, en T. intermedia y T. foetida.
- 4. Numerosas muestras poseen granos carbonudos cuyos clamidosporos varían morfológica y fisiológicamente, encontrándose todos los tipos morfológicos previsibles, como si se produjeran cruzamientos interespecíficos entre las especies consideradas. Todo lo cual dificulta su identificación específica.
- 5. El tiempo que tardaron los clamidosporos en germinar fue de 6-25 días, fenómeno que varía con las procedencias dentro de cada especie, muchas muestras no germinaron del todo y otras en forma anormal y con aislados casos de lisis. T. caries germinó con mucha dificultad y escasamente, T. contraversa fácilmente entre los 6-15 días, la mayoría tardó sólo 6-10 días, lo que contrasta con el material de U.S.A. donde tarda 30-60 días y lo hace con mucha dificultad. Este hecho indica al material argentino representado por formas fisiológicas diferentes del de aquel país.
- 6. Por las características señaladas, por el número de conidios diferentes dentro de las especies o tipos de caries, evidencian la existencia de formas fisiológicas diferentes en la Argentina, distinguibles "in vitro".

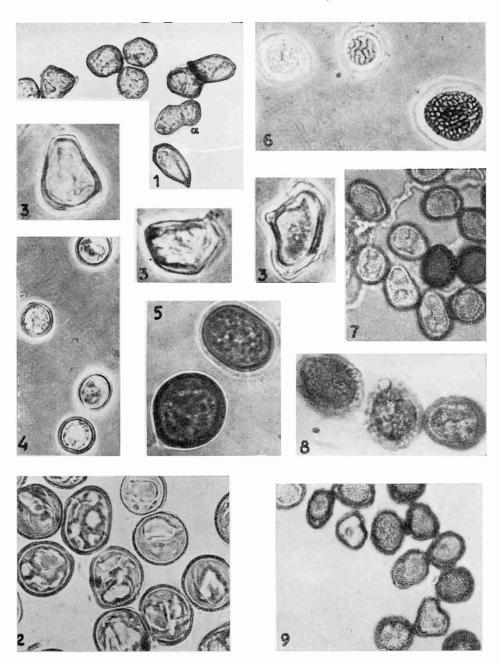
La naturaleza de la complejidad genética del material descripto, y el problema inmunológico correspondiente, están en estudio.

