

## PRESENCIA DE *DRECHSLERA TERES* (SACC.) SHOEM. EN SEMILLAS DE CENTENO 'FORRAJERO

POR WALTER E. WINTER y CLOTILDE JAUCH<sup>1</sup>

### SUMMARY

\* Percentages of infection and degree of pathogenicity for *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. were determined in plants of different varieties of rye and forage barley. Good sporulation of the pathogen was obtained with potato dextrose agar +2 % thiamine, and adding sterilized pieces of stems, leaves or seeds of rye to the Petri dishes. Strains of the fungus were incubated at 20-21°C, exposed to alternating cycles of 12 hrs near UV and 12 hrs darkness. The main result is that *D. teres* can attack rye besides barley. In susceptible varieties of rye *D. teres* produce spots in leaves, reaching several cm in length.

### INTRODUCCION

La finalidad de este trabajo ha sido analizar muestras de semillas de centeno forrajero procedentes de distintas zonas de cultivo del país para determinar porcentajes de infección y establecer el grado de patogenicidad de *Drechslera teres* en plantas de distintos cultivares de este cultivo y de cebada forrajera. Se tomaron como base los trabajos de Sprague (1950), Dickson (1956), De Tempe (1964), Malone et al. (1964), Noble (1966), Noble et al. (1968), Ellis (1971), Srinivasan et al. (1971) y Chidambaram et al. (1973).

### MATERIALES Y METODOS

#### *Muestras de semillas:*

Fue analizado un total de 24 muestras de semillas (400 semillas por muestra) de centeno forrajero.

<sup>1</sup> Jefe de Trabajos Prácticos y Profesora Titular respectivamente en la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires). Realizado con subsidio otorgado por C.A.F.P.T.A. (Comisión Administradora del Fondo para la Promoción de la Tecnología Agropecuaria): Plan Nº 136.

Presentado en las VII Jornadas Argentinas de Micología, en la Academia Nacional de Medicina, setiembre 1975.

*Incubación de las muestras:*

Se utilizó el método del papel de filtro según las Reglas Internacionales para Tests de Semillas (ISTA, 1966). Las semillas fueron colocadas sobre papel de filtro humedecido y dentro de cajas de Petri de plástico las que se incubaron a 20°C ( $\pm$  3°C) exponiéndolas alternativamente a 12 horas de luz cercana al ultravioleta (NUV) y 12 horas de oscuridad.

*Determinación macroscópica de Drechslera teres:*

Las observaciones de las colonias de *Drechslera teres* sobre las semillas fueron hechas con el microscopio estereoscópico (10-50 x) al octavo día de incubación.

*Medios de cultivo utilizados para la obtención de colonias gigantes:*

1. Agar papa glucosado al 2 %.
2. Agar papa glucosado al 2 % con el agregado de tiamina.
3. Agar papa glucosado al 2 % con tiamina agregando sobre el medio de cultivo semillas, trozos de tallos u hojas de centeno esterilizados.
4. Semillas de centeno humedecidas y esterilizadas.

INFECCIONES EXPERIMENTALES EN CAMARA BIOCLIMATICA  
E INVERNACULO

Se realizaron pulverizando, con pulverizador de gota fina, las plantas de diferentes cultivares de centeno y de cebada o inoculándolas, en forma local, con pipeta Pasteur o con trozos de algodón embebidos previamente en una suspensión de esporas del hongo y colocados sobre distintas partes de las láminas de las hojas. Se hicieron seis pruebas experimentales, utilizando en todos los casos plantas provenientes de semillas libres de *D. teres* inoculándose 20 de éstas por cada cultivar. Las plantas dejadas como testigos (20 por cada cultivar) fueron pulverizadas o inoculadas localmente con agua destilada estéril.

*Cultivares de centeno y cebada forrajeras utilizados*

<i>Centeno</i> cv. Pico MAG	<i>Cebada</i> cv. Bordenave
cv. Forrajero Massaux	Ranquelina
cv. Manfredi Suquía	cv. Bonita
cv. Don Enrique	cv. Oliveros Litoral
cv. Pastoreo Massaux	
cv. Insave F.A.	
cv. Safico	

El inóculo utilizado tenía 15 días de edad. Se lo obtuvo a partir de cultivos monospóricos aislados de semillas infectadas naturalmente e integrantes de distintas muestras de semillas de centeno forra-

jero. Para las inoculaciones se utilizaron suspensiones de 5 a 25 esporas por campo del microscopio (10 ocular x 10 objetivo). En todos los casos las plantas inoculadas fueron dejadas en cámara húmeda durante 3 días a temperaturas medias de 18-22 y 25°C. Se utilizaron plantas de 8, 12 y 14 días de edad.

