

NOVEDADES SOBRE EL CARBON QUE ATACA BROMUS SPP. EN LA ARGENTINA

POR ELISA HIRSCHHORN¹

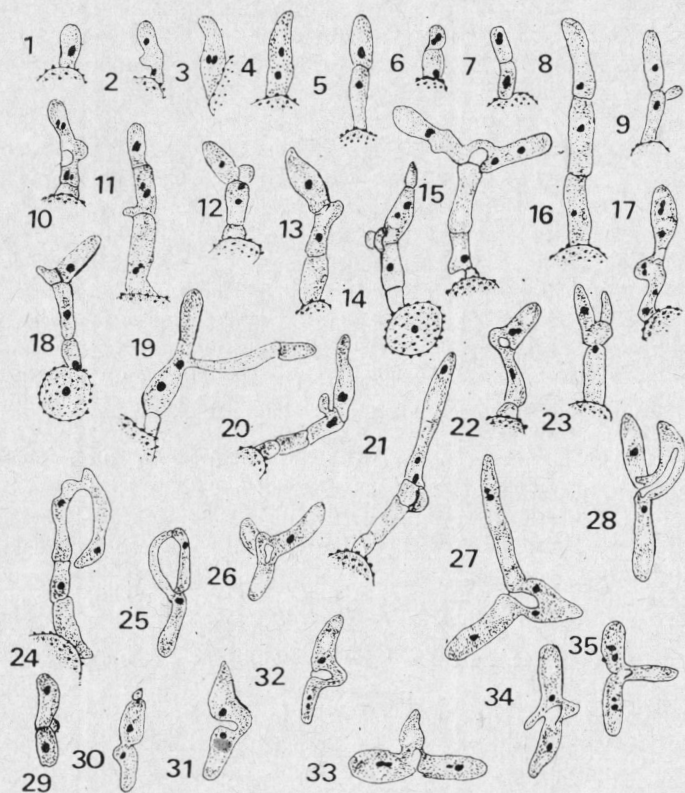
SUMMARY

This paper deals with a study of smut of *Bromus* spp., with a description of the typical features of *Ustilago bullata*, data on its life-cycle and the characteristics of some chlamydosporic types on *Bromus* spp. so far unknown.

Entre las forrajeras de mayor importancia económica en nuestro país se encuentra *Bromus* spp., cuya producción de semilla se ve frecuentemente limitada, debido a intensos ataques de *Ustilago bullata* Berk. Este parásito se encuentra difundido en casi todo el país con grado de ataque variable según los años, hospedantes y regiones. Tal situación es común a otros países donde *Bromus* representa un valor forrajero importante. Pero en las naciones altamente desarrolladas se superó el problema aplicando métodos de lucha adecuados, mediante la obtención de líneas o cultivares de *Bromus* resistentes. Merecen destacarse en este sentido, los trabajos realizados por Fischer (1937, 1940) y Fischer y Holton (1957) en los Estados Unidos, quienes verificaron (Fischer, 1940) experimentalmente la existencia de formas fisiológicas, de genes de resistencia y la capacidad de *U. bullata* de cruzarse con *U. hordei* de la cebada (Fischer y Holton, 1957). En nuestro país, Hirschhorn (1941) verificó que existe una diversificación morfológica y de tipos de germinación de los clamidosporos relacionados con diversos ejemplares, que consideró como probables representantes de formas diferentes, cuya confirmación experimental falta, pues la tarea que se realiza en algunas Estaciones Experimentales del INTA sobre mejoramiento forrajero de los *Bromus* está basada tomando en cuenta el comportamiento a infecciones espontáneas, sin considerar las características del agente patógeno.

¹ Técnica del INTA, CICA, destacada en el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Llavallol, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

En un estudio, que se encuentra en preparación, sobre Ustilaginales argentinas, he vuelto a estudiar el carbón de los *Bromus* sobre mayor cantidad de muestras y de muestras provenientes de regiones ecológicas no estudiadas previamente. El resultado de tales estudios constituye el contenido de la presente nota, en la que con la descripción de los caracteres típicos de *U. bullata*, consigno algunos relacionados con su ciclo evolutivo, y doy a conocer las características de algunos tipos clamidospóricos desconocidos hasta el presente, sobre *Bromus* spp.



