

COMPORTAMIENTO NUCLEAR DE *USTILAGO UTRICULOSA*  
NEES., DURANTE LA GERMINACION DE LOS  
CLAMIDOSPOROS

ELIÑA HIRSCHHORN (1)

*Ustilago utriculosa* Nees., fue descrito por Tulasne (2), en base a *Caeoma utriculosa* Nees (3), sobre *Polygonum* sp. de Europa. Para la Argentina fue citado por Spegazzini (4) en 1902 y estudiado por la autora en 1939 (5). Es una especie cosmopolita que desarrolla sobre más de doce especies de *Polygonum*. Se encuentra comúnmente sobre plantas que crecen en zonas bajas e inundables. El material estudiado procede de Tucumán y Corrientes.

CARACTERES:

Ataca las inflorescencias; desarrolla a expensas de los ovarios e impide la formación de las semillas. En la mayor parte de las inflorescencias afectadas, casi todas las flores son reemplazadas por el hongo, distinguiéndose fácilmente, durante la madurez, por el color violado intenso que adquieren. Los demás órganos de las plantas parasitadas, desarrollan normalmente aún en casos de ataque severo.

Soros rojizos, ferruginosos o violados, globosos, ligeramente ovalados o irregulares, de 1-2 mm diám., constituidos por una masa clamidospórica violado-ferruginosa, cubierta por una membrana tenue (pared del ovario) que se rompe fácilmente durante la madurez.

(1) Técnica del Inst. de Patología Vegetal. I.N.T.A., Castelar.

(2) Tulasne, 1847, Ann. Sc. Nat. Bot., Ser. 3.

(3) Neesl. 1817, Syst. pilze. 1:14.

(4) Spegazzini, C., 1902. Myc. Arg., An. Mus. Nac. Bs. As., Ser. 3,1:58.

(5) Hirschhorn, E. 1939. Las especies del género *Ustilago* en la Argentina Darwiniana 3:347-418.

Clamidosporos violado-parduseos, globosos o muy ligeramente irregulares; de 6-12 micrones diámetro (media 7-8 micrones); episporio provisto de prominentes y delgadas reticulaciones aladas.

#### GERMINACIÓN DE LOS CLAMIDOSPOROS:

Después que Brefeld <sup>(6)</sup> describió, en 1895, la germinación de los clamidosporos, en material proveniente de Europa, fue estudiado por otros micólogos, entre ellos Mac Alpine <sup>(7)</sup> sobre ejemplares de Australia (1910) y Fischer y Hirschhorn <sup>(8)</sup> sobre ejemplares de U. S. América. A pesar de ello, he considerado interesante incluir la descripción de tales caracteres en material argentino; al estudiar el proceso del comportamiento nuclear durante los diversos estadios de germinación de los clamidosporos.

Clamidosporos recientemente madurados germinan normalmente en agua destilada y en agar papa glucosado al 2 %, a 23-29° C, produciendo promicelios 4-celulares, con una esporidia en cada cédula o, en su defecto, y con menor frecuencia, fusiones entre células anexas del tipo que describiré más adelante, originando hifas de infección y esporidias, en lugar de esporidias únicamente como ha sido señalado por los autores mencionados.