#### INFECCIONES EXPERIMENTALES A CAMPO

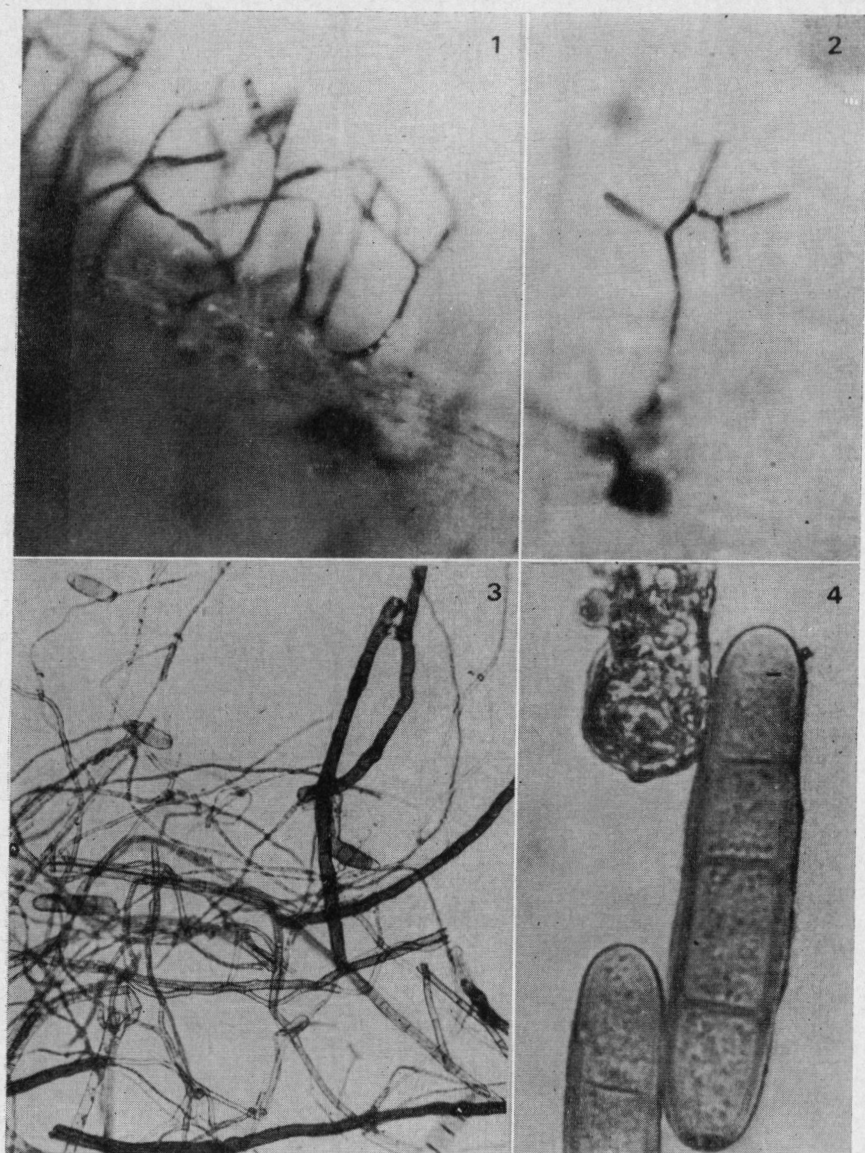
Se trabajó en parcelas sembradas con cebada cv. Bordenave Ranquelina y centeno cv. Pico MAG. Las parcelas fueron cubiertas con un esqueleto de madera forrado con bolsas de arpillera, que fueron humedecidas periódicamente. También se humedeció el suelo de las parcelas obteniéndose de esta manera una cámara húmeda adecuada (especie de carpa) que fue dejada *in situ* un día antes y dos días después de la inoculación. Se pulverizaron las plantas de 20 días de edad con pulverizador de gota fina; en el *primer ensayo* con una suspensión de 5 esporas y en el *segundo* con una de 10-15 esporas por campo del microscopio (10 ocular x 10 objetivo). Algunas de las plantas del segundo ensayo fueron inoculadas con trozos de algodón embebidos en la suspensión de esporas y colocados sobre distintas partes de las hojas. Las plantas de las parcelas dejadas como testigo fueron pulverizadas con agua de canilla. Las temperaturas durante los 8 días posteriores a la inoculación del segundo ensayo fueron: mínima 4,5°C, máxima 26°C y media 15°C.

