



# REVISTA

DE LA

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

JULIO DE 1928

ENTREGA II

TOMO VI

## Notas micológicas Sobre el cultivo en medios artificiales de algunos hongos parásitos de plantas

POR S. SORIANO, ING. AGR. (1)

Trabajo del Laboratorio de Microbiología agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires

« We are really not any more justified in assuming the *identity* of an organism because it is found in a certain locality than we are in assuming that it is the *cause* of a particular disease merely because it happens to be found in the lesion of that disease, excepting in those few cases where abundant experience has justified such assumptions, and in these cases we constantly run the risk of undetected error. »

IVAN C. HALL, *Some fallacious tendencies in bacteriologic taxonomy* (2).

Una cantidad bastante numerosa de especies pertenecientes al vasto grupo de los Hongos han sido descritas como poseedoras de propiedades patógenas en los vegetales superiores, a los cuales causan enfermedades más o menos graves y entre las que se encuentran muchas de verdadera importancia económica para la República Argentina. Los daños que ellas ocasionan en ciertos casos, se encargan por sí solo de justificar el interés que merece el estudio, bajo otros aspectos tan atrayente, de estos microorganismos enemigos de las cosechas del hombre.

(1) Nos complacemos en expresar aquí nuestro reconocimiento a los ingenieros agrónomos L. R. PARODI, S. HOROVITZ, J. TISCORNIA, A. R. MILLÁN y R. SCASSO por habernos facilitado varios ejemplares de plantas enfermas estudiadas en este trabajo.

Agradecemos particularmente la gentileza del director del Instituto bacteriológico del Departamento de higiene, doctor A. SORDELLI por habernos permitido la reproducción de las fotografías adjuntas, obtenidas en dicho Instituto, y al doctor M. KUHN por haber efectuado algunas de ellas.

(2) *Journal of Bacteriology*, volumen XIII, número 4, página 248, líneas 20-27, abril 1927.

Desde el punto de vista de la profilaxis, de la terapéutica vegetal y hasta de la legislación respectiva, es de la más alta importancia el conocimiento de la biología completa de estos causantes de enfermedades de los vegetales. Un método de lucha eficaz, un tratamiento adecuado, una medida prohibitiva de prevención, deben reposar en primer término en el buen conocimiento de las características del agente patógeno (como las formas de difusión, formas de resistencia, poder patógeno, grado de virulencia y muchas otras características fisiológicas: temperaturas óptimas, condiciones de germinación de los esporos, etc.), así también como sobre el mejor conocimiento de la fisiología normal y patológica de la planta huésped, especialmente en lo que se refiere a las condiciones y grado de resistencia hacia la enfermedad y a la existencia de variedades inmunes.

Procediendo por orden, veremos que todo este vasto plan de patología vegetal sólo puede llevarse a cabo fructuosamente estudiando con detención: 1° el agente activo en la producción de la enfermedad; 2° el huésped; y 3° las relaciones existentes entre ambos. Ahora bien, se concibe con facilidad el estudio de la planta huésped separada del parásito, (puesto que basta para ello hacerlo sobre ejemplares no atacados), e igualmente su estudio comparativo con plantas atacadas, habiéndose obtenido en esta forma todo el acopio de numerosísimas observaciones a base de las cuales ha venido edificándose la mayor parte del conocimiento que poseemos de las enfermedades de las plantas. Pero el restante factor, el que se refiere al estudio del agente productor de la enfermedad separado del huésped, ha quedado en general poco menos que abandonado en la patología vegetal clásica. Salvo los datos morfológicos indispensables a la nomenclatura y algunos otros aislados especiales en cada caso, la fisiología de los hongos patógenos de los vegetales no ha podido ser llevada muy adelante *por la dificultad de obtener dichos agentes al estado puro*, aislados del huésped y de todo otro organismo de contaminación. En esta forma, el aislamiento en cultivo puro de los causantes de las enfermedades de las plantas ha venido a llenar una necesidad bien manifiesta de esta rama de los estudios biológicos y ha dado un nuevo y pujante impulso a la moderna patología vegetal.

Disponiendo del agente activo al estado puro, se hace posible un estudio detallado y exacto de su fisiología, de los efectos producidos por diversos estímulos: temperatura, reacción del medio, etc., y se hace posible sobre todo la comprobación experimental que permite afirmar con certeza el poder patógeno del organismo estudiado, puesto que pueden entonces efectuarse inoculaciones en las condiciones que se quiera, en la cantidad que se quiera y con material escrupulosamente puro.

Considerando la importancia de la comprobación del poder patógeno,

es interesante observar que la historia de la patología vegetal no está exenta de enseñanzas provechosas, puesto que a ese respecto no es difícil encontrar en ella ejemplos de hongos citados como productores de enfermedades por el simple hecho de haberse encontrado repetidamente en las lesiones características... Lo que en patología animal y tratándose especialmente de bacterios no constituye sino una presunción, en patología vegetal y tratándose de hongos ha llegado casi generalmente a constituir una prueba de convicción... Según lo exigen los célebres postulados del gran ROBERTO KOCH (y no habría que olvidarlos aquí, tratándose también en este caso de los vegetales, de enfermedades infecciosas), si bien es cierto que la presencia constante del mismo organismo en una lesión determinada lo hace sospechoso, con mayor o menor fundamento, de ser la causa determinante de la enfermedad, esto solo no es sin embargo suficiente y para poder afirmarlo con certeza es menester *aislar el organismo sospechado al estado puro, reproducir con él experimentalmente la afección característica*, quedando aún, en último término, para mejor demostración, un nuevo aislamiento del germen inoculado, de la lesión reproducida.

Evidentemente, tratándose de hongos el asunto no es tan intrincado como cuando las enfermedades son producidas por bacterios, por una parte debido a las características morfológicas que hacen su identificación relativamente fácil por la pureza y abundancia con que aparecen generalmente en las lesiones, y luego por ser también posible en muchos casos la reproducción experimental de la enfermedad partiendo de sus fructificaciones al estado natural relativamente puras. No hay que olvidar, sin embargo, que procediendo en esta forma no puede llegarse nunca a un resultado científicamente satisfactorio, no habiendo manera de afirmar con seguridad su poder patógeno sino simplemente mayores o menores probabilidades acumuladas.

Dicha afirmación categórica sólo se hace posible por medio de la inoculación experimental del cultivo microscópica y bacteriológicamente puro... y aun así siempre queda la duda de una infección natural simultánea, o de algún otro factor imprevisto, lo cual obliga a llevar paralelamente una serie de testigos de huéspedes no inoculados que sirven de riguroso contralor!

En el caso tan interesante y de tanta importancia económica de las «royas» de los cereales, aun es necesario trabajar en la forma primitiva (aunque de técnica bien afinada), puesto que no se conoce todavía la manera de cultivar el hongo fuera del organismo huésped; pues bien, este ejemplo aun constituyendo un caso bien estudiado que cuenta en apoyo de la afirmación de su poder patógeno con una nutrida serie de minuciosas experiencias a su favor, que lo presentan como un caso ex-

cepcional... la afirmación categórica podría ser objetable y no resulta en último análisis convincente. A este caso puede aplicarse ciertamente, la última parte de un párrafo del doctor IVAN C. HALL escrito en un artículo sobre crítica a la nomenclatura bacteriológica y que hemos elegido como epígrafe para encabezar esta introducción : rogamos al lector atento que lo medite.

Ateniéndose a una rigurosa técnica bacteriológica y utilizando medios de cultivo apropiados, la gran mayoría de los hongos parásitos de las plantas han sido aislados (o es posible aislarlos) en cultivo puro, separándolos de la planta huésped y de los demás hongos o bacterios que pueden acompañarlos en las lesiones, y haciéndolos vivir en forma satisfactoria en medios artificiales. De esta manera se resuelven de pronto, satisfactoriamente, una cantidad de cuestiones relacionadas con el estudio de los causantes de enfermedades, entre las cuales, como hemos dicho, figuran en primer término la comprobación de su poder patógeno y la inoculación experimental inobjetable.

Salvo varios casos aislados en la bibliografía europea, muy interesantes y hasta sorprendentes por la época en que fueron ejecutados, este hermoso y elegante capítulo de patología vegetal sólo ha podido desarrollarse con vigor cuando se aplicaron a él los nuevos métodos elaborados en el estudio de la bacteriología, y es sobre todo por obra de los investigadores norteamericanos, cuyos formidables medios de trabajo son bien conocidos, que viene extendiéndose, con evidente beneficio para la agricultura, en forma de aplicación práctica inmediata. Tenemos la convicción de que en nuestro país queda toda una vasta obra que desarrollar en este sentido.

« It seems very likely that a large part of our serious plant diseases will be controlled eventually by the production of disease resistant varieties. »

H. K. HAYES and R. J. GARBER, *Breeding crop plants* (1).

● Aun queda otro punto de muchísima importancia en estas cuestiones de aplicación de la micología, el cual constituye probablemente el método más eficaz de lucha contra las enfermedades de las plantas : entendemos hacer alusión a la existencia, o a su creación por medio de la genética, de variedades resistentes o inmunes a las enfermedades.