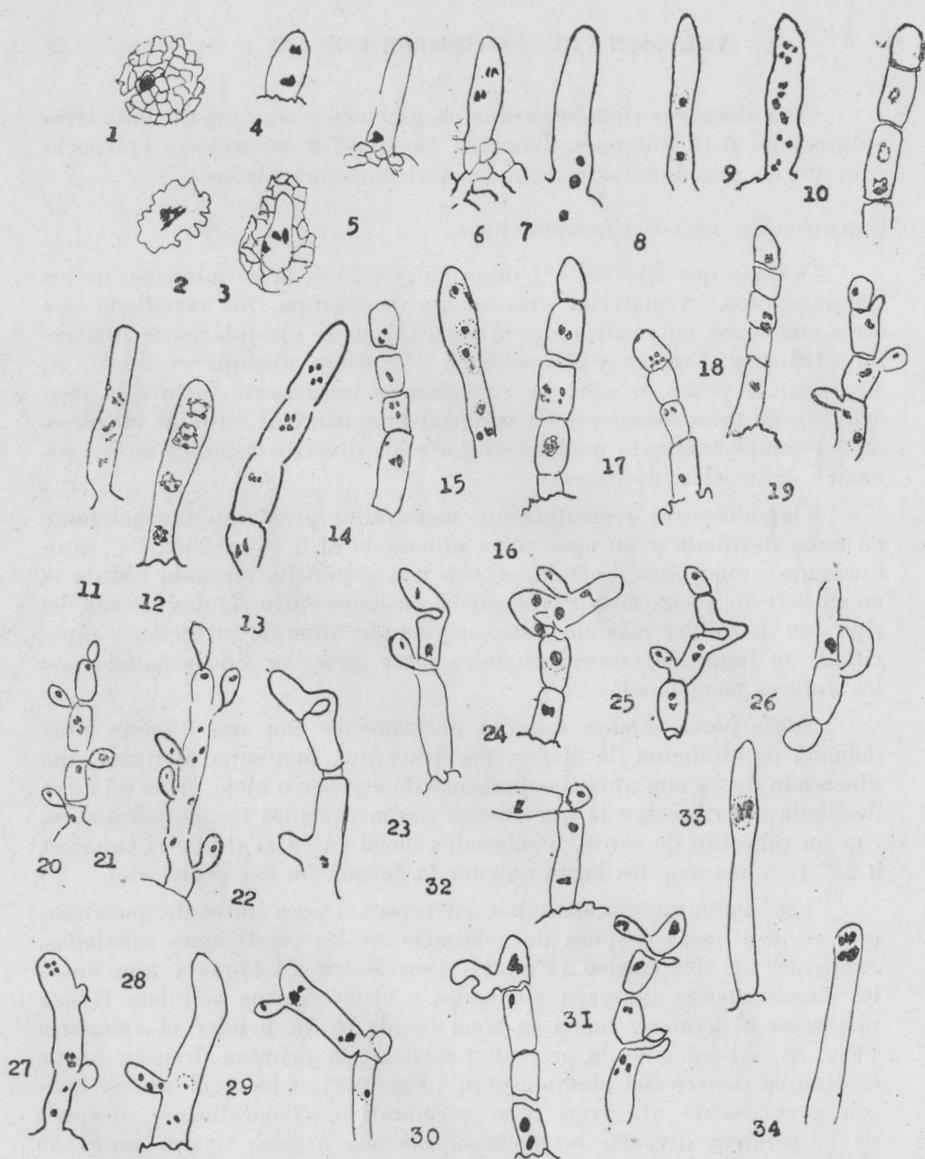
Sobre porta-objetos, untados previamente con una lámina muy delgada de albúmina de Meyer, fue extendida una capa de agar papa glucosado de ½ mm aproximadamente de espesor o bien, gotas de agua destilada estéril, sobre la que fueron desparramados los clamidosporos, con un pincelito de cerda, y colocados luego en cajas de Petri tapadas, a 25° C, y mantenidos hasta obtener la formación del promicelio.

Los clamidosporos maduros, en reposo o poco antes de germinar, esto es, 6-8 horas después de colocadas en las condiciones señaladas, contienen un sólo núcleo (Fig. 1). Después de 24 horas y aún antes los clamidosporos aparecen hinchados y el citoplasma adquiere figura piriforme al avanzar hacia la zona donde se va hender el episporio (Fig. 3). Al iniciarse la actividad nuclear, la primera división puede efectuarse dentro del clamidosporo (Fig. 2-3) o bien, el núcleo emigra previamente al joven tubo germinativo. Generalmente, después de la primera división intra-clamidosporica o poco tiempo antes de dividirse, el episporio se hiende, emitiendo un pequeño tubo hialino hacia el que emigra él o los núcleos (Figs. 4-8, 33-34). La figura 2

<sup>(6)</sup> Brefeld, O. 1895. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mycologie 12, Hemibasidii. Die Brandpilze 3, IV 37. Münster.

<sup>(7)</sup> Mc Alpine, 1910. The smuts of Australia. Melbourne J. Kemp, Government Printer.

<sup>(8)</sup> Fischer C. W. y Hirschhorn E. 1945. The Ustilaginales or Smuts of Washington. State Coll. of Washington, Agric. Exp. Stat. Dull. Nº 459.



*Ustilago utriculosa*. Comportamiento nuclear durante la germinación de los clamidosporos. Figs.: 1, Clamidosporos con un solo núcleo; 2-3, primera división nuclear dentro del clamidosporo; 4-8 estadios jóvenes de formación promicelial con dos núcleos emigrados del clamidosporo; 8, 10, 12, 15, núcleos en reposo; 9, 11, anafase segunda; esbozos de formación de tabiques intercelulares; 14-16, tercera división nuclear y formación de los tabiques que dan lugar a la formación de las cuatro células del promicelio; 18-21, formación de esporidias con un núcleo en cada una; 22-25, "Knee Connection"; 26, conexiones en "he-billa"; 27, 30, ramificaciones del promicelio con variable número de núcleos; 31, esporidias con tendencia a fusionarse; 33 y 34 metafase y anafase primera en tubos jóvenes.