En un *tercer ensayo* se eligieron 10 plantas en estado de espigazón del cultivar de cebada Bordenave Ranquelina y 10 plantas de centeno del cv. Pico MAG. Las plantas fueron rodeadas de plástico y pulverizadas con agua, estableciéndose así una adecuada cámara húmeda, que fue mantenida por 3 días. En las hojas de 5 plantas de cada cultivar se colocaron trozos de algodón embebidos previamente en una suspensión de 10-15 esporas por campo del microscopio. Las restantes 5 plantas se dejaron como testigos.

#### RESULTADOS

##### *Determinación macroscópica de Drechslera teres*

Se observaron conidióforos pardo-castaños a negruzcos, generalmente derechos a veces flexuosos, naciendo por lo general solitarios, muchas veces con sus bases ensanchadas, disponiéndose en ellos los conidios en forma acrópeta. Por lo general no se observaron conidióforos secundarios. Conidios cilíndricos, más claros que los conidióforos con tabiques visibles, preentándose a veces en cadena de 2 y de 3 (Figs. 1, 2 y 5).



*Drechslera teres*:

Figs. 1 y 2. — Sobre semillas de centeno 50 x.

Fig. 3. — Fotomicrografía de conidióforos y conidios crecidos sobre semillas de centeno 100 x.

Fig. 4. — Fotomicrografía de un conidio de la figura 3, 450 x.

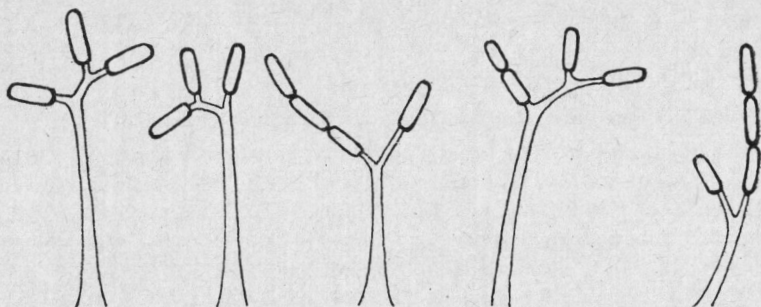


Fig. 5. — *Drechslera teres* 50 x. Observar la disposición de los conidios, a veces formando cadenas de 2 y de 3.

*Determinación microscópica de Drechslera teres:*

Los conidios por lo general son derechos, cilíndricos presentando comúnmente sus extremidades redondeadas y las células basales algo

