

MANCHA FOLIAR DE *MODIOLASTRUM AUSTRALE* (MALVACEAE), CAUSADA POR *CERCOSPORA GOSSYPINA* (HYPHOMYCETES).

Por FRED A ANDERSON Y ROLF DELHEY¹

Summary *Cercospora* leaf spot of *Modiolastrum australe* (Malvaceae), caused by *Cercospora gossypina* (Hyphomycetes). *Modiolastrum australe* Krapov., an endemic species of the south of Buenos Aires Province, Argentina, has been proposed as a plant suitable for lawns. Its only known disease, a leaf spot, is described and shown to be caused by *Cercospora gossypina* Cooke.

Through artificial inoculation, this fungus was found to infect not only *M. australe* but five other species within the Malvaceae. The disease was transmitted to seedlings of *M. australe* via plant debris. Seeds of this species were found to be free from *C. gossypina*; however, a high percentage of them was infested with the antagonistic fungus *Gliocladium roseum* Bain. (Hyphomycetes). *C. gossypina* has been found in all the populations of *M. australe* studied so far, and might affect the competitive and reproductive ability of this endemic species, although no imminent threat to its survival seems to exist. Care should be taken to avoid undue dissemination of the fungus if *M. australe* were used as a lawn species.

Key words: *Modiolastrum australe*; *Cercospora gossypina*; *Gliocladium roseum*; endemic plants; diseases.

INTRODUCCION

Modiolastrum australe Krapov. es una hierba perenne considerada rara por mucho tiempo, ya que sólo había sido coleccionada a orillas del río Sauce Grande, en el sur de la provincia de Buenos Aires (Krapovickas, 1957; 1965). Más tarde se observó que se trataba de una especie que crece espontáneamente en parques y jardines de la ciudad de Bahía Blanca (Anderson *et al.*, 1991).

Por su carácter siempre verde, la atractiva forma y disposición de su follaje, su escaso desarrollo en altura y resistencia al pisoteo, ha sido propuesta como especie para césped (Anderson *et al.*, 1991).

Todas las poblaciones encontradas hasta ahora están afectadas por una mancha foliar. Ante la posible incidencia de esta enfermedad sobre la supervivencia del endemismo y su valor ornamental, se realizaron estudios etiológicos y epidemiológicos.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento: El aislamiento del agente causal se hizo siguiendo los procedimientos de rutina, sobre agar papa glucosado (APG). Para lograr la esporulación se lo transfirió a agar avena, ya que ésta no tuvo lugar sobre APG. Ambos medios de

cultivo se prepararon según Dhingra y Sinclair (1985).

Germinación de microesclerocios: Los microesclerocios formados en medio de cultivo, fueron sometidos a pruebas de germinación luego de su almacenaje en seco por un período de diez meses, colocándoselos en agua sobre portaobjetos excavados y sobre APG, en cajas de Petri. Las pruebas se repitieron cumplidos los doce meses de almacenaje.

Pruebas de patogenicidad: Se realizaron sobre plantas sanas de *M. australe* obtenidas a partir de semillas, cultivadas en invernáculo. El inóculo se preparó, en algunos casos, mediante macerados de colonias esporuladas de diez días de antigüedad, que crecían sobre agar avena y, en otros, obteniendo una suspensión de esporas en agua destilada por sucesivos lavados de hojas infectadas, con esporulaciones del hongo sobre las manchas. Las siete plantas inoculadas y las tres testigo (sin inocular) se mantuvieron en cámara húmeda por períodos de una a dos semanas de duración.

Pruebas de especificidad: Se realizaron inoculaciones artificiales sobre otras malváceas nativas de las provincias fitogeográficas Pampeana y del Espinal, a fin de estudiar el rango de hospedantes de este patógeno. Con una suspensión de esporas en agua destilada (concentración: 18.750 esporas/ml.) se inocularon plantas sanas de *M. australe* (cuatro plantas); *Modiola caroliniana* (L.) G. Don (ocho); *Sphaeralcea australis* Speg. (dos); *S. bonariensis* (Cav.)

¹Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Altos de Palihue, 8000, Bahía Blanca, Argentina.