La posesión de cultivos puros de los gérmenes productores de enfermedades infecciosas en los vegetales, permite comprobar rápidamente y con seguridad por medio de la reproducción artificial de la enfermedad,

(1) Mc. Graw-Hill book Co., First edition, Second impression, página 245, líneas 21-23. New York-London, 1921.

si existen variedades del huésped más o menos resistentes o del todo inmunes a la infección; en caso negativo, combinando adecuados cruza- mientos pueden conseguirse variedades especiales que gocen a la vez de resistencia parcial o de inmunidad completa hacia la enfermedad, conjun- tamente con las demás condiciones requeridas en el cultivo y en el co- mercio del producto considerado.

Es esta la gran esperanza de la agricultura moderna para salvaguardar sus productos de la amenaza incesante y hasta creciente de algunas grá- ves enfermedades parasitarias de los vegetales; es necesario reconocer que en algunos casos, especialmente en Norte América, ha sido ya posi- ble obtener resultados satisfactorios con este método indirecto de lucha consiguiendo evitar la caída inminente y el abandono de algunos culti- vos en ciertas regiones con la siembra oportuna de variedades resistentes a las enfermedades.

A este respecto nos parece de suma importancia hacer intervenir en los trabajos de genética y mejoramiento de los vegetales, que ya co- mienzan a considerarse seriamente en nuestro país, los ensayos de resis- tencia a las enfermedades infecciosas económicamente más importantes, haciendo uso de las inoculaciones provocadas.

Las selecciones de líneas resistentes a las enfermedades guiándose úni- camente por los resultados obtenidos a ese respecto en los años sucesivos de experimentación, hace perder, en general, demasiado tiempo y expone además a conclusiones que pueden ser contradictorias de un año a otro, dependientes del vigor del ataque natural de la enfermedad en la estación considerada. Fácilmente puede concebirse cómo todo un paciente estudio de genética efectuado durante varios años, en los cuales (permítase- nos la suposición, puesto que ello es perfectamente posible), no se hayan producido ataques fuertes de una determinada enfermedad, queda poco menos que destruido si la línea seleccionada resulta perjudicada severa- mente en un año en que, por las condiciones atmosféricas, el ataque puede resultar mucho más intenso. Si bien es cierto que por compara- ción con otras líneas o variedades, siempre puede tenerse una idea apro- ximada del grado de susceptibilidad a las enfermedades de cada línea estudiada, es justo reconocer que la información verdaderamente valiosa en ese sentido, sería el resultado de la infección experimental provocada *ya sea en forma individual o por intermedio de la producción de epifitias artificiales* en los campos de experiencias, colocándose siempre en las condiciones óptimas a la acción del parásito.

En los estudios de genética entre nosotros, creemos que se asigna ge- neralmente tan sólo una pequeña parte de la importancia que en realidad merece este factor de resistencia a las enfermedades. Esto por cierto no está de acuerdo con lo que sucede en la naturaleza, en la cual no deja

seguramente de sucumbir a una infección la variedad de granos más gruesos, de mejor rendimiento o de follaje más abundante, sino la que, por causas apenas hoy día entrevistas, se muestran refractarias o más o menos resistentes a la infección. En una palabra, la resistencia a las enfermedades de una variedad comercial de plantas cultivadas, nos parece ser una de las piedras de toque definitivas que deciden en último término del valor, por otra parte importantísimo, de las demás condiciones culturales y comerciales del producto.

En Norte América se habla ya comúnmente de variedades de numerosas plantas cultivadas resistentes a diferentes enfermedades: cereales resistentes a las *Puccinias*, al *Erysiphe* y a los « carbones »; porotos resistentes al *Colletotrichum*; tomates resistentes al *Fusarium*; linos resistentes al « pasmo » y muchos otros ejemplos, algunos de los cuales se hallan todavía bajo la experimentación intensiva. En nuestro país, caso único hasta ahora, tenemos también el trigo « 38 » obtenido por BACKHOUSE resistente a la « roya » (*Puccinia triticina*).

Abrigamos la esperanza de que se seguirá aumentando en el porvenir la lista de estas pacientes y hermosas conquistas de la ciencia sobre la fecundidad de la naturaleza.

Respecto a la utilización entre nosotros de variedades resistentes a alguna enfermedad comprobada en el extranjero, es necesario ser muy precavidos y no siempre pueden esperarse buenos resultados de este procedimiento, exponiendo más bien a lamentables fracasos. En la naturaleza las cosas han resultado de tal manera que no sería raro encontrar que una planta resistente a una enfermedad en una región determinada, al ser transportada a otro lugar sucumba a la infección. Además de la influencia de las condiciones ambientes otro factor interviene para complicar el asunto, y es la existencia de distintas « formas biológicas » del parásito, formas que predominan en una u otra de las regiones consideradas y que son capaces de atacar a una u otra de las variedades del huésped. Es el caso general de las « royas » de los cereales entre los cuales se conocen numerosas formas biológicas, y el caso del *Colletotrichum lindemuthianum* (1), para el cual han sido citadas dos formas biológicas distintas.

Un ejemplo típico de esta clase, que hace resaltar la importancia del estudio regional de las formas biológicas, lo constituye el caso de la *Puccinia graminis* de la cebada, que en Europa es atacada por una forma biológica (*Puccinia graminis secalis*) que ataca también al centeno, mientras que en Norte América el mismo cereal es atacado por otra forma biológica (*Puccinia graminis tritici*), que ataca al trigo. En la República

(1) BARRUS, M. F. (pag. 151), citado más adelante, página 106 de este trabajo.

Argentina, probablemente es también la *Puccinia graminis tritici* la que ataca la cebada, como ya había sospechado hace varios años nuestro eminente biólogo profesor LUCIEN HAUMAN (1).

Una variedad de cebada resistente a la *Puccinia graminis* en Norte América no lo sería ya, pues, en Europa debido a la diferente « forma biológica » del parásito predominante en ambas regiones, amén de otras muchas complicaciones posibles que no mencionamos.

La consecuencia práctica de la interpretación de estos hechos es que se hacen necesarios los estudios regionales de patología vegetal, si se quiere intentar con probabilidades de éxito la lucha inteligente contra estos poderosos y tan numerosos agentes de las enfermedades infecciosas de los vegetales.

#### OBSERVACIONES RELATIVAS A LOS AISLAMIENTOS

A continuación detallaremos las características más importantes de algunos hongos, aislados en cultivo puro, causantes de enfermedades de varias plantas cultivadas en nuestro país. Advertimos que las enfermedades consideradas no han sido objeto de selección alguna entre las de mayor importancia económica en la República Argentina, como hubiera sido deseable, sino que los aislamientos se han efectuado con el material que con mayor facilidad y en mejores condiciones nos ha sido posible procurarnos en el laboratorio de microbiología de nuestra Facultad.

Algunos de los organismos que figuran en este trabajo han sido aislados con el objeto de comparar sus caracteres con las descripciones de ejemplares análogos obtenidos en otros países, pero especialmente con el fin de reunir material para las inoculaciones y reproducción experimental de la enfermedad.

En general, cada uno de los cultivos proviene de la germinación de un sólo esporo, el cual, desde el momento de la siembra en los medios artificiales ha sido observado periódicamente al microscopio, trasplantando la pequeña colonia resultante en el momento oportuno. Procediendo en esta forma se está generalmente a cubierto de contaminaciones desagradables. Se han aislado, además, en algunos casos, cultivos adicionales reuniendo varias colonias con el objeto de compararlos a los primeros. En muchos tubos se han sembrado también, aunque separadamente, dos o más ejemplares de una misma especie, con la esperanza de ver aparecer fructificaciones del estado perfecto del hongo

(1) HAUMAN MERCK L., *Les parasites végétaux des plantes cultivées en Argentine*, página 190, en *Anales del Museo nacional de historia natural de Buenos Aires*, tomo XXVI, páginas 163-225, 1914.

en el caso de ser este heterotálico, aunque siempre hasta ahora con resultado negativo (1).

En varios casos, partiendo de los primeros cultivos obtenidos, se han efectuado también aislamientos de purificación, llegando siempre a la conclusión de que se trataba desde el principio, de cultivos puros del organismo correspondiente.

De los diez cultivos aislados, en ocho de ellos se han obtenido fructificaciones características en los medios artificiales; los dos restantes no han dado, en los medios ensayados, más que la forma vegetativa.

En general, las formas de fructificación en los cultivos artificiales coinciden perfectamente con las que presentan al estado natural. El tamaño de los esporos suele ser a veces ligeramente mayor y de aspecto más vigoroso, quizá por las condiciones más favorables de desarrollo. La propiedad patógena, en los dos únicos ejemplos en que la hemos ensayado, ha mostrado conservarse perfectamente en el cultivo artificial de los hongos respectivos.