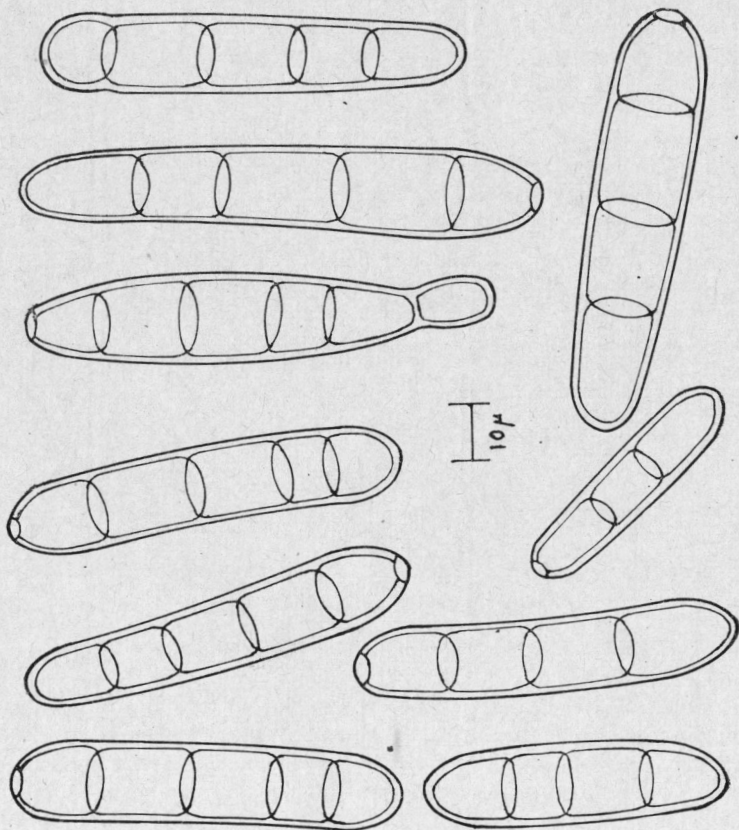


Fig. 6. — Conidios de *Drechslera teres*.

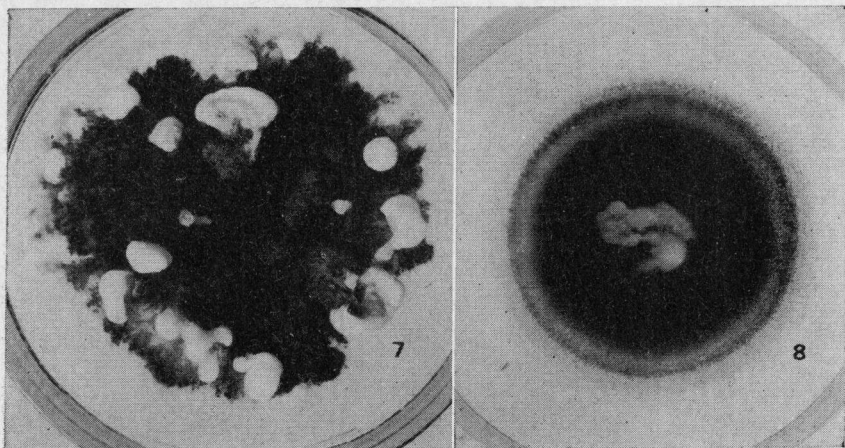
infladas, son subhialinos a amarillentos, 48-120  $\mu$  (generalmente 72-84) x 8-20  $\mu$  (generalmente 12-16) presentando desde 1-5 (generalmente 3-4) tabiques trasversales (Figs. 4, 5 y 6).

*Obtención de colonias del hongo:*

En agar papa glucosado al 2 % se obtuvieron colonias gigantes que crecían lentamente. El crecimiento del hongo fue más acelerado con el agregado de tiamina, pero aún exponiendo las cajas de Petri de plástico a ciclos alternados de 12 horas de luz cercana al ultravioleta (NUV) y 12 horas de oscuridad la esporulación fue pobre.

Se pudo comprobar que la formación de esporas (conidios) es mucho mayor agregando —a las cajas de Petri conteniendo agar papa glucosado al 2 % con tiamina— trozos de tallos, hojas de cereal o semillas de centeno previamente esterilizados: las esporas se forman sobre estos órganos o parte de órganos. La mayor cantidad de esporas se obtuvo al incubar las cajas entre 20 y 21°C, exponiéndolas a los ciclos de luz y oscuridad mencionados arriba.

El cultivo del hongo sobre semillas de centeno humedecidas y esterilizadas fue muy satisfactorio obteniéndose la mejor esporulación entre 20 y 21°C y ciclos alternados de luz NUV y oscuridad.



Colonias gigantes de *Drechslera teres*:

Fig. 7. — Con copos y penachos de micelio.

Fig. 8. — Con gran cantidad de esporas.

El desarrollo del micelio fue superficial al principio profundizándose luego algo en el medio de cultivo. Se extendió por todo el medio de cultivo y formó los característicos copos o penachos aéreos (Fig. 7). Las colonias fueron al principio grisáceas tornándose luego parduscas al tiempo de formarse las esporas. Estas fueron mucho más frecuentes al incubar las cajas de Petri entre 20-21°C y ciclos alter-

nados de luz NUV y oscuridad (Fig. 8), disminuyendo considerablemente a 25°C (Fig. 9).