presenta un núcleo dentro del clamidosporo, en metafase tardía o en comienzo de anafase reduccional. Los elementos cromáticos del núcleo tienen, en este caso, la apariencia de cromosomas en estado anafásico joven. Después de formado el tubo germinativo, no aparecen núcleos dentro de los clamidosporos, lo cual confirma mi afirmación de que, éste o éstos emigran al tubo durante el proceso germinativo, en el que sufren una segunda división (figs. 4 y 6). Después de esta segunda división, siguen estadios de reposo o de interfase (fig. 8), a los cuales sucede una tercera o cuarta división, con la producción de 8 núcleos en cada promicelio. En las figuras 9 y 11, pueden verse núcleos con estadios semejantes a anafase, con cromosomas orientados, unos regularmente y otros distribuidos en forma irregular. Mientras estos cuerpos cromáticos se van separando, se insinúan pequeñas estrangulaciones en las paredes del promicelio (Fig. 13), en las que comienzan a formarse los tabiques transversales del promicelio que originarán las células uninucleares. A veces dicho proceso se cumple previo un período de reposo nuclear (Figs. 12, 15), después del cual los núcleos sufren una nueva división, aparentemente mitótica (Figs. 14 y 16) en la que se duplican los elementos cromáticos, originando los núcleos que van a penetrar uno en cada esporidia.

En otras especies de *Ustilago* no se ha observado períodos de interfase tan netos como los que se observó en esta especie (Figs. 10, 12 y 15), ni tampoco unidades cromáticas, integrantes de los núcleos, tan bien definidos, con la apariencia de verdaderos cromosomas, aunque las diversas fases observadas se presentaron poco claras, por lo que resultó difícil contar exactamente el número de cromosomas o de elementos cromáticos que integran cada núcleo y diferenciar la división meiótica de la mitótica.

En general, la tercera y cuarta división nuclear tiene apariencia de división mitótica, con dos cromosomas en cada núcleo. Las figuras 18-21, ilustran dichos estadios.

Las esporidias, al madurar, se van estrechando en la base hasta quedar separadas de las células promiceliales. Entonces, si el material se encuentra en condiciones adecuadas, los núcleos intracelulares del promicelio vuelven a dividirse y emigran a nuevas esporidias que brotan simultáneamente. Este es el tipo de comportamiento nuclear más común durante la formación del promicelio. Se presentan, sin embargo, otros tipos de germinaciones menos comunes, como ser: entre células contiguas del promicelio se forman "knee connection", conexiones en rodilla, mediante prolongaciones citoplasmáticas, por las que se desplazan los núcleos que emigran hacia hifas que van creciendo, recibiendo cada hifa de infección resultante, dos núcleos en diversas fases de migración (Figs. 22-25). Es frecuente encontrar simultáneamente esporidias uninucleadas (Fig. 24) con estos tipos de

germinación. En tales casos, los núcleos presentan estadios semejantes a interfases, difícilmente coloreables con hematoxilina férrica.

Otros casos diferentes, son los ilustrados por las figuras 27-30, donde, en ciertas células se produce una evaginación por la que avanza el citoplasma con uno o más núcleos. Estas evaginaciones son precedidas por la división nuclear, pues en ningún caso fue dado observar que este se realiza a "posteriori" (Fig. 27). Se presentaron además otros, como los ilustrados en la figura 31, la que representa dos esporidias, una de ellas alargada en dirección a la célula vecina, como para fusionarse con ella. No fue observado, "in vitro", fusiones entre esporidias separadas del promicelio.

#### RESUMEN

1. En el proceso germinativo y nuclear de *U. utriculosa*, los clamidosporos germinan con facilidad, emitiendo promicelios 2, 3, 4 o raramente 5 celulares, con formación de una esporidia en cada célula, o bien tubos o promicelios bicelulares sobre los cuales tienen origen hifas de infección entre células contiguas, mediante "knee connections" (conexiones en forma de rodilla).

2. Los clamidosporos son uninucleados con  $2n = 4$  ó  $6$  cromosomas ?

3. La primera división nuclear se produce dentro de los clamidosporos o bien en el joven tubo promicelial, avanzando hacia el ápice donde tiene lugar la primera división reductora?. Cuando la primera división mitótica ? tiene lugar en el clamidosporo, dos núcleos emigran al tubo germinativo, donde se completa la segunda y tercera división hasta formarse el promicelio tabicado con un núcleo en cada célula. Al dividirse cada uno de estos núcleos, uno penetra dentro de la esporidia correspondiente, y el otro queda en la célula.

4. Excepcionalmente se forman hifas de infección entre células contiguas del promicelio, con núcleos provenientes uno de cada una de las células que intervienen en su formación.

5. Aunque no aparece en forma concluyente cuál es la constitución del genomio, las figuras adjuntas ilustran de que estamos en presencia de una especie, probablemente, con dos o tres pares de cromosomas. Su nitidez, durante el proceso, es más acentuada que en la mayoría de las Ustilaginíneas estudiadas, distinguiéndose grupos cromáticos dentro de cada núcleo, con estadios de división muy semejantes a metafase, anafase, telofase e interfase que no alcanzan la claridad señalada en otros *micromicetos* o plantas superiores, por lo que los términos utilizados en el presente trabajo se usen con cierta reserva.