La identidad y la pureza de los cultivos ha quedado establecida por todas o varias de las siguientes características: 1ª por la manifestación de su poder patógeno en la reproducción experimental de la enfermedad, usando en las inoculaciones una suspensión de esporos obtenidos en los cultivos; 2ª por la similitud de las fructificaciones del cultivo comparadas con las del estado natural; 3ª por la semejanza de la mayoría de las colonias que aparecen en las placas utilizadas en los aislamientos y de los cultivos que de ellas derivan; 4ª por su proveniencia directa de un esporo, cuya germinación y desarrollo sucesivo, hasta la formación de la colonia, ha podido seguirse desde un principio por la observación microscópica repetida.

Los medios de cultivo ensayados han sido preparados en general de acuerdo a las indicaciones dadas por SMITH (2). En varios casos hemos tenido que completar las pocas indicaciones mencionadas por los distintos autores que figuran en la bibliografía citada en este trabajo, con la práctica corriente en los laboratorios de bacteriología. Cuando ha sido necesario corregir la reacción ajustándola a una concentración de iones hidrógeno determinada (expresada corrientemente por el símbolo pH), hemos hecho uso del método colorimétrico, siguiendo las indicaciones

(1) Confrontar SHEAR, C. L., and DODGE, B. O. *Life histories and heterothallism of the red bread-mold fungi of the Monilia sitophila group*, en *Jour. of Agr. Res.*, volumen 34, número 11, 1927.

(2) SMITH ERWIN, F., *Bacteria in relation to plant diseases*, volumen I. Carnegie Inst. of Washington. Public., número 27, 1905.

de CLARCK (1) y de MICHAELIS (2), empleando la técnica de WALPOLE.

Entre los medios de cultivo utilizados por nosotros hemos seleccionado el agar de papa glucosado, por el excelente desarrollo obtenido en general con su uso. Otros medios empleados han sido: el agar glucosado al 0,2 por ciento, el agar común de carne con o sin adición de glucosa y trozos estériles de tallo tierno de *Melilotus alba*, pero ninguno de estos medios ha presentado ventaja alguna sobre el agar de papa, ni desde el punto de vista del desarrollo vegetativo ni para favorecer la formación de esporos.

En el estado en que este trabajo se encuentra, todavía en ejecución, nos decidimos, sin embargo, por ahora, a publicar el resultado de las experiencias efectuadas hasta el presente, como una primera contribución al aislamiento de los hongos parásitos de algunas plantas cultivadas en la Argentina, conjuntamente con varios ensayos de inoculación experimental de enfermedades de los vegetales utilizando cultivos puros, esperando que ello llegue a despertar algún interés entre los estudiosos en nuestro país, donde esta clase de trabajos no ha adquirido aún el desarrollo que la importancia de su agricultura reclama.

#### ENUMERACIÓN DE LOS ORGANISMOS AISLADOS

##### 1. *Phlyctaena? linicola* SPEGAZZINI

Este hongo fué descrito por vez primera en la Argentina por SPEGAZZINI (3), como el causante de una enfermedad del lino denominada « pasmo ».

Actualmente la importancia económica de esta enfermedad es probablemente bastante grande en este país aunque suele atribuírsele menor atención de la que requiere, debido a que, si el ataque no resulta excepcionalmente intenso, sus distintas manifestaciones pasan generalmente inadvertidas. Además del perjuicio sobre el rendimiento en semilla de las plantas atacadas, que es por ahora el punto más importante y que sería del mayor interés determinar aproximadamente, estamos convencidos, por otra parte, de que si se llega algún día en la Argentina al aprovechamiento industrial de la fibra de lino, será necesario disponer

(1) CLARK, W. M., *The determination of Hydrogen ions*, 2<sup>nd</sup> edición, WILLIAMS and WILKINS Co. Baltimore, 1922.

(2) MICHAELIS, L., *Manuel de techniques de physico-chimie et spécialement de chimie des colloïdes*. MASSON et Co. París, 1923.

(3) SPEGAZZINI, C., *Mycetes argentineses*, en *Anales del Museo nacional de Buenos Aires*, III, 13, página 389-390, 1911.

de variedades resistentes al « pasmo ». puesto que, como hemos tenido ocasión de comprobarlo repetidas veces efectuando ensayos de enriamiento bacteriológico con gérmenes apropiados, resulta imposible obtener la separación de las fibras en las partes del tallo afectadas por las « manchas » de la enfermedad y se obtiene, en consecuencia, aun en las mejores condiciones de trabajo, un producto mediocre. En la figura 5, lámina I, puede verse el resultado del enriamiento con un método bacteriológico (empleando *Bacillus felsineus*), en un trozo de tallo de lino atacado de « pasmo ». Se nota claramente que la separación de las fibras no ha podido efectuarse en los lugares ocupados por las manchas de « pasmo », resultando, en consecuencia, un aislamiento incompleto de los haces fibrosos.

*Phlyctaena? linicola* parece haber sido aislada por primera vez en Norte América por C. S. REDDY en 1917, y luego por W. E. BRENTZEL en 1922 (1). La reproducción experimental de la enfermedad por inoculación con cultivos puros del hongo, ha sido conseguida por REDDY y por BRENTZEL y también por nosotros, utilizando en nuestro caso cultivos aislados en la Argentina.

En nuestros cultivos el desarrollo en los medios artificiales es relativamente bueno. En agar de papa glucosado se obtienen colonias grisáceas algo elevadas sobre el medio y rodeadas por una faja de micelio blanco.

El aspecto característico del desarrollo vegetativo puede notarse perfectamente en las figuras de la lámina I. En tubos de ensayo, en estría, cubre completamente la superficie libre en unos 40-50 días y el medio toma generalmente, después de unos días de desarrollo, un leve tinte rosáceo.

La formación de esporos es relativamente rápida y abundante: apareció en nuestros primeros cultivos en unos 6-8 días, pero luego en los trasplantes sucesivos han aparecido esporos en los nuevos tubos en unos 4-5 días. Los esporos, en grandes masas rosadas, emergen de los receptáculos o picnidos formados en el estrato de micelio oscuro situado sobre el medio de cultivo. En la figura 2 de la lámina I, se ve muy bien el aspecto que presentan esas masas de esporos saliendo de los picnidos, en un tubo de agar de papa glucosado; nótese la disposición concéntrica y la relativa abundancia en este medio de cultivo. Si la colonia desarrolla en la profundidad del medio, en placas de Petri, los esporos formados pueden notarse después de un tiempo mirando desde la parte inferior a través del vidrio, apareciendo como en la fi-

(1) BRENTZEL, W. E., *The pasmo disease of flax. Journal of Agriculture Research*, 32, número 1, página 25-37, 1926.

gura 4 de la misma lámina en forma de pequeñas masas claras, lanceoladas, abiertas en el agar.

A pesar de haberlos buscado detenidamente nunca hemos encontrado esporos formados directamente sobre el micelio como menciona BRENTZEL. En nuestros cultivos los esporos se han formado siempre en el interior de cavidades o picnidos tal como sucede en las condiciones naturales, saliendo al exterior a la madurez en forma de gotitas de color rosado, como hemos dicho anteriormente. Si al sacar material del micelio se toca inadvertidamente una de esas pequeñas gotitas todavía invisible a simple vista, puede incurrirse fácilmente en el error de interpretar la formación de esporos directamente sobre el micelio. Si la

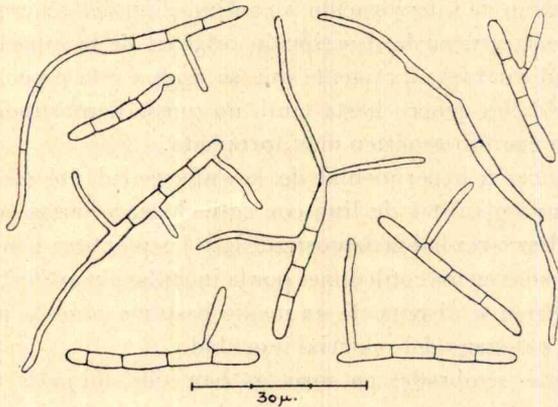


Fig. 1. — *Phlyctaena ? lincicola* Speg. — Esporos obtenidos en cultivo puro Germinación a las 24 horas en agua fisiológica esterilizada (aumento :  $\times 760$ ) (1)

extracción del material se hace bajo el binocular y en lugares alejados de la apertura de las cavidades que contienen esporos, se verá que estos no se forman sobre el micelio en los cultivos artificiales.

En agar glucosado al 0,2 por ciento, el cultivo, de aspecto algodonoso y de color verdoso marrón, desarrolla especialmente en profundidad atravesando el medio y llegando hasta la pared del tubo. No se forman esporos en este medio de cultivo.

En trozos esterilizados de tallo de *Melilotus alba* el cultivo presenta, en general, un color claro y forma picnidos fértiles en abundancia.