Lám. 1.—Caracteres germinativos de *Ustilago bullata*. Figs. 1-4, 6: Primeros estadios germinativos de los clamidosporos; Figs. 7 y 9: Promicelios con 1-3 tabiques transversales; Figs. 10, 12-13, 18 y 22: Ilustran diversos estadios de plasmogamia entre células contiguas de los promicelios (fusiones en codo y rodilla [knee connections]); Figs. 19, 24 y 25: Fusiones en hebilla; Figs. 10, 12-16, 21, 22, 23-26 y 28: Diversos estadios de hifas en formación. En las mismas figuras se ilustra diversos estadios de la división nuclear hasta la formación de las hifas de infección en las que penetra un núcleo de cada una de las células que las forman.

Ustilago bullata Berkeley, Flora of New Zealand 2: 196. 1875.
Hirschhorn, E., 1939. Las especies del género *Ustilago* en la Argentina. Darwiniana 3: 347-418.

Ataca las inflorescencias y se desarrolla a expensas de los ovarios y, en casos de ataques muy severos, en condiciones óptimas para el parásito, son atacados los limbos y las glumas. Los soros inmaduros son globosos, recubiertos por una tenue membrana algo grisácea (restos del ovario), que se desgarran muy fácilmente, dejando en libertad la masa clamidospórica pulverulenta, castaño muy oscura, que se dispersa muy fácilmente en la madurez. A veces, esta masa es algo compacta en la base de los soros, debido probablemente a factores ambientales adversos. Los soros ubicados en las glumas y vainas son alargados o en estrías, carácter que los hace semejantes, macroscópicamente, a *Ustilago striiformis*.

Clamidosporos castaño oliváceos con matices variables, a más claros o más oscuros; globosos, subglobosos o ligeramente irregulares; 6-12 μ diám., predominando los de 7-10 μ ; episporio equinulado o algo verrugoso, a veces con la ornamentación más profusa en la región ecuatorial, lo que le confiere aspecto de banda.

Hospedante tipo y localidad del mismo: sobre *Triticum scabrum* Racul de Antártida (según Zundel, 1953, p. 147).

Hospedante de la Argentina y su distribución geográfica: ataca la casi totalidad de las especies de *Bromus* que crecen espontáneamente en el país. Muy raras veces se encuentra *Hordeum murinum* atacado por esta especie en la provincia de La Pampa y, a veces, en la de Neuquén.

Según Zundel (op. cit., p. 145), el carbón que ataca las especies de *Bromus* corresponde a *Ustilago bromivora* (Tul.) Fisch. de Waldh.* el que ataca *Triticum scabrum* corresponde a *U. bullata*. Sin embargo de acuerdo con Fischer (1953, p. 260), *U. bromivora* es un sinónimo de *U. bullata*.