La figura 10 ilustra unos cuerpos negruzcos constituídos por esporas y micelio de una colonia de *D. teres* desarrollada en agar papa glucosado con el agregado de tiamina, preparado en pico de flauta. estría.

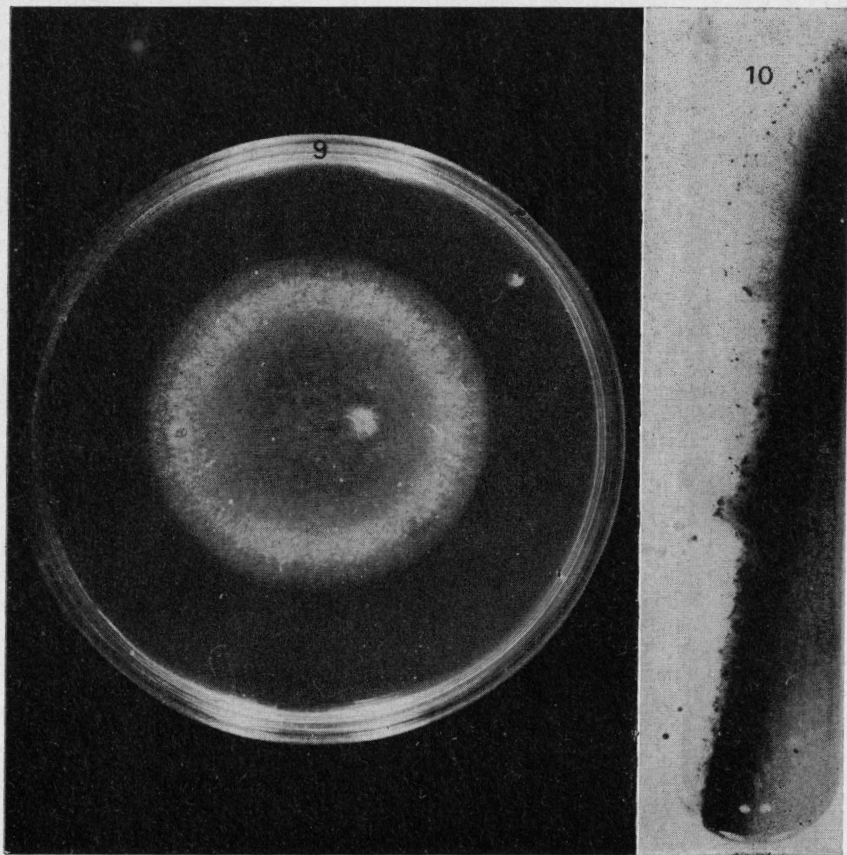


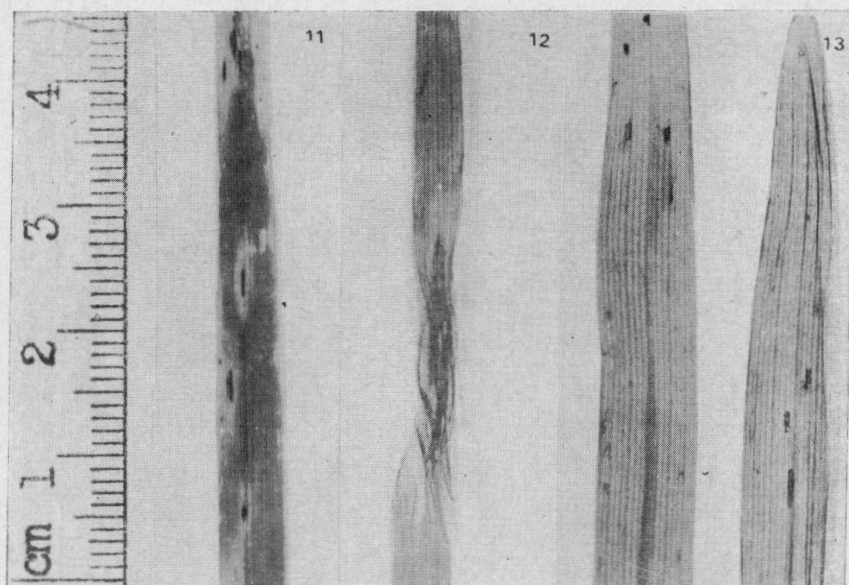
Fig. 9.—*Drechslera teres*, colonia gigante con poca cantidad de esporas.