Tabla 1. Presencia de *Cercospora gossypina* y *Gliocladium roseum* en semillas de *Modiolastrum australe*. Número de semillas infestadas/ número de semillas probadas.

SUSTRATO	TRATAMIENTO PRE-INCUBACIÓN	LUZ CONTINUA		12 hs LUZ / 12 hs OSCURIDAD	
		<i>C. gossypina</i>	<i>G. roseum</i>	<i>C. gossypina</i>	<i>G. roseum</i>
Papel de filtro	ninguno	0/100	36/100	0/100	25/100
	lavado	0/50	7/50	0/50	12/50
	desinfección	0/50	18/50	0/50	5/50
Agar agua + sulfato de estreptomina	ninguno	0/100	79/100	0/100	14/100
	lavado	0/50	4/50	0/50	18/50
	desinfección	0/50	32/50	0/50	3/50

Griseb. (dos); *S. crispa* Baker (dos) y *S. mendocina* Phil. (dos). Las plantas se mantuvieron en cámara húmeda en el invernáculo hasta la aparición de los síntomas (15-20 días).

Transmisión del hongo por semilla: Se utilizaron semillas coleccionadas de plantas infectadas naturalmente con el hongo. Una parte fue lavada bajo agua corriente por una hora; otra desinfectada con hipoclorito de sodio (1%) por un minuto y enjuagada con agua estéril; una tercera parte no recibió tratamiento alguno (Tabla 1). Posteriormente fueron sembradas en cajas de Petri e incubadas por 10 días a 25°C bajo luz continua o con fotoperíodo controlado: 12 horas luz/oscuridad (Kulik, 1981). Al cabo del período de incubación, se observaron las colonias desarrolladas a fin de establecer la presencia de *Cercospora gossypina* Cooke.

Transmisión por restos vegetales: Se utilizaron 124 semillas coleccionadas a partir de plantas sanas cultivadas en invernáculo. Las semillas se escarificaron (Anderson *et al.*, 1991) y se pusieron a germinar en cámara húmeda. Una vez germinadas se sembraron en macetas. Se coleccionaron hojas de plantas infectadas y se las dejó secar por 15 días, al cabo de los cuales se las picó y esparció sobre la superficie de las macetas sembradas. Se observaron las plántulas desarrolladas para establecer la presencia de síntomas de la enfermedad.

DESCRIPCION DEL PATOGENO

Cercospora gossypina Cooke, *Grevillea*, 12: 31, 1883. Figura 1 (A-G).

Teleomorfo: *Mycosphaerella gossypina* (Atk.) Earle, *Bull. Alaska agric. Exp. Stn. Bull.*, 107: 309, 1900; *Sphaerella gossypina* Atk., *Bull. Torrey bot. Club*, 18: 300, 1891.

Manchas foliares necróticas, color pardo claro, aisladas, frecuentemente angulosas, limitadas por

las nervaduras, a veces rodeadas por un área clorótica (Figura 1, A).

Conidióforos libres anfígenos, fasciculados (Figura 1, B), sobre estromas basales de 1 - 3 células de espesor, castaño oscuros, algo más claros en el ápice, septados, no ramificados, generalmente rectos, geniculados, lisos, con cicatrices conspicuas, 37,5 - 156 x 3 - 6 µm sobre tejido infectado (Figura 1, C); 175 - 585 µm de largo en medio de cultivo.

Conidios solitarios, hialinos, aciculares, con extremos basales truncados y apicales aguzados, rectos o curvos, 5 - 24 septados, 56 - 234 x 3 - 6 µm sobre tejido (Figura 1, D y E); 2 - 15 septados, 65 - 262 x 4,5 - 6 µm en medio de cultivo.

Sobre APG forma colonias aterciopeladas, de color verde oscuro al principio del desarrollo. Con el tiempo algunos sectores se tornan blanco-rosados, y se observan anillos concéntricos de crecimiento. El micelio joven es de color verde oliváceo claro; al envejecer se torna castaño oscuro.