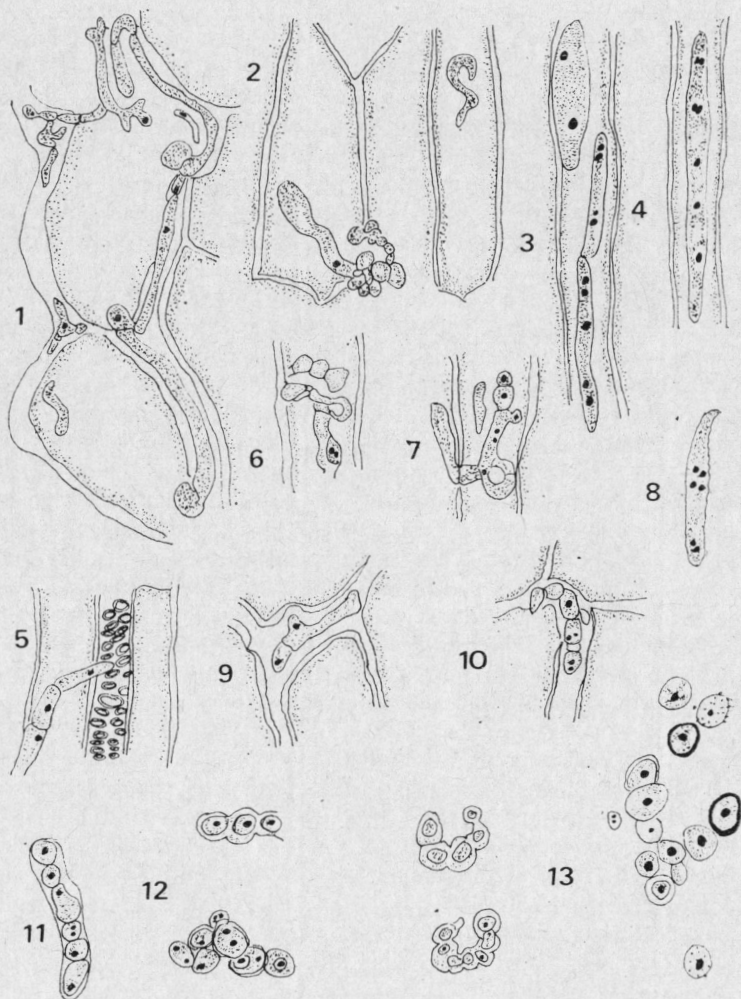
Algunos caracteres del ciclo evolutivo de U. bullata

Se formula aquí una breve descripción de los caracteres ontogénéticos de *U. bullata* basados en observaciones de material clamidospórico germinado *in vitro* y en cortes transversales y longitudinales del hospedante (*Bromus macranthus*) inoculado artificialmente, efectuados en diversos estadios de su desarrollo hasta la floración y consiguiente formación de los soros maduros. Los ensayos de germinación se efectuaron en agar papa glucosado o en agua destilada, en cámara húmeda. Las ilustraciones de las láminas 1 y 2 corresponden a dibujos hechos con cámara clara de material germinado en agar papa glucosado y fijado en líquido de Carnoy, y teñido con hematoxilina férrica; el mismo método se siguió con los cortes del hospedante para observar el desarrollo del hongo dentro de los tejidos de aquél (Lám. 2).

* Bull. Soc. Nat. Moscou 40: 252. 1867.

Los clamidosporos germinaron muy bien, sin período de reposo después de su formación o maduración morfológica, en condiciones de temperatura y humedad adecuados (22-26°C). En tales condiciones, el episporio comienza a hendirse a las 4-6 horas, asomando por la hendidura un pequeño tubo hialino que se alarga rápidamente, seguido de la formación de uno a tres tabiques transversales, dando origen a promicelios 2-4 celulares; con frecuencia se forman promicelios unicelulares que parecen esporidias gigantes por su forma y tamaño. La lám. I ilustra el proceso referido en las figuras 1-9. Por lo general los micelios se separan muy fácilmente de los clamidosporos, iniciándose la formación de esporidias laterales en número variable, o bien en las regiones de unión de las paredes de los promicelios con los tabiques se produce una ruptura o desintegración de los mismos, proyectando la membrana externa hacia afuera por donde avanzan los citoplasmas de las células promicelianas contiguas, produciéndose el fenómeno de plasmogamia en codo ("knee-connection") (figs. 10-13, 18, 22); en otros casos, en su lugar cuando las células promicelianas se ramifican, una de las ramas se dirige hacia una célula alterna, comportándose como atraída por ésta, con la que se fusiona, tomando el nombre de fusiones en hebilla (figs. 19, 24-25). Estas fusiones originan las hifas de infección que son las que penetran en los tejidos jóvenes de los hospedantes (figs. 10, 12-13, 15-16, 21-23, 26-28, 33, 35). En la misma lámina se ilustran las fases por las que atraviesa el proceso nuclear desde que se inicia la germinación de los clamidosporos. No ha sido posible estudiar aquí las características del cariotipo, ni determinar las fases mitótica y meiótica de los núcleos. Los clamidosporos son uninucleados cuando maduran, iniciándose la primera división nuclear con los esbozos de formación del tubo promiceliano adonde emigran y siguen dividiéndose a medida que avanza la longitud de los promicelios, quedando encerrado un núcleo en cada célula. Este núcleo vuelve a dividirse y uno de cada célula avanza hacia las regiones de las hifas infectantes en formación hasta penetrarlas y continuar el proceso (figs. 1-9). No observé en estos casos fusiones nucleares. Cada uno de los núcleos provenientes de las células que originaron las hifas infectantes vuelve a dividirse, separándose de a pares, repitiéndose el proceso divisional a medida que se alarga la hifa, que al tabicarse, deja alojados en cada célula un par de núcleos que se mantienen más o menos alejados a través de todo el ciclo evolutivo del hongo, hasta la formación de los nuevos clamidosporos (lám. 1, figs. 1-35). Las hifas infectantes formadas en la superficie de las semillas de *Bromus* en germinación penetran, mediante una aparente desintegración de la epidermis de las plántulas y rápidamente llegan a los tejidos parenquimáticos donde se ubican intero intracelularmente (con menor frecuencia) (lám. 2, figs. 1-2, 6-7) y muy raramente penetran los vasos conductores (lám. 2, figs. 4-5). Desde ese momento continúan creciendo junto con el hospedante, sin