La germinación de los esporos en agua o en medios de cultivo artificiales se produce en la forma que indica la figura 1 adjunta, obteniéndose frecuentemente, en un principio, la formación de tubos germina-

(1) Todos los dibujos de las figuras 1 a 10 han sido obtenidos empleando la cámara clara de ABBE.

tivos únicamente en las células de los extremos y luego suelen formarse además tubos laterales en las células intermedias. Generalmente sólo después de las 24 horas comienza la ramificación del micelio que dará nacimiento a la colonia, dependiendo esto, como se comprende, de las condiciones de nutrición del medio de cultivo empleado.

Según se desprende, por la forma de germinación de los esporos y por la atenta observación de los mismos al estado fresco o mejor aun coloreados (con *bleu-cotton*, por ejemplo), éstos contienen generalmente varios tabiques, como ya había comprobado HAUMAN con anterioridad (1). BRENTZEL da igualmente unos dibujos de los esporos tabicados (2). Puesto que al género *Phlyctaena* corresponden esporos continuos, creemos en consecuencia que sería muy conveniente seguir conservando el signo de interrogación a continuación del género, cómo fué usado por SPEGAZZINI en la descripción original de la especie (3). Con esto sigue indicándose claramente que se asigna esta especie en forma provisional a dicho género hasta tanto no quede demostrada la conveniencia de un cambio genérico más apropiado.

La reproducción experimental de la enfermedad fué efectuada por nosotros usando plantitas de lino con cotiledones y varias hojitas. Con anterioridad BRENTZEL había demostrado que las plantitas jóvenes son fácilmente atacadas en los cotiledones por la inoculación artificial, de modo que en esta forma se dispone de un medio bastante cómodo para demostrar el poder patógeno del material inoculado.

Las plantitas sembradas en macetas han sido mojadas abundantemente por aspersión con una suspensión de esporos obtenidos en cultivo artificial, utilizando al efecto un pulverizador. En esta operación se ha podido notar que las hojitas son difícilmente mojadas, resbalando las gotas, que no se adhieren sino excepcionalmente; en cambio los cotiledones quedan completamente cubiertos de gotitas de líquido. Como la infección a esta edad de la planta raramente se produce en las hojas y tallos, el hecho de no mojarse en esos lugares representa en ellos, probablemente, un buen medio de defensa. Los cotiledones, que son las únicas partes mojadas en abundancia, son también los que presentan las lesiones en la manifestación de la enfermedad.

Inmediatamente después de la inoculación las plantitas han sido colocadas en una cámara húmeda, generalmente por unas 48 ó 72 horas. En seguida fueron transportadas al invernáculo o se han dejado afuera si la temperatura lo permitía, regándolas periódicamente, esperando que

(1) HAUMAN-MERCK, L., *loc. cit.*, página 199.

(2) BRENTZEL, W. E., *loc. cit.*, página 33.

(3) SPEGAZZINI, C., *loc. cit.*, página 389.

aparecieran las primeras manifestaciones características de la enfermedad.

Nuestro primer ensayo de reproducción experimental del « pasmo » del lino fué comenzado el 5 de enero de 1928 usando esporos de un mes y cuatro días obtenidos en agar de papa glucosado. Las plantitas, con los cotiledones en buen estado y las dos primeras hojitas emergiendo, recibieron una aspersión abundante de la suspensión de esporos bastante cargada y fueron colocadas en seguida en cámara húmeda durante 72 horas. Después de este tiempo se han dejado afuera en un lugar resguardado del sol y han sido regadas regularmente todos los días manteniendo la tierra húmeda. Recibieron además una lluvia de varias horas. El 14 de enero, 9 días después de la inoculación, varias plantitas presentaron lesiones bien características en los cotiledones y algunas hojas. En algunas de las lesiones aparecieron picnidos ya formados.

Una segunda inoculación fué comenzada el 14 de enero usando esporos de 10 días obtenidos en el mismo medio de cultivo que en el caso anterior. Se emplearon plantas de unos 10 cm. de altura, con cotiledones y varias hojas. Después de la aspersión quedaron 48 horas en cámara húmeda y luego en el invernáculo hasta el día 20, fecha en que fueron expuestas a una lluvia de unas dos horas. El 23 (9 días después de la inoculación) muestran ya indicios bien manifiestos de la enfermedad. Las lesiones son más pequeñas y limitadas que en la infección anterior. Varias plantitas usadas como testigos que han recibido el mismo tratamiento, salvo la aspersión, que ha sido hecha con agua estéril sin esporos, no presentan indicios de ataque de la enfermedad.

La tercera inoculación fué efectuada el 4 de febrero usando esporos de 8 días obtenidos en agar de papa glucosado, se usaron plantitas con cotiledones y varias hojitas. Tres macetas llenas de plantitas fueron tratadas por una aspersión de esporos y otras tres utilizadas como testigos fueron pulverizadas solamente con agua. Todas las macetas fueron colocadas luego en cámaras húmedas durante dos días y medio. Después de este tiempo, cada maceta inoculada, con una maceta testigo, se han puesto: *a*) en invernáculo; *b*) afuera a la sombra; *c*) afuera a media sombra. Las seis han sido regadas todos los días y además las que fueron colocadas afuera recibieron una corta lluvia suplementaria. El 13 (9 días después de la inoculación) se encuentran ya lesiones características de la enfermedad en los tres lotes de plantas inoculadas. Pocos días después casi todas las plantas inoculadas muestran lesiones en los cotiledones y excepcionalmente en algunas hojas. Ninguna de las plantas testigos ha sido atacada.

El período de incubación de la enfermedad ha sido, tanto en esta experiencia como en las demás, de unos 8 días, puesto que siempre al no-

veno día se han encontrado las lesiones características ya formadas y hasta en una ocasión con los picnidos bien manifiestos.

En la lámina II pueden verse diversos aspectos mostrados por las plantitas inoculadas en estas experiencias. Todas las lesiones que aparecen en las figuras han sido obtenidas por inoculación con esporos de cultivos puros de *Phlyctaena? linicola* formados en agar de papa glucosado.

La forma de penetración del parásito no ha podido aún ser observada claramente. En numerosas observaciones efectuadas sobre preparaciones microscópicas de los cotiledones inoculados, a pesar de notarse con toda claridad los esporos germinados en la superficie de la epidermis, ninguno de los tubos ha sido visto introduciéndose en el interior de los tejidos.

## 2. *Septoria lycopersici* SPEGAZZINI

Este hongo ha sido encontrado por SPEGAZZINI en nuestro país, en 1894 (1), HUERGO lo cita en 1904 en Entre Ríos como el causante de una enfermedad grave de los tomates denominada « viruela » (2). Desde esa época la « viruela » de los tomates parece causar daños apreciables y constituye uno de los serios obstáculos para el cultivo de esta planta, al menos en los alrededores de Buenos Aires, donde aparece, con frecuencia, en forma severa.

En agar de papa glucosado, el cultivo se extiende muy poco en superficie, siendo en general elevado. Sobre el estroma primitivo se forman, en partes irregulares, mechones de micelio blanco aéreo que da a los cultivos un aspecto característico según muestra la figura 2 de la lámina III.

Los picnidos, formados en pequeños receptáculos negros abiertos generalmente hacia la parte superior, dejan escapar los esporos a la madurez los cuales se aglomeran en forma de pequeñas gotas de color rosado como se muestra en la figura 1 de la misma lámina. En las colonias formadas en el interior del agar, los esporos pueden recogerse entre los pequeños intersticios del agar roto, apareciendo, observados desde la parte inferior de las placas de Petri, como pequeñas masas blancas de forma lenticular, según muestra la figura 4 de dicha lámina. En esta misma figura puede observarse el borde de las colonias tal como aparece en los cultivos, después de un tiempo.

(1) SPEGAZZINI, *Anales del Museo nacional de Buenos Aires*, número 739, tomo IV, página 81, 1899.

(2) HUERGO (h.), J. M., *Boletín del ministerio de Agricultura y ganadería*, t. II, página 236. Buenos Aires.

En agar glucosado al 0,2 por ciento, *Septoria lycopersici* da colonias de la forma que muestra la figura 3, lámina III; en algunas partes del micelio la ramificación es más abundante, formando aglomeraciones características de las hifas. En ese medio de cultivo, a los pocos días las colonias presentan un color verde bastante pronunciado. No se obtienen esporos.

En tallos estériles de *Melilotus alba*, se forman pústulas negras por la invasión del micelio en las células subepidérmicas y se producen picnidios con relativa rapidez.

La germinación de los esporos se efectúa en general con la formación de un tubo en cada célula terminal y en algunas células intermedias, según aparecen en la figura adjunta (fig. 2).