Produce abundantes células hifales anormales intercalares (o a veces terminales), de pared engrosada (ca. 1.5 µm), con un diámetro mayor que las normales (8 - 13 x 5 - 10 µm) (Figura 1, F y G). Forma además conglomerados muy apretados de hifas que dan lugar a microesclerocios. No esporula sobre este medio de cultivo pero sobre agar avena se observaron conidióforos y conidios, transcurridos siete días de realizado el repique, a partir de aislamientos recientes.

Distribución geográfica: Africa, Asia, Australia, América del Norte y América del Sur. (Little, 1987).

Material examinado: ARGENTINA: Provincia de Buenos Aires: Ptdo. Bahía Blanca, patio UNS, IV/1987, Delhey y Anderson, 124; Ptdo. Cnel. Rosales, a orillas del río Sauce Grande, sobre la ruta nacional N° 3 (*locus typicus* de *M. australe*), XII/1987, Delhey; intersección del río Sauce Grande con el camino a La Soberana, III/1988, Delhey, 309. Los especímenes se encuentran depositados en el

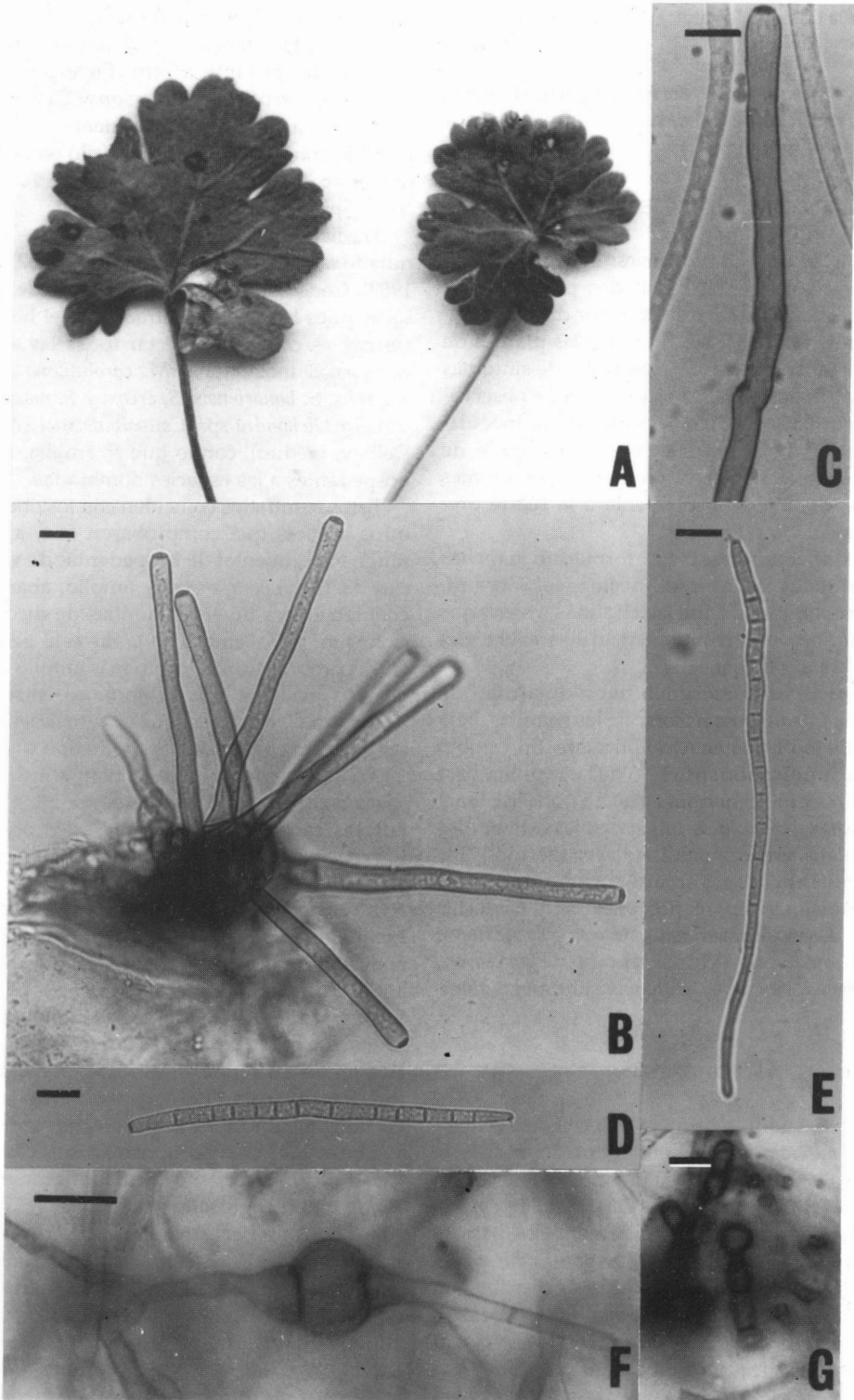


Fig. 1. A, Manchas foliares necróticas sobre *M. australe*, x2; B-G, *C. gossypina*: B, conidióforos fasciculados; C, detalle del extremo de un conidióforo; D y E, conidios; F y G, células hifales engrosadas. Barra: 10 μ m.

herbario de la Cátedra de Patología Vegetal de la Universidad Nacional del Sur.

El hongo fue reaislado en APG a partir de hojas infectadas artificialmente, dándose cumplimiento a los postulados de Koch.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Germinación de microesclerocios: Los ensayos de germinación sólo dieron resultados positivos con los microesclerocios almacenados por diez meses.

Pruebas de patogenicidad: En todas las plantas de *M. australe* inoculadas hubo desarrollo de síntomas similares a los descritos. Los primeros se observaron transcurridos 13 días de realizada la inoculación. Aquellas hojas inoculadas con macerado de micelio y esporas se marchitaron y cayeron un mes más tarde, debido probablemente a la fuerte presión de inóculo.