que éste manifieste síntomas de ataque, y recién durante el período de floración se hacen visibles, porque las flores se encuentran hinchadas y los ovarios transformados en una masa miceliana muy vigorosa, hialina, contorsionada, con las células micelianas muy cortadas, con tendencia a redondearse. Es el momento de mayor voracidad del



Lám. 2. — Cortes longitudinales de los tejidos del hospedante de *U. bullata*, en los que puede verse las características del hongo ubicado dentro de las células. Figs. 1-2, 6-7; en las Figs. 4 y 5: Penetrando o penetrado dentro de los vasos conductores; Fig. 9: Hifa vista en corte transversal; Fig. 8: Hifa multinucleada que parece núcleo en división; Figs. 10-13: Diversos estadios de formación de los clamidiosporos hasta poco antes de la maduración de los episporios.

parásito. Cuando los elementos nutritivos se consumen, las células mencionadas van tomando un color amarillento, con una pared ligeramente engrosada que, durante el proceso de maduración parecería desdoblarse en dos (una interna y otra externa: endo- y exospora). Estas células se redondean o tornan globosas encerrando en su interior dos núcleos, a veces casi fusionados (lám. II, figs. 10-13), y mientras van obscureciéndose en la superficie de la membrana externa (exosporio) se hacen visibles puntos brillantes que van adquiriendo relieve y forma de equinulaciones o verrugosidades, que se van obscureciendo al madurar los clamidosporos, adquiriendo entonces la forma característica de las equinulaciones de la especie. Esto marca el ciclo cumplido y el comienzo del período de reposo del hongo. Los clamidosporos así constituídos pueden mantener su viabilidad durante varios años en la naturaleza si no se presentan condiciones favorables para su germinación.