La reproducción artificial de la « viruela » del tomate, usando una sus-

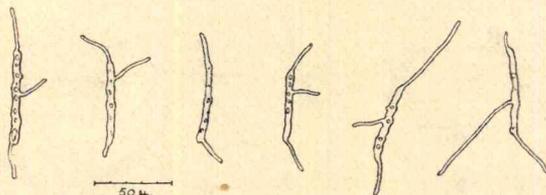


Fig. 2 — *Septoria lycopersici* Speg. Esporos obtenidos en cultivo puro. Germinación a las 24 horas en agar de papa glucosado (aumento:  $\times 200$ ) (1)

pensión de esporos obtenidos en cultivos puros de *Septoria lycopersici*, ha sido obtenida por nosotros, utilizando plantitas con cotiledones y dos o tres hojas. El 4 de febrero de 1928 se trataron varias plantas con una aspersión de esporos de 13 días procedentes de un cultivo en agar de papa glucosado. Otras plantas pulverizadas con agua estéril sirvieron como testigos. Después de la pulverización se colocaron ambos lotes de plantas en cámaras húmedas por dos días y medio y luego pasaron al invernáculo por 24 horas, después de lo cual se sacaron afuera dejándolas en un lugar a la sombra. Todas las plantas han sido regadas diariamente y han recibido además una lluvia.

El 13 de febrero, a los ocho días de la inoculación, se encuentran varias de las plantitas inoculadas con lesiones bien manifiestas en los cotiledones, algunas de las cuales ya muestran varios puntitos oscuros diseminados en la parte central de la lesión y que a la observación microscópica demuestran ser picnidios del hongo. Las plantas testigos no

(1) Los tabiques de estos esporos no aparecen en el dibujo por no ser claramente visibles desde la parte inferior de la placa de PETRI y a través del medio de cultivo, por donde han sido observados.

inoculadas no muestran indicios de la enfermedad. En la lámina IV pueden verse en detalle diversos aspectos característicos de las plantitas empleadas en este ensayo de reproducción experimental de la «viruela» del tomate.

### 3. *Ustilago maydis* (D.C.) Tul.

Empleamos esta denominación para designar el agente productor del «carbón» del maíz, por haber sido ya utilizada anteriormente por HAUMAN y PARODI (1). Los autores norteamericanos denominan al causante de esta misma enfermedad del maíz, *Ustilago zae* (BECKM.) UNGER.

Nuestro objeto, al intentar un aislamiento de este hongo ha sido simplemente el de comparar las características de sus cultivos con las que se han descrito en organismos análogos aislados en otros países (2). Espe-

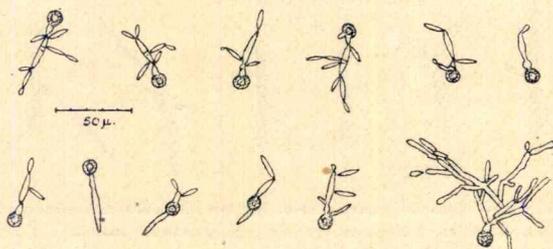


Fig. 3. — *Ustilago maydis* (D. C.) Tul. — Germinación de esporos en agar de zanahoria a las 24 horas (el último a las 48 horas) (aumento:  $\times 200$ )

cialmente además, hemos reunido los cultivos puros con el objeto de efectuar experiencias de inoculación de la enfermedad que aun no hemos llevado a cabo.

En medios de cultivo artificiales, los clamidosporos de *Ustilago maydis* germinan con la formación de un corto tubo que a veces parece faltar por completo formándose una especie de pequeña vesícula (véase fig. 3) y dando inmediatamente comienzo en uno u otro caso a la aparición de los esporos secundarios o esporidias. Han sido observados esporos con dos tubos germinativos opuestos y otros con ramificación al partir de la pequeña vesícula. La situación de las esporidias con respecto al tubo primitivo, puede ser terminal o lateral, encontrándose con bastante fre-

(1) HAUMAN, L. y PARODI, L. R., *Los parásitos vegetales de las plantas cultivadas en la República Argentina*, en *Revista de la Facultad de agronomía y veterinaria*, tomo III, páginas 227-274, diciembre 1921.

(2) Véase POTTER, A. A., and MELCHERS, L. E., *Study of the life history and ecologic relations of the smut of maize*, *Journal of Agr. Res.* tomo XXX, número 2, página 161, 1925.

cuencia esporidias que se hallan adheridas hacia la mitad del tubo germinativo inicial como puede verse en la figura 3.

Las esporidias tienen forma típicamente lanceolada y se reproducen continuamente por brotación; la figura adjunta (fig. 4), muestra algunas de estas esporidias de forma levadura, tal como se encuentran en un cultivo en agar de papa glucosado o en agar de zanahoria. En tubos de agar de papa glucosado, el cultivo se asemeja al de una levadura con superficie húmeda y al principio lisa, que luego en pocos días, se va arrugando gradualmente hasta presentar numerosos pliegues, semejando entonces el cultivo de una « mycoderma ». El color es al principio blanco cremoso; a los ocho días adquiere un tinte sucio, especialmente en las partes donde presenta los pliegues más pronunciados.

La consistencia es bastante fuerte y al ser removido se forman hilos que pueden alcanzar hasta unos centímetros de longitud. En algunos

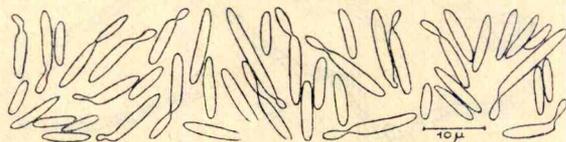


Fig. 4. — *Ustilago maydis* (D. C.) Tel. — Esporidias de forma levadura, en los cultivos puros en agar de zanahoria (o en agar de papa glucosado). (De una preparación microscópica coloreada) (aumento  $\times 800$ ).

puntos de la periferia del cultivo, éste se seca poniéndose completamente blanco y formándose un poco de corto micelio que no llega a desarrollarse.

En los cultivos de más de un mes presenta un aspecto seco, con pliegues cortos, pero bien pronunciados, y el color es marrón oscuro.

En la lámina V pueden verse varias formas de colonias de este hongo, obtenidas en los aislamientos en cultivo puro en medios artificiales. En la figura 2, que presenta un clamidosporo germinado, las esporidias han tomado aspecto de ciertas hifas, probablemente por las condiciones de escasa nutrición del medio de cultivo; igual aspecto puede notarse en el dibujo adjunto (fig. 3 del texto).

Las figuras 5 y 6 de la lámina V muestran el desarrollo característico de *Ustilago maydis* en los medios de cultivo artificiales, tal como se manifiesta cuando se reproduce únicamente en forma de esporidias.

#### 4. *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. et MAGN.) BR. et CAV.

Este hongo, que produce una enfermedad grave de los porotos, denominada « antracnosis », ha sido estudiado detenidamente por una

serie de investigadores, que han hecho sobre él observaciones interesantes.

Siendo relativamente fácil y abundante su cultivo en los medios artificiales, ha podido ser aislado desde las primeras investigaciones, según refiere BARRUS (1). Nuestros cultivos provienen de los esporos encontrados en unas lesiones características sobre legumbres de porotos.

Cortes hechos a mano de dichas lesiones, observados al microscopio, han mostrado contener esporos de un hongo y los « pelos » característicos del género *Colletotrichum*.

Los esporos germinan fácilmente en los medios de cultivo. En agar de papa glucosado y en agar glucosado al 0,2 por ciento, la germina-

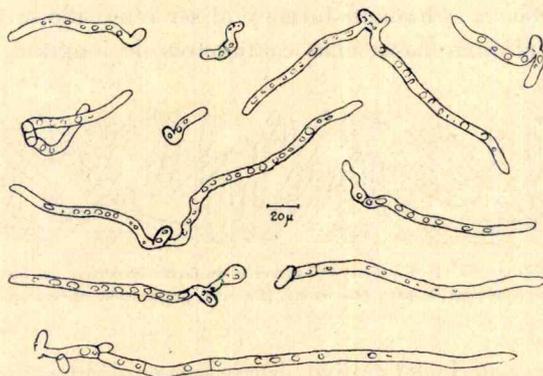


Fig. 5. — *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et MAGN.) BR. et CAV.  
Germinación de esporos en agar de papa glucosado a las 24 horas (aumento :  $\times 200$ )

ción se efectúa como indica la figura 5, con formación de uno o dos tubos germinativos en el mismo extremo o en las extremidades opuestas, o bien lateralmente. Alargándose los tubos germinativos forman un micelio lleno de granulaciones refringentes; se forman a veces pequeñas vesículas, como se ve en uno de los esporos germinados representados en el dibujo.

En agar glucosado al 0,2 por ciento se han observado muchos esporos de germinación tardía que sólo han germinado después de unos días, durante cuyo tiempo han aumentado considerablemente de volumen y han formado, además, un tabique intermedio, como puede verse en la figura 6, dibujados a la misma escala que la figura anterior. En este caso de germinación tardía el micelio da inmediatamente nacimiento a nuevos esporos que suelen quedar reunidos uno al lado del

(1) BARRUS, M. F., *Bean anthracnose*. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Mem. 42, página 120, 1921.

otro, según van formándose sucesivamente. Esta forma de esporulación inmediata no es rara en los medios de cultivo pobres en substancias nutritivas, por lo cual se producen rápidamente las formas de propagación.