#### LITERATURA CITADA

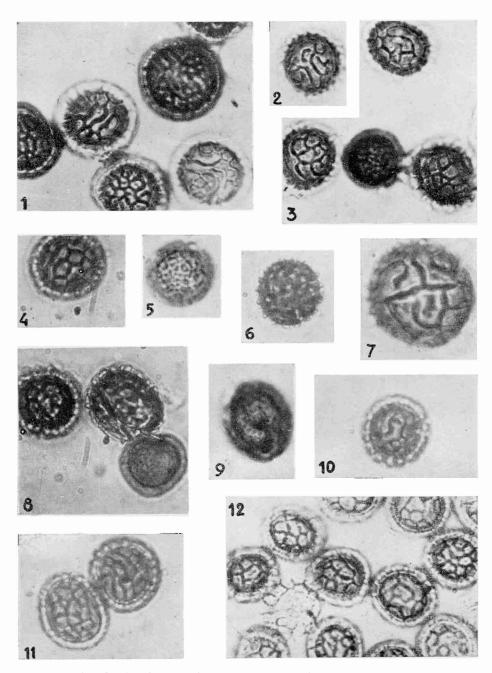
- 1. Auerswald. 1855. Rab. in Klotzsch, Herb. viv. Myc. Ed. I, no 1899 1.
- FISCHER, G. W. and HOLTON, CH. S. 1957. Biology and Control of the Smut fungi. — The Ronald Press Company. New York.
- FISCHER, G. W. and DURAN. 1961. The Genus Tilletia. Washington State College.
- FLOR, H. H. 1932. Heterothallism and hibridization in Tilletia tritici and T. levis. — Jour. of Agric. Res. 44:49.
- GASSNER, G. 1938. Autreten und Verbreitung von Tilletia tritici and T. foetens in der Turkei. Phytopath. Zeitschr. 11: 469-488.
- GRASSO, V. 1948. The species of Tilletia present on wheat in Italy. Rev. Appl. Myc. 27: 415 Abst.
- HANNA, W. F. 1932. The odor of bunt Spores. Phytopath. 19: 415-441.
- HIRSCHHORN, ELISA. 1941. Algunos caracteres de las "Tilletia" spp. que producen las caries del trigo en la Chacra Experimental "La Previsión". — Bol. Chacra Exp. La Previsión. T. III, nº 2: 105-109.
- 1953. Tipo de germinación de "Tilletia heremophila" Speg. Rev. Invest. Agríc. T. VII, nº 1: 70.
- HOLTON, CH. S. 1935. Studies on seven Differenciating characteristics of two physiologic formes of "Tilletia tritici". — Phytopath. 25: 1091.
- 1944. Inheritance of chlamydospore and sorus characters in species and race hidrids of "Tilletia caries" and "T. foetida". — Phytopath. 34: 586-552.
- 12. 1951. Methods and results of studies on heterothallism and hibridization in "Tilletia caries" and "T foetida". Phytopath. 41: 511-521.
- and Siang. 1953. Spore germination in "Tilletia asperifolia" a Species Unique to the Genus. Phytopath. 43 (4): 219.
- 14. 1953. Physiologic Specialization and Genetics of the Smut fungi. II.
   Bot. Review. 19 (4): 187.
- 15. 1954. Natural hibridization between common and Dwarf bunt as related to the problem of delimitation of species of "Tilletia" occurring on wheat. — (Abstr.) (Phytopath. 44: 493.
- 16 and Kendrick. 1956. Problems on the delimitation of Species of "Tilletia" occurring on wheat. — Research Sudies. State College of Washington. Vol. XXIV.
- 17. MITRA. 1931. Ann. Appl. Biol. 18: 178 1.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Según Fischer, G. W. and Durand, R. The Genus "Tilletia". Wash. State Univ. 1961.

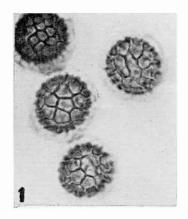
- 201
- NIEVES, R. 1933. Las caries o carbón hediondo del trigo. Bol. del Min. de Agric. 32: 397.
- 19. Hulea, Ana. 1948. The Species of "Tilletia" causing wheat bunt. Rev. Appl. Mycol. 27: 397.
- 20. RANOJEVIC. 1914. Ann. Mycol. 12: 398 1.
- 21. SAVULESCU. 1944. Phytopath. Zeitschr. 14: 168 1.
- and Hulea, Ana. 1948. New contributions to the study of wheat bunt. — Rev. of Appl. Myc. 27: 415.
- 1957. Ustilaginale deir. Republica Populora Romina. Edit. Acad. Rep. Popubl. Populare Romine.
- 24. THIRUMALACHAR. 1944. Mycologia. 36: 554.
- <sup>1</sup> Según Fischer, G. W. and Durand, R. The Genus "Tilletia". Wash. State Univ. 1961.

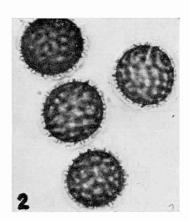


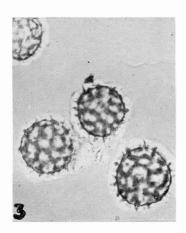
Microfotografías de clamidosporos de: 1, T. foelida, en a puede verse un clamidosporo sparentemente doble en el que no se formó tabique; 2. ejemplar tipo de la misma especie; 3, T. foelida tipo 1, clamidosporos con episporio muy engrosado; 4, clamidosporos de la misma especie en los que pueden verse prolongaciones hialinas (en forma de mamelón) provistos de envoltura hialina; en 5, los mismos clamidosporos vistos con más aumento: 6, ejemplares donde se encuentran mezclados, en un mismo grano carbonudo, clamidosporos de tipo cerebriforme, intermedia y de contraversa; 7, T. intermedia proveniente de La Pampa; 8, de la misma muestra con más aumento; 9, la misma especie, proveniente de Buenos Aires (Bolívar).