Fig. 10.—*Drechslera teres*, aspecto de una colonia en estría mostrando cuerpos negruzcos formados por esporas y micelio.

*Porcentajes de infección de Drechslera teres en semillas de centeno forrajero:*

Los porcentajes de infección de *Drechslera teres* en semillas de centeno forrajero se reunieron en la lista n° 1.

Lista n° 1<sup>1</sup>

*Drechslera teres*:

- Fig. 11. — Infección experimental, por pulverización, de centeno forrajero cv. Pico MAG. Zonas cloróticas en la lámina foliar que delimitan manchas alargadas, más o menos limitadas por las nervaduras y con estrías trasversales.
- Fig. 12. — Infección experimental, con pipeta Pasteur, de centeno forrajero cv. Manfredi Suquía. En la lámina foliar se ve una zona trizada o laciniada, de color grisáceo, cubierta con una gran cantidad de esporas del hongo.
- Fig. 13. — Infección experimental, con pipeta Pasteur, de cebada forrajera cv. Bordenave Ranquelina. Manchas alargadas en las láminas foliares, más o menos limitadas por las nervaduras, con estrías trasversales.

PORCENTAJES DE INFECCION DE DRECHSLERA TERES EN SEMILLAS  
DE CENTENO FORRAJERO

	%
Centeno cv. Pico MAG procedente M.A.G. ....	—
cv. Pico MAG procedente Prov. Buenos Aires .....	—
cv. Don Enrique procedente INTA Rafaela, Sta. Fe .....	1,0
cv. Tropero INTA lote 1 procedente INTA Rafaela Sta. Fe ....	1,7
cv. Tropero INTA lote 2 procedente INTA Rafaela Sta. Fe ....	4,2
cv. Pico MAG procedente Río IV Córdoba .....	2,1
cv. Manfredi Suquía SAG procedente M.A.G. ....	1,5
cv. Insave procedente M.A.G. ....	0,8
cv. Forrajero Massaux procedente M.A.G. ....	1,0
cv. Pico procedente M.A.G. ....	—
cv. Safico procedente M.A.G. ....	2,0
cv. Pastoreo Massaux procedente M.A.G. ....	2,0
cv. Manfredi Suquía procedente Manfredi, Córdoba .....	3,8
cv. Forrajero Massaux procedente S. Cayetano, Prov. Bs. As. ..	1,0
cultivar norteamericano procedente S. Cayetano, Prov. Bs. As. ..	1,5

cv. Pico MAG procedente Los Cisnes, Prov. Córdoba .....	0,25
cv. Pico MAG procedente Prov. Bs. As. ....	0,5
cv. Remeco INTA "A" procedente Pergamino, Prov. Bs. As. ...	5,0
cv. Remeco INTA "B" procedente Pergamino, Prov. Bs. As. ...	4,5
cv. Manfredi Suquía, procedente Facultad de Agronomía, Bs. As.	1,5
cv. Forrajero Massaux procedente Pergamino, Prov. Bs. As. ....	1,0
cv. Safico procedente Fac. Agronomía U.B.A. ....	1,0
cv. Insave procedente Fac. Agronomía U.B.A. ....	2,2
cv. Pastoreo Massauj procedente Fac. Agronomía U.B.A. ....	0,75

<sup>1</sup> Colaboró en la obtención de estos resultados la ayudante 1º Ing. Agr. Silvia Gaetán.

En la lista anterior se puede observar que de las 24 muestras de semillas de centeno forrajero procedentes de distintas zonas del país, analizadas por el método del papel de filtro, 21 se encontraban infectadas con *Drechslera teres* en porcentajes que variaron de 0,25 a 5.

#### CONCLUSIONES

La casi totalidad de las muestras de centeno forrajero procedentes de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba analizadas con el método del papel de filtro se encontraban infectadas con el agente patógeno en estudio. Los mayores porcentajes de infección correspondieron a las muestras de los cultivares *Remecó INTA* procedentes de Pergamino (Prov. Bs. As.), *Manfredi Suquía* y *Tropero INTA* procedentes de las provincias de Córdoba y Santa Fe respectivamente.