En las siembras efectuadas en agar de papa glucosado ha sido observada igualmente una anomalía en la formación de las pequeñas colonias: en las partes de la placa sembradas más abundantemente se han encontrado, a las 48 horas, pequeñas colonias que presentan el aspecto de la figura 7, con células en forma de vesículas intercaladas en el micelio. La pared de estas células no está espesada como en los clamidospores de otros hongos, por lo cual no deben considerarse como tales

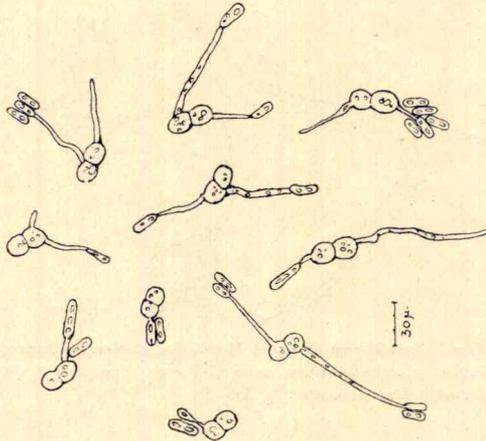


Fig. 6. — *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Br. et Cav.  
Germinación tardía de esporos, con formación inmediata de esporos secundarios (aumento:  $\times 200$ )

sino simplemente, quizá, como una deformación, debido a estímulos especiales no determinados. En la misma figura aparece dibujada una parte de esas células gigantes con el aspecto que presentan a los cuatro días, vistas con mayor aumento.

En agar de papa glucosado, el cultivo se extiende rápidamente en superficie y a los 4-5 días comienza a adquirir un color verde oliváceo que se ennegrece paulatinamente. Si el desarrollo se efectúa en placas de PETRI, queda un borde de micelio blanco, como aparece en la figura 1 de la lámina VI, y si se efectúa en tubos, todo el micelio, que ya ha cubierto la superficie del medio y ha llegado a las paredes de vidrio, se ennegrece uniformemente, salvo en la parte inferior más húmeda o menos aereada, donde el ennegrecimiento sólo llega, a veces, a producirse más tarde. Los esporos aparecen en masas aisladas sobre el micelio negro, presentando el aspecto de pequeñas gotas rosadas dispuestas

en forma concéntrica, o bien irregularmente. En la figura 2 de la misma lámina VI, puede verse claramente el aspecto de un cultivo de *Colletotrichum lindemuthianum* esporulado en agar de papa glucosado. Algunos cultivos en tubos no esporulan o bien sólo esporulan con dificultad.

En agar glucosado al 0,2 por ciento, los cultivos forman un micelio que se extiende con facilidad entrelazándose las colonias cercanas. Al cabo de unos 10 a 15 días pueden observarse numerosas masas negras constituidas por una reunión íntima de micelio que constituyen verdaderos islotes separados unos de otros, como puede verse en la figura 3 de la lámina VI. Partiendo de hifas nacidas en esos islotes se producen

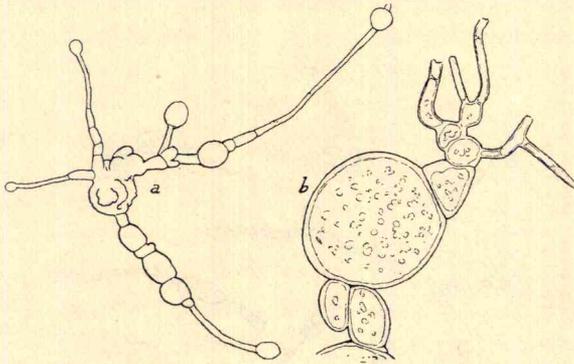


Fig. 7. — *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Br. et Cav. — Desarrollo anormal obtenido en agar de papa glucosado; a, colonia entera, a las 48 horas (aumento:  $\times 150$ ); b, detalle de una parte del micelio a los cuatro días (aumento:  $\times 325$ ).

muchos esporos, que también se ven en la fotografía. Estas masas negras son especialmente superficiales y presentan una gran abundancia de esos « pelos » o « sedas » que caracterizan al género *Colletotrichum*, mezcladas a las hifas que dan nacimiento a los esporos. En la figura 4 de la misma lámina VI, se ven claramente estos pelos característicos obtenidos en cultivo puro.

En tallos estériles de *Melilotus alba* se produce un ennegrecimiento completo del trozo del tallo como resultado del desarrollo rápido del hongo sembrado. Se forman esporos en abundancia en este medio de cultivo.

##### 5. *Septoria petroselini* Desm.

Las colonias de este hongo, que produce una enfermedad foliar del perejil (*Petroselinum sativum*), presentan, en agar de papa glucosado, un desarrollo bastante bueno, llegando en unos cinco días a tener unos cinco milímetros de diámetro y extendiéndose en superficie, como mues-

tra la figura 2 de la lámina VII; el color es gris oscuro con tinte verdoso. Más tarde se observan pequeños cuerpos globosos y oscuros que constituyen los picnidos, según puede verse en la figura 3 de la misma lámina. A la madurez, estos picnidos dejan escapar por una pequeña abertura los esporos, que aparecen en forma de gotitas blancas o rosadas.

En agar glucosado al 0,2 por ciento las colonias son en general muy pequeñas, alcanzando algunas en 5-6 días, solamente un diámetro de unos dos milímetros. El aspecto característico de una de esas colonias en este medio de cultivo puede verse en la figura 1 de la lámina VII. En algunos puntos del micelio se forman cortas ramificaciones verticiladas semejantes a las de *Septoria lycopersici*. El crecimiento del micelio en forma ondulada es característico, lo mismo que en *Septoria petroselini* var. *apii*, que citaremos en seguida.

En el medio de cultivo de SABOURAUD sin azúcares, el crecimiento es menor, difundiéndose en el medio un color marrón oscuro.

En agar sintético de CZAPECK presenta igualmente poco desarrollo, crece sobre todo en profundidad y no oscurece el medio de cultivo.

En general el crecimiento en los medios artificiales es más vigoroso y abundante que el de *Septoria petroselini* var. *apii*. En tallos estériles de *Melilotus alba* se producen manchas oscuras y picnidos fértiles. El desarrollo es más rápido que en la septoria del apio.

#### 6. *Septoria petroselini* DESM. var. *apii* Br. et Cav.

En Norte América consideran este hongo como una especie aparte denominándolo *Septoria apii* ROSTR. Nosotros seguimos utilizando la designación con que figura en el catálogo de HAUMAN y PARODI citado anteriormente. Aun no hemos tenido ocasión de efectuar, como nos proponemos, las inoculaciones cruzadas en el apio y en el perejil, empleando los cultivos de ambas *Septoria* aisladas de dichos huéspedes, para observar su comportamiento recíproco.

El desarrollo de *Septoria petroselini* var. *apii* que produce en el apio (*Apium graveolens*) una enfermedad semejante a la que causa el hongo anteriormente citado en el perejil, es bastante lento en los medios de cultivo artificiales.

En agar de papa glucosado en unos quince días alcanza apenas a 2-3 mm. de diámetro. Las colonias se desarrollan preferentemente en forma elevada, con aspecto uniforme y son globosas y revestidas de un corto micelio blanco grisáceo. La diferencia más esencial de su crecimiento en este medio de cultivo comparado con el de *Septoria petrose-*

*lini* consiste en que la *Septoria* del perejil crece relativamente bien y se extiende en superficie mientras que la *Septoria* del apio crece sobre todo en elevación formando pequeñas colonias esféricas. Esta observación se refiere a los primeros cultivos obtenidos directamente por aislamiento y según puede verse comparando las figuras 2 y 4 de la lámina VII, las diferencias son bien manifiestas. En los cultivos sucesivos trasplantando los primeros, puede observarse que estas diferencias son menos acusadas como se desprende de la comparación de las figuras 3 y 5 en la misma lámina VII. En la parte inferior del tubo de la figura 5 pueden observarse los picnidos de *Septoria petroselini* var. *apii* formados en agar de papa glucosado.

En agar glucosado al 0,2 por ciento la germinación de los esporos es

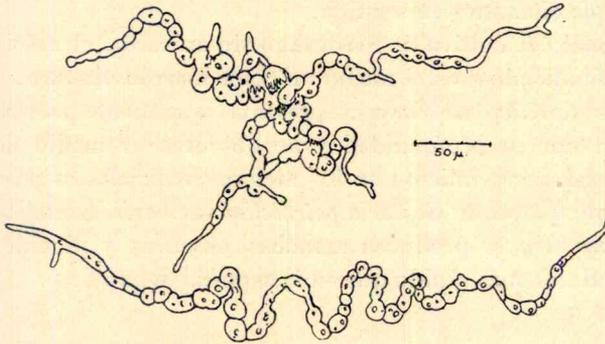


Fig. 8. — *Septoria petroselini* DESM. var. *apii* BR. et CAV.  
Colonias en agar glucosado, a los 10 días de desarrollo (aumento:  $\times 200$ )

algo lenta. Las pequeñas colonias se hallan formadas por poco micelio generalmente ondulado en forma característica. Después de unos días las células del micelio se transforman en masas globosas de contenido granuloso. La figura adjunta (fig. 8) representa dos de estas colonias con las características que acabamos de mencionar.