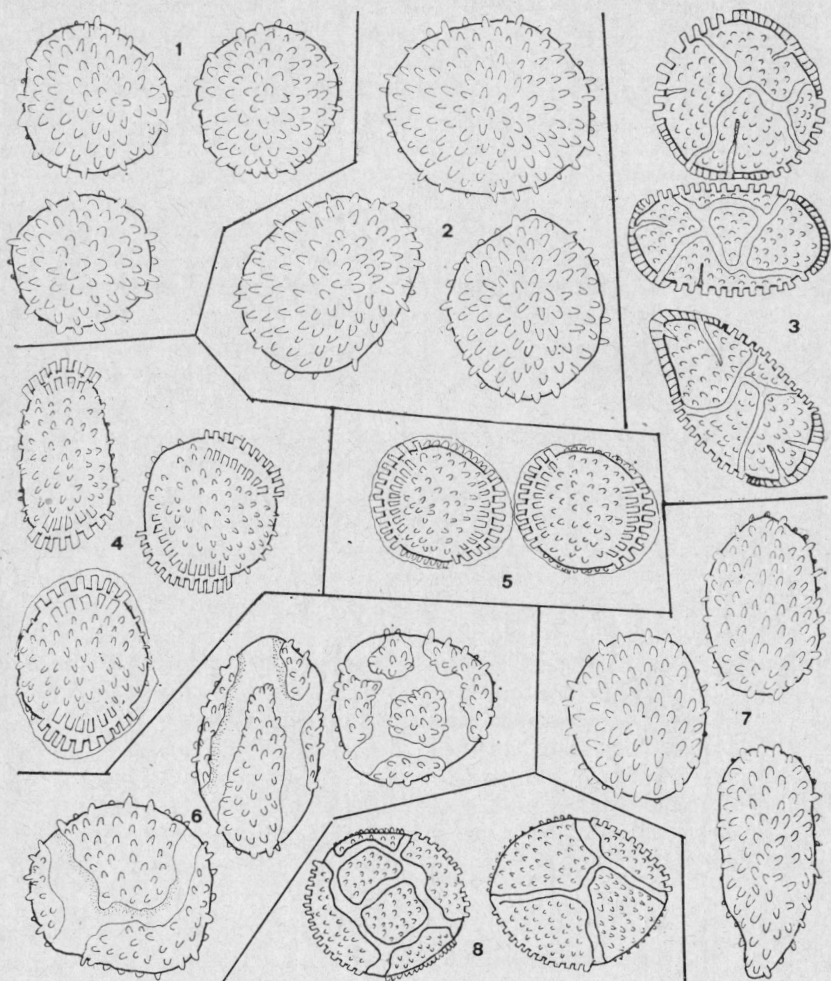
Caracteres morfológicos que presentan muchos de los ejemplares estudiados y que difieren de U. bullata

Un total de más de 100 muestras examinadas, muchas no estudiadas previamente y otras que formaron parte del estudiado en 1941 (Hirschhorn, *op. cit.*) reveló que el carbon de *Bromus* está integrado por una serie de tipos clamidospóricos totalmente diferentes de lo que se considera como caracteres típicos de *U. bullata*. Tales variaciones con respecto a la especie mencionada, se repiten a través de los años encontrándose sobre ejemplares que fueron recolectados durante 2-5 años, sobre hospedantes y regiones diferentes, razón por la cual, dada su constancia, considero conveniente señalarlos.

En la lám. 3 se han ilustrado los principales caracteres microscópicos que exhiben los ejemplares examinados, y que forman seis grupos diferentes, incluyendo para su comparación *U. bullata* como grupo 1. En todos los casos, las diferencias residen en los rasgos de los clamidosporos, ya que macroscópicamente todos poseen Soros semejantes.

Caracteres microscópicos de los grupos

- Grupo 1. Clamidosporos castaños, más o menos oscuros a oliváceos, globosos a subglobosos; 6-12 μ diám.; episporio equinulado a verrugoso. Especie: *U. bullata* (fig. 1).
- Grupo 2. Se diferencia del anterior por el mayor diámetro de los clamidosporos: 12-16 μ diám.: *Ustilago bullata* var. *macrospora* (Farl.) G. W. Fischer (Fischer, 1963). *Variación nueva para nuestra flora* (fig. 2).
- Grupo 3. Se particulariza porque dominan los clamidosporos ovalados o piriformes; episporio muy ligeramente equinulado, desgarrado; visto de perfil es dentado y ondulado en algunas zonas (fig. 3). Por los rasgos señalados puede considerarse una especie nueva. Los ejemplares estudiados provienen de Chubut, sobre *Bromus* sp.



Lám. 3. — Caracteres microscópicos de los clamidosporos que representan los grupos descritos. Fig. 1: *U. bullata*; Fig. 2: *U. bullata* var. *macrospora*; Fig. 3: Grupo 3; Fig. 7: Clamidosporos que por su forma semejan al grupo 3 y por el episporio al grupo 1 (*U. bullata*); Figs. 4 y 5: Grupo 5; Figs. 6 y 8: Grupo 6.

Grupo 4. Por la forma de los clamidosporos (fig. 7) se parece al grupo 3, y por el episporio a *U. bullata* (grupo 1) (compárese la fig. 1 con la 7). Los ejemplares estudiados provienen de Buenos Aires, sobre *Bromus cathartica* (variedad nueva de *U. bullata*?)