Semillas de centeno forrajero naturalmente infectadas con *Drechslera teres* fueron sembradas y al ser analizadas las nuevas semillas así obtenidas se pudo comprobar la transmisión natural por semilla de este patógeno de un año para el otro, aun cuando éstas se hallaban poco infectadas.

Los cultivares de centeno forrajero más susceptibles al patógeno fueron *Pico MAG*, *Safico* y *Manfredi Suquía*; moderadamente susceptible se mostró el cv. *Forrajero Massaux*, mientras que de los cultivares de cebada forrajera ensayados el *Bordenave Ranquelina* fue el más atacado.

Como medio de cultivo utilizado para la obtención de colonias gigantes con buena esporulación del patógeno se prefiere el agar papa glucosado al 2 % con tiamina, utilizando cajas de Petri de plástico y agregado sobre el medio trozos de tallos, hojas de cereal o semillas de centeno previamente esterilizados. Las cajas son incubadas a 20-21°C y expuestas a ciclos alternativos de 12 horas de luz cercana al ultravioleta (NUV) y 12 horas de oscuridad. Resultados satisfactorios ha dado también el cultivo del hongo sobre semillas de centeno humedecidas y esterilizadas, sometidas a las mismas condiciones de incubación del medio de cultivo anterior.

## OBSERVACION DE SINTOMAS \*

\* En todas las infecciones experimentales realizadas con las técnicas indicadas en los cuadros 1-2-3 y 4 los testigos no manifestaron síntomas.

I. En los cuadros 1 y 2 figuran los resultados obtenidos en las infecciones experimentales realizadas en cámara bioclimática y en invernáculo.

Cuadro 1. EN CENTENO

Cultivares de centeno	Edad de las plantas (en días)	Concentración de la suspensión de esporas por campo del microscopio (10 oc. x 10 obj.)			Temp. media posterior a la inoculación en °C	Período de incubación (en días)	Síntomas
		Pulverización	Pipeta Pasteur	Algodón			
Pico MAG	8	5			18	—	No se observaron
id.	8	5			22	—	id.
id.	14	10-15			22	7	Zonas cloróticas en las láminas foliares que pueden alcanzar varios centímetros de largo, que delimitan muchas veces manchas castañas, primero oblongas y luego alargadas (0,5 a 0,7 cm) más o menos limitadas por las nervaduras con estrías transversales de color más intenso (Fig. 11).
id.	14			10-15	22		id.
id.	12		10-15		25	8	id.
id.	14		20-25		25	8	id.
Safico y Manfredi							
Suquía	12		10-15		25	8	Zonas cloróticas en las láminas foliares.
id.	14		20-25		25	8	Areas cloróticas abarcando todo el ancho de las hojas. Miden hasta 3 cm. de longitud con zonas trizadas o laciniadas de color grisáceo, que observadas bajo lupa presentaban una gran cantidad de esporas del hongo (Fig. 12).
Forrajero							
Massaux	14		20-25		25	8	Idem a la sintomatología anterior pero con susceptibilidad menor.
Don Enrique, Insave y Pastoreo							
Massaux	14		20-25		25	8	No se observaron.

Cuadro 2. EN CEBADA

Cultivares de cebada	Edad de las plantas (en días)	Concentración de la suspensión de esporas por campo del microscopio (10 oc. x 10 obj.)			Temp. media posterior a la inoculación en °C	Período de incubación (en días)	Síntomas
		pulverización	pipeta Pasteur	Algodón			
Bordenave							
Ranquelina	8	5			18	5	Zonas cloróticas en las láminas foliares.
id.	8	5			22	7	id.
id.	14	10-15			22	5	Manchas castañas en las láminas foliares, primero oblongas y luego alargadas (pueden alcanzar más de 1 cm); más o menos limitadas por las nervaduras, con estrías transversales de color más intenso (fig. 13).
id.	14			10-15	22	3	id.
id.	12		10-15		25	5	id.
id.	14		20-25		25	8	Idem. Bajo lupa se pudo observar sobre las manchas viejas una gran cantidad de esporas del hongo.
							id.
Bonita	12		10-15		25	5	Manchas castañas en las láminas foliares, primero oblongas y luego alargadas, más o menos limitadas por las nervaduras, con estrías transversales de color más intenso; pero menor cantidad de manchas por lámina foliar que en el cv. Bordenave Ranquelina.
id.	14		20-25		25	8	id.
Oliveros							
Litoral	12		10-15		25	5	Zonas cloróticas en las láminas de las hojas.
id.	14		20-25		25	8	id.