En tallos estériles de *Melilotus alba* al principio se produce muy lentamente un desarrollo miceliano superficial, con colonias redondeadas como en agar de papa glucosado. Mas tarde, alrededor de los veinte días se forman zonas oscuras y aparecen pequeños picnidos fértiles.

#### 7. *Septoria lactucae* PASS.

Produce una enfermedad de las hojas de la lechuga (*Lactuca sativa*) que no parece por ahora tener mucha importancia económica en nuestro país.

Los cultivos de este hongo en agar de papa glucosado están constituidos por masas superficiales elevadas sobre el medio y llenas de surcos y pequeños glóbulos según aparecen en las figuras 2 y 3 de la lámina VIII. Los cultivos de alguna edad se encuentran revestidos de un fino micelio uniforme de color ceniza (fig. 3 de la lámina VIII). En general presentan un color verdoso, con el micelio superficial corto de color más claro.

En los primeros tubos de agar de papa glucosado no se ha observado formación de esporos, a pesar de producirse pequeños receptáculos en forma de picnidos, pero que han quedado estériles. Mas tarde en cultivos en placas de PETRI con el mismo medio de cultivo y después de treinta días, se han formado picnidos fértiles mostrando masas de esporos de color levemente rosado situados hacia la periferia de las colonias.

En agar glucosado al 0,2 por ciento se forman rápidamente pequeñas colonias algodonosas de fino micelio blanco como aparecen en la figura 1 de la lámina VIII. Se producen pequeñas masas redondeadas que constituyen cuerpos semejantes a picnidos sin fructificaciones. A los diez o quince días las colonias aparecen de color verdoso y se observan claramente masas oscuras que constituyen verdaderos picnidos, pero que permanecen estériles en este medio de cultivo.

En tallos de *Melilotus alba* los picnidos fértiles, llenos de esporos aparecen en menos de quince días.

#### 8. *Monilia cinerea* BOX.

Este hongo, que constituye la forma conidiana de *Sclerotinia cinerea* STROET., produce una enfermedad grave de los pelones y durazneros. HAUMAN y PARODI (1) mencionan que durante los años 1918, 1920 y 1921 se han producido fuertes ataques de esta enfermedad en Pergamino, provincia de Buenos Aires. Nuestros cultivos han sido aislados de una muestra de pelones en estado de « momificación » recogidos en esa localidad en el verano de 1927 y que nos han sido facilitados por el ingeniero L. R. PARODI.

La germinación de los esporos se efectúa rápidamente produciéndose en la forma que muestra la figura 9 adjunta. Cada espora puede dar nacimiento a varios tubos germinativos que se extienden rápidamente y constituyen el micelio que forma la colonia.

En tubos de agar de papa glucosado el cultivo a los 4-5 días se presenta en forma de micelio superficial blanco bastante abundante. En este período de tiempo aparecen ya fructificaciones marginales de color

(1) HAUMAN, L., y PARODI, L. R., *loc. cit.*, página 237, número 38.

ceniza y de aspecto algodonoso (fig. 5 de la lámina VIII). En el centro del lugar de la siembra el micelio es blanco y sin fructificaciones. Más tarde aparecen manchones de micelio blanco (¿micelio secundario?) de desarrollo abundante. El estrato superficial del medio del cultivo se convierte en un estroma negro y consistente. En los bordes de la estria, especialmente contra las paredes de vidrio, aparecen pequeños puntitos negros (¿pequeños esclerotos?) En algunos medios de cultivo ensayados (como el agar glucosado ácido) el hongo produce un pigmento amarillo bastante intenso. En general, el desarrollo vegetativo de este hongo, es bastante abundante en los medios de cultivo artificiales y la

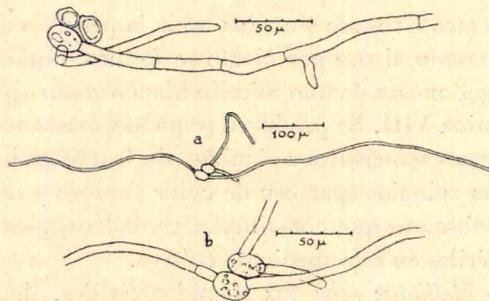


Fig. 9. — *Monilia cinerea* Box.

Germinación de esporos en agar glucosado, a las 24 horas (aumento:  $\times 200$ ); (a, aumento:  $\times 80$ )

esporulación se efectúa con facilidad. No han sido observadas, en cultivo puro, fructificaciones del estado perfecto (apotecios con ascos y ascosporos).

#### 9. *Cercospora beticola* Sacc.

Es el causante de una enfermedad foliar de la acelga (*Beta vulgaris cicla*) y de la remolacha (*Beta vulgaris*).

Nuestros cultivos de este hongo provienen de una muestra de acelga fuertemente atacada, recogida en Morón (Prov. de Buenos Aires).

En los medios de cultivo artificiales, este hongo desarrolla con gran facilidad. En agar de papa glucosado, en unos 4-5 días, alcanza 1 diámetro de más de 1 cm. y presenta un color verde amarillento característico; se extiende en superficie formando colonias algo elevadas y de forma regular. A los 7-8 días aparece un fino micelio superficial más blanco y muy ramificado. Los cultivos presentan entonces el aspecto que muestran en las figuras 1 y 2 de la lámina IX. En preparaciones microscópicas de trozos de un cultivo de 8 días en agar de papa glucosado se encuentran hifas oscuras y gruesas, y otras claras y más finas. Algunas presentan unas puntuaciones que semejan pequeños botones sa-

lientes distribuidos a lo largo en algunos segmentos de las hifas. Especialmente el micelio que ha crecido dentro del medio de cultivo es siempre de color marrón oscuro.

En agar glucosado al 0,2 por ciento se obtiene un desarrollo bastante abundante y un color verde pronunciado, muy característico. Las colonias se ramifican abundantemente, como muestra la figura 3 de la lámina IX, y en unos 5 días alcanzan un diámetro de 3-4 mm.

En tallos estériles de *Melilotus alba* el micelio cubre rápidamente el trozo de tallo, adquiriendo un color verdoso oscuro. Más tarde aparecen partes de color claro constituidas por micelio más fino.

No hemos observado fructificaciones características de este hongo en ninguno de estos medios de cultivo, ni en papa esterilizada. En agar de papa glucosado y en tallos de *Melilotus alba* se forman porciones de micelio que parecen corresponder a fructificaciones anormales de *Cercospora*, pero nunca han sido observadas estas últimas en forma característica. Por los datos que se encuentran en la bibliografía, este comportamiento parece ser bastante común para los hongos del género *Cercospora* aislados en cultivo puro en medios artificiales (1).

#### 10. *Claviceps deliquescens* (SPEGAZZINI) HAUMAN

Esta designación fué dada por HAUMAN y PARODI (2) a un hongo descrito por SPEGAZZINI bajo el nombre de *Ustilagopsis deliquescens* (3). Este interesante organismo es considerado el causante de una enfermedad de las espigas de *Paspalum dilatatum*, gramínea conocida comúnmente con el nombre de «pasto miel», precisamente por la presencia de una secreción azucarada originada por el ataque del hongo que nos ocupa.

*Claviceps deliquescens* debe ser considerado, con toda probabilidad, como un sinónimo de *Claviceps paspali* STEVENS and HALL (4), hongo descrito sobre el mismo huésped en Norte América, en 1915, con esclerotos, ascos y ascosporos, y la forma imperfecta correspondiente al género *Sphacelia*. En nuestro país la forma descrita por SPEGAZZINI como *Ustilagopsis*, ha sido considerada más tarde por HAUMAN y PARODI como

(1) Confrontar WOLF, F. A., *Pomegranate blotch*, en *Jour. of Agr. Res.*, volumen 35, número 5, 1927.

(2) HAUMAN, L., y PARODI, L. R., *loc. cit.*, página 240, número 50.

(3) SPEGAZZINI, C., *Fungi Argentini II*, en *Anales de la Sociedad científica argentina*, tomo IX, página 278, número 27, 1880.

(4) BROWN, H. B., *Life History and poisonous properties of Claviceps paspali*, en *Journal of Agricultural Research*, tomo VII, número 9, página 401, 1916.

la forma *Sphacelia* del género *Claviceps*; dichos autores han comprobado, por otra parte, la formación de los esclerotos en un período más avanzado de la evolución de la forma *Sphacelia*.

La germinación de dichos esclerotos y la consiguiente formación de ascosporos, que completarian el ciclo, no ha sido aún observada en nuestro país y sería ciertamente interesante establecer su existencia.