Grupo 5. Se aparta totalmente de *U. bullata* y de todos los otros ejemplares estudiados, porque los clamidosporos son dentiformes

o en cremallera en doble hilera en los polos opuestos y encerrados en una membrana hialina en forma de media luna que, a veces, se estrecha y continúa en el resto (figs. 4-5). Por tales rasgos no queda lugar a dudas de que se trata de ejemplares totalmente diferentes. Los ejemplares estudiados provienen de Río Negro, La Pampa y Tierra del Fuego sobre *Bromus brevis* y *Bromus* sp.

Grupo 6. Los clamidosporos de este grupo (figs. 6, 8) se particularizan porque su diámetro varía con los ejemplares (compárense las dos figuras citadas), lo mismo que el episporio: a veces se encuentran en un mismo ejemplar ambos tipos. Los ejemplares estudiados provienen de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba.

De acuerdo con las características de los grupos mencionados, el carbón de los *Bromus* argentinos está representado además de *U. bullata* y de la variedad (*U. bullata* var. *macrospora*), por otros taxones que, por su grado de constancia, deberán considerarse especies nuevas. Tal determinación queda postergada hasta tanto obtenga otros datos complementarios.

Además de los grupos mencionados, existen algunos tipos clamidospóricos casi hialinos, unos de forma globosa, con episporio provisto de relieves muy irregulares de difícil descripción, y otros castaños de forma muy irregular, algo agrietados en la base de las profundas verrugosidades * del episporio; mezclados con éstos aparecen clamidosporos ligeramente oliváceos a castaños, y lisos.

Consideraciones especiales

Es difícil establecer la causa de la variabilidad señalada en nuestro carbón de *Bromus*, salvo mediante un análisis genético de cada uno de los grupos, inclusive de la especie *U. bullata*, mediante una serie de inoculaciones artificiales, a fin de establecer en qué medida representan poblaciones genéticamente homogéneas, o bien poblaciones en segregación originadas por cruzamientos interespecíficos de especies afines a *U. bullata*. Cabe agregar que la índole de las características de los grupos señalados, especialmente del grupo 5, descarta la posibilidad de que sus diferencias con la especie *U. bullata* pueda responder a un ecotipo fluctuante con el ambiente o con el hospedante. En cuanto a un posible origen híbrido de los grupos 2-6, corresponde recordar que Fischer (en Fischer y Holton, *op. cit.*) obtuvo, artificialmente, híbridos entre *U. bullata* x *U. hordei*, pero ninguno de los segregantes que consigna recuerda a los casos señalados en nuestro material.

RESUMEN

Mediante un estudio comparativo de más de 100 ejemplares de *Bromus* spp. atacados por carbón, provenientes de las diversas regiones ecológicas del país, queda establecido que: 1) además de *U.*

* Señalando en el trabajo de Hirschhorn (1941).

bullata, existe en el país una serie de tipos con caracteres microscópicos de los clamidosporos que los aparta parcial o totalmente de los considerados típicos de *U. bullata* y que permitirá, eventualmente, considerarlos representantes de especies nuevas, determinación ésta supeditada a estudios en ejecución; 2) se consigna la existencia de una nueva variedad en el país: *U. bullata* var. *macrospora* (Farl.) G. W. Fischer; 3) la descripción de los caracteres taxonómicos de *U. bullata* se completa con un breve estudio relacionado con su ciclo evolutivo.

BIBLIOGRAFIA

- FISCHER, G. W. 1937. Observations on the comparative morphology and taxonomic relationships of certain grass smuts in Western North America. *Mycologia* 29: 408.
- 1940. Host specialization in the head smut of grasses, *Ustilago bullata*. *Phytopathology* 30: 991.
 - 1953. *Manual of the North American Smut Fungi*. The Ronald Press Co. New York.
 - y C. S. HOLTON. 1957. *Biology and control of the smut fungi*. The Ronald Press Co., New York.
- HIRSCHHORN, E. 1941. Nota sobre *Ustilago bullata*. *Rev. Arg. Agron.* 2: 160.