Pruebas de especificidad: Se formaron manchas foliares en todas las especies inoculadas. Sobre *M. australe* la enfermedad fue mucho más severa que en el resto, con desarrollo de manchas sobre casi todas las hojas.

Transmisión por semilla: No hubo desarrollo de colonias de *C. gossypina* a partir de las semillas, bajo ninguno de los tratamientos aplicados. En cambio hubo un alto porcentaje (en 44 % de las semillas bajo luz continua y en 19 % de las bajo 12 horas de luz y 12 de oscuridad; Tabla 1) de desarrollo de colonias de *Gliocladium roseum* Bain. (*Hyphomycetes*).

Transmisión por restos vegetales: Hubo formación de manchas sobre los cotiledones de tres de las plántulas desarrolladas. Estas fueron colocadas en cámara húmeda por 48 horas, al cabo de las cuales, las fructificaciones de *C. gossypina* cubrían las manchas.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Se describe aquí la primera enfermedad conocida de *M. australe*, especie endémica del sur de la provincia de Buenos Aires, identificándose como agente causal de la misma a *Cercospora gossypina*. Este hongo ha sido citado recientemente para el Noroeste Argentino sobre *Gossypium hirsutum* (Resnik, 1995). Se amplía entonces su distribución geográfica, incluyendo la zona sur de la provincia de Buenos Aires.

Las características morfológicas y morfométricas del agente causal coinciden con las señaladas para *C. gossypina* (Chupp, 1953; Ellis, 1976; Little, 1987), pero los conidios del hongo aislado de *M. australe* son algo más largos y anchos. De cualquier manera estos valores, dentro de ciertos límites, son poco

relevantes, ya que varían de acuerdo con el sustrato (tejido infectado o cultivo artificial; ver Descripción) y de un hospedante a otro. En experimentos de inoculación artificial (Anderson y Delhey, inédito) un mismo aislamiento proveniente de *M. australe* produjo conidios cuyo largo osciló entre 54 - 178,5 μm sobre *Modiola caroliniana* y entre 138 - 344 μm sobre *Sphaeralcea bonariensis*.