En nuestros ensayos de aislamientos de hongos parásitos hemos conseguido la germinación de los esporos de la forma *Sphacelia* y la separación del micelio resultante al estado puro. La germinación se efectúa como indica la figura adjunta (fig. 10), por la formación de varios tubos germinativos que se alargan paulatinamente y se ramifican con frecuencia hasta la formación de un micelio que presenta el aspecto de la figura 1

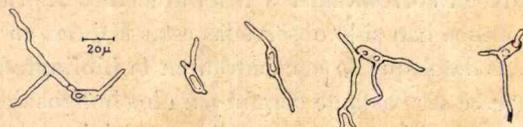
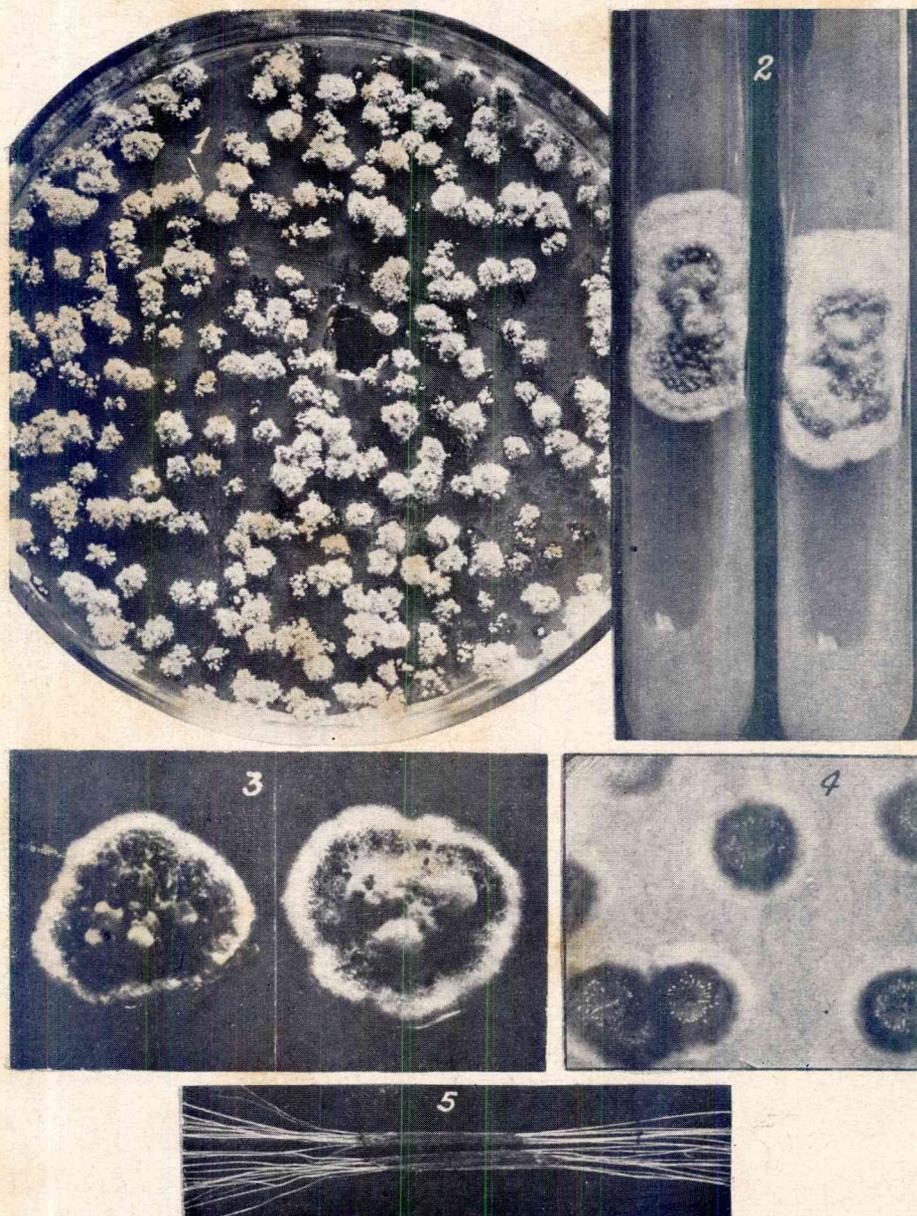


Fig. 10. — *Claviceps deliquescens* (SPEG.) HAUMAN (forma *Sphacelia*)  
Germinación de esporos a las 24 horas en agar glucosado (aumento:  $\times 200$ )

de la lámina X. Especialmente las colonias superficiales en placas de PETRI, semejan pequeños copos de algodón blanco.

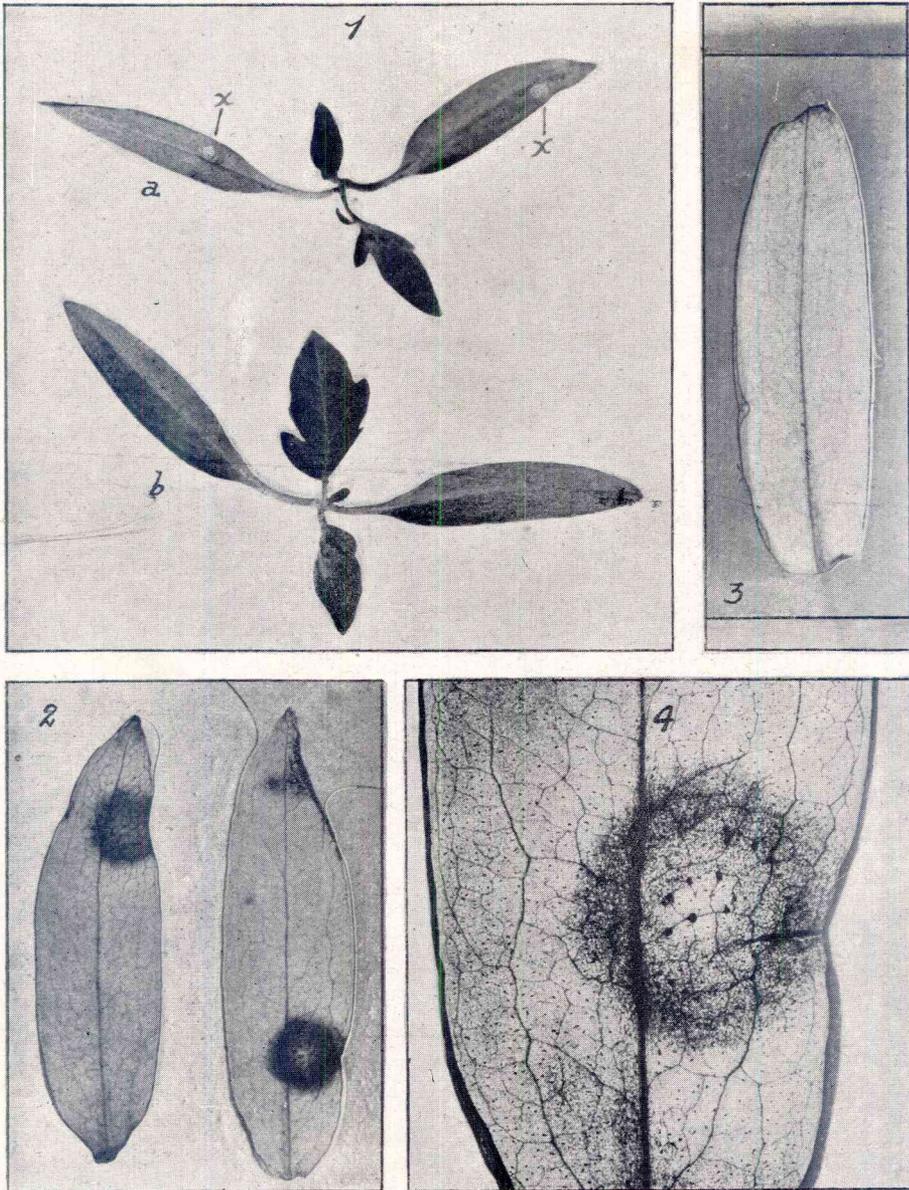
Los cultivos en tubos de agar de papa glucosado, producen un desarrollo de micelio muy denso, superficial y completamente blanco, presentando a los 10 días el aspecto reproducido en la figura 2 de la misma lámina. En muchos tubos aparecen gruesas gotas de líquido transparente e incoloro, o algo amarillento, distribuidas sobre el micelio, quizá por exudación o por condensación de agua.

En agar común de carne glucosado el desarrollo es mucho menor, limitado y coherente, presentando el aspecto de la figura 3 de la lámina X. En trozos de tallos estériles de *Melilotus alba* el desarrollo no es muy abundante y está constituido igualmente, como en el caso del agar de papa glucosado, por micelio blanco, denso y superficial. En ninguno de los medios mencionados ha podido conseguirse, con este hongo, la formación de fructificaciones; hasta ahora únicamente disponemos, pues, de la forma vegetativa mencionada, en nuestros tubos de cultivo puro de este exigente organismo. Continuamos, sin embargo, ensayando otros medios de cultivo, en la esperanza de obtener la formación de esporos en condiciones artificiales.