II. En los cuadros 3 y 4 figuran los resultados obtenidos en las infecciones experimentales realizadas *a campo*.

Cuadro 3. EN CENTENO

Cultivares de centeno	Edad de las plantas (en días)	Concentración de la suspensión de esporas por campo del microscopio (10 oc. x 10 obj.)			Temp. media posterior a la inoculación en °C	Período de incubación (en días)	Síntomas
		pulverización	Pipeta Pasteur	Algodón			
Pico MAG	20	5			15	10	Zonas cloróticas en las láminas foliares en un 0,5 % de las plantas inoculadas experimentalmente.
id.	20	10-15			15	8	En un 10 % de las plantas inoculadas se observaron zonas cloróticas en las láminas foliares que pueden alcanzar varios centímetros de largo, que delimitan muchas veces manchas castañas primero oblongas y luego alargadas (0,5-0,7 cm.), más o menos limitadas por las nervaduras con estrías transversales de color más intenso.
Pico MAG	espigazón			15	20	10	Las zonas inoculadas de las láminas foliares presentaron una marcada clorosis.

Cuadro 4. EN CEBADA

Cultivares de cebada	Edad de las plantas (en días)	Concentración de la suspensión de esporas por campo del microscopio			Temp. media posterior a la inoculación en °C	Período de incubación (en días)	Síntomas
		Pulverización	Pipeta Pasteur	Algodón			
Bordenave Ranquelina	20	5			15	10	Un 45 % de las plantas inoculadas presentaron manchas típicas en las láminas foliares, que se manifestaron primero oblongas, luego alargadas; más o menos limitadas por las nervaduras con estrías trasversales de color más intenso. Idem a las manchas anteriores, para un 35 % de las plantas inoculadas. Las zonas inoculadas de las láminas de las hojas presentaron síntomas iguales a los indicados en los dos ensayos anteriores.
id.	20	10-15			17	8	
id.	espigazón			15	20	10	

Para las infecciones experimentales se puede utilizar indistintamente el método de la pipeta Pasteur, algodón embebido en suspensión de esporas o pulverización, siempre que la concentración de esporas de la suspensión utilizada sea bastante elevada (10-15 esporas por campo del microscopio).

La conclusión más importante a la que se arribó es el hallazgo por primera vez en el mundo de que *Drechslera teres* ataca también el centeno además de la cebada.

## BIBLIOGRAFIA

- CHIDAMBARAM, P., S. B. MATHUR y P. NEERGAARD. 1973. Identification of Seed-borne *Drechslera* species. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Copenhagen, Denmark N° 26 (Reprinted from *Friesia* 10: 165-207, 1973).
- DE TEMPE, J. 1964. *Helminthosporium* spp. in seeds of wheat, barley, oats and rye. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 29: 117-140.
- DICKSON, J. G. 1956. *Diseases of field crops*. New York. 517 p.
- ELLIS, M. B. 1971. *Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 608 p.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1966. International Rules for Seed Testing. *Proc. Int. Seed Testing Assoc.*, 31: 1-152.
- MALONE, J. P. y A. E. MUSKETT. 1964. Seed-borne fungi. Description of 77 fungus species. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.*, 29: 1-384.
- NOBLE, MARY. 1966. Handbook on seed health testing. Series 3. *Int. Seed Test. Assoc. Wageningen*, Holland. N° 33.
- y J. M. RICHARDSON. 1968. An annotated list of seed-borne diseases. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 33: 1-191.
- SPRAGUE, R. 1950. *Diseases of cereals and grasses in North America*. New York. 538 p.
- SRINIVASAN, M. C., CHIDAMBARAM, P., S. B. MATHUR y P. NEERGAARD. 1971. A simple method for inducing sporulation in seed-borne fungi. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Copenhagen, Denmark N° 15 (Reprint of *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 56: 31-35, 1971).