Tradicionalmente, *C. gossypina* aparece como limitado al género *Gossypium* (Little, 1987; Farr *et al.*, 1989). Consideramos que este criterio debe ser revisado, pues hemos demostrado que el hongo de *M. australe* es capaz de infectar todas las especies de malváceas inoculadas (*M. caroliniana*; *Sphaeralcea australis*; *S. bonariensis*; *S. crispa* y *S. mendocina*), así como a *Dichondra* sp. (*Convolvulaceae*) (Anderson y Delhey, inédito), con lo que se amplía el rango de hospedantes a las especies nombradas.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores que comprobaron que, al menos el rango experimental de hospedantes de varias especies de *Cercospora*, es muy amplio, abarcando frecuentemente a diversas familias de dicotiledóneas (Johnson y Valteau, 1949). En este sentido Ellis (1971) propone un concepto más amplio de especie, citando una larga lista de binomios, entre los que se encuentra *C. gossypina*, que eventualmente podrían ser sinonimizados con la especie tipo *C. apii* Fres..

En medio de cultivo, el hongo aislado de *M. australe* produce microesclerocios. Ninguno de los autores consultados menciona estos órganos para *C. gossypina* pero sí, en cambio, han sido nombrados para otras especies de *Cercospora*, por ejemplo *C. beticola* Sacc., en referencia al tejido estromático sobre el que, eventualmente, se forman más tarde los conidióforos. Se los interpreta como un medio de supervivencia del hongo en el suelo (Hoffmann y Schmutterer, 1983). De acuerdo con nuestros resultados, los microesclerocios sobreviven durante varios meses en condiciones secas, por lo que puede inferirse que cumplirían un papel en la supervivencia del patógeno en el suelo y sobre restos vegetales y, por lo tanto, en su transmisión y disseminación. Una función semejante podría atribuirse a las células de pared engrosada observadas.

Aunque no existe evidencia experimental, puede asumirse que la disseminación horizontal en una población ocurre por medio de conidios, llevados por el viento, la lluvia y el riego por aspersión, como está documentado para otras especies de *Cercospora* (Hoffmann y Schmutterer, 1983).

M. australe se propaga vegetativamente a través de pequeños trozos de tallo (Anderson *et al.*, 1991). Puede inferirse que estos propágulos cumplirían un rol importante en la propagación y disseminación de la enfermedad.

En el ensayo de transmisión por restos, se trató de simular lo que ocurre en la naturaleza: una capa más o menos espesa de restos vegetales queda retenida por los tallos rastreros, radicantes en los nudos. Cuando los frutos maduran, el pedúnculo se tuerce hacia abajo (Krapovickas, 1965), dejando las semillas en contacto con el suelo y los restos. En esas condiciones se demostró que la enfermedad se transmite a las plántulas que emergen entre los restos. No se sabe cuál es la forma de inóculo que actúa en estos casos, pero se puede asumir que se trataría de los microsclerocios descritos o bien de conidios que hayan conservado su viabilidad.

De acuerdo con nuestros resultados, *C. gossypina* no se transmite a través de la semilla de *M. australe*. Richardson (1979) no menciona a *C. gossypina* entre los patógenos transmitidos por semilla de algodón, pero de acuerdo con Wahid *et al.* (1994), este hongo estaría asociado con semillas de este cultivo en Pakistán.

Se encontró que un alto porcentaje de semillas de *M. australe* estaba infestado con el hongo de suelo *G. roseum*, una especie cosmopolita citada para la Argentina por Franz (1975). Tratándose de un hongo antagonista y micoparásito muy destructivo (Domsch *et al.*, 1980; Cook y Baker, 1983; Sutton *et al.*, 1997), se puede especular que su asociación con las semillas de *M. australe*, le confiere a éstas protección contra otros hongos, como *C. gossypina*. Ensayos con semillas provenientes de otras poblaciones, eventualmente libres de *G. roseum*, aportarían información valiosa sobre este aspecto.

Resulta difícil explicar por qué *C. gossypina* ha estado presente en todas las poblaciones de *M. australe* estudiadas, tanto en ambientes naturales como en situaciones de fuerte disturbio antrópico (parques y jardines). En este sentido cabe recordar que *C. gossypina* no es un hongo muy especializado en cuanto a sus hospedantes, sino que puede infectar a otras especies de malváceas y aún a especies de otras familias (Anderson y Delhey, inédito), que pueden constituirse entonces en eventuales fuentes de inóculo.

Esto último adquiere singular importancia desde el punto de vista de la conservación de la especie, ya que si bien no se han observado en el campo infecciones tan severas que parezcan poner en riesgo la supervivencia de *M. australe*, no debe desestimarse que el patógeno podría eventualmente multiplicarse sobre otros hospedantes susceptibles -como las ya citadas *Modiola caroliniana* y *Dichondra* sp.- que comparten su hábitat en parques y jardines de la ciudad de Bahía Blanca, ejerciendo así una presión de inóculo mayor, dadas condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad.

La caída de hojas observada en los ensayos de inoculación artificial podría atribuirse a una presión de inóculo muy fuerte. Plantas sometidas a sucesivas defoliaciones, se verían debilitadas y sufrirían con el tiempo una disminución en su capacidad reproductiva y competitiva.

Por último, en el caso de que *M. australe* fuese utilizada como planta para césped, debería impedirse que el patógeno fuera llevado al sitio de implantación. En este sentido la reproducción por semilla parecería una forma segura de propagación.

AGRADECIMIENTOS

A Virginia Bianchinotti, Carlos Villamil y Sergio Zalba por sus comentarios y sugerencias y a Mirta Kiehr por su apoyo en los trabajos micológicos.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, F., C. B. VILLAMIL & R. DELHEY. 1991. Aportes al conocimiento de *Modiolastrum australe* (Malvaceae), especie endémica de la región de Bahía Blanca. *Resúmenes X Reunión de CAPERAS*: 79.
- CHUPP, CH. 1953. *A Monograph of the Fungus Genus Cercospora*. Ithaca.
- COOK, R. J. & K. F. BAKER. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. APS. St. Paul.
- DHINGRA, O. & J. L. SINCLAIR. 1985. *Basic Plant Pathology Methods*. CRC Press. Boca Raton.
- DOMSCH, K. H., W. GAMS & T. H. ANDERSON. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Vol 1. Academic Press. London.
- ELLIS, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. CMI. Kew.
- 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. CMI. Kew.
- FARR, D. F., G. F. BILLS, G. P. CHAMURIS & A. Y. ROSSMAN. 1989. *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*. APS. St. Paul.
- FRANZ, G. 1975. Temperaturansprueche mikroskopischer Bodenpilze aus klimatisch und geographisch verschiedenen Standorten. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkde.* 1975 (1): 73-87.
- HOFFMANN, G. M. & H. SCHMUTTERER. 1983. *Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen*. Ulmer, Stuttgart.
- JOHNSON, E. M. & W. D. VALLEAU. 1949. Synonymy in some common species of *Cercospora*. *Phytopathology*. 39: 763-770.
- KRAPOVICKAS, A. 1957. Notas sobre Malváceas II. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 7: 37-41.
- 1965. *Malvaceae*. En: A. L. Cabrera. *Flora de la Provincia de Buenos Aires*, parte IV. INTA. Buenos Aires. Pp:169-220.
- KULIK, M. M. 1981. Soybean purple seed stain. *ISTA Handbook on Seed Health Testing*. Working sheet N° 34.
- LITTLE, S. 1987. *Cercospora gossypina*. *CMI Descript. Pathog. Fungi and Bact.* 92 (914).
- RESNIK, F. C. Z. de. 1995. *Lista de Microorganismos Fitopatógenos Citados para Nuestros Cultivos*. República

Argentina. Mimeografiado.

RICHARDSON, M. J. 1979. *An Annotated List of Seed-borne Diseases*. ISTA. Zürich.

SUTTON, J. C., D.-W. LI, G. PENG, H. YU, P. ZHANG & R. M. VALDEBENITO-SANHUEZA. 1997. *Gliocladium roseum*. A versatile adversary of *Botrytis cinerea* in

crops. *Plant Disease*. 81:316-328.

WAHID, A., M. S. JAVED, A. H. TARIQ & M. IDREES. 1994. Fungi associated with seed of different cotton varieties grown in the Punjab and their control. *Pakistan J. Phytopathol.* 6:97-102. [CAB Abstracts, AN: 950704624. 1995].