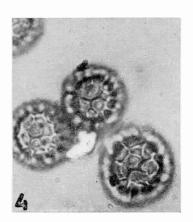


Microfotografías de clamidosporos de: 1, T. elymi, ejemplar tipo; 2 y 3, vista superficial del tipo cerebriforme perteneciente a T. contraversa, en 7, uno de estos clamidosporos vistos con más aumento (inmersión); 4, 5, 9, 10 y 11 diversos tipos que se encuentran dentro de un mismo grano carbonudo perteneciente a T. caries (vista superficial); en 6 y 8, vistos de perfil; 12, vista superficial de T. feontraversa, en los que pueden verse clamidosporos maduros hialinos o con envoltura hialina casi imperceptible.

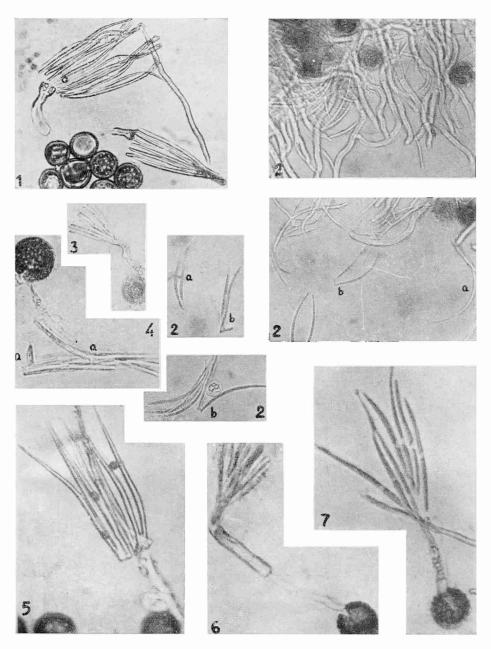




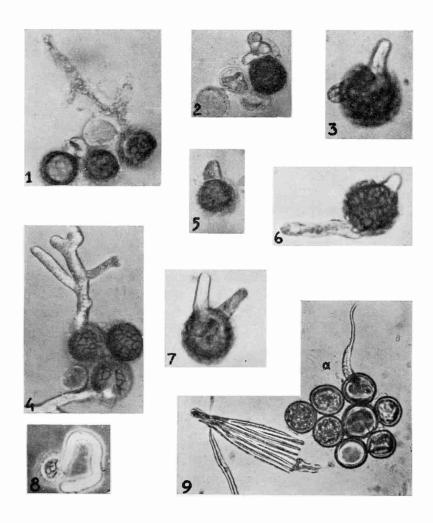




Microfotografías de clamidosporos de: 1, T. contraversa (vista superficial); 2, la misma especie vista de perfil (material proveniente de Balía Blanca); 3, ejemplar tipo de la misma especie (vista de perfil), en 4, vista superficial.



Microfotografías de clamidosporos germinados de: 1, T. foetida con 14 conidios primarios, sin fusión; 2, muestras provenientes de Barrow, con clamidosporos de T. contraversa y de tipo cerebriforme, en el que un  $50 \, ^{\circ}/_{\circ}$  produjo germinaciones atípicas y otras con conidios que se fusionaron en H (fig. a) o en U (fig. b); 3, de la misma procedencia sin fusión; 4, T. intermedia con fusiones triples (en a) de los conidios primarios; 5, T. foetida cuyos conidios están fusionados en U en la base; 6, T. intermedia tipo cerebriforme, en el que puede verse conidios de forma cilíndrica, muy característicos de este tipo; 7, T. intermedia conidios sin fusionarse.



Microfotografías de germinaciones anormales de: 1, T. contraversa con lisis; 2, 4 y 5, diversos tipos de germinaciones anormales de la misma especie; 3, 6 y 7, en V o bipolar; 8, tipo cerebriforme germinado en líquido de Shear; 9, T. foctida que produjo promicelios normales y otros que parece un conidio (en a) que se prolonga en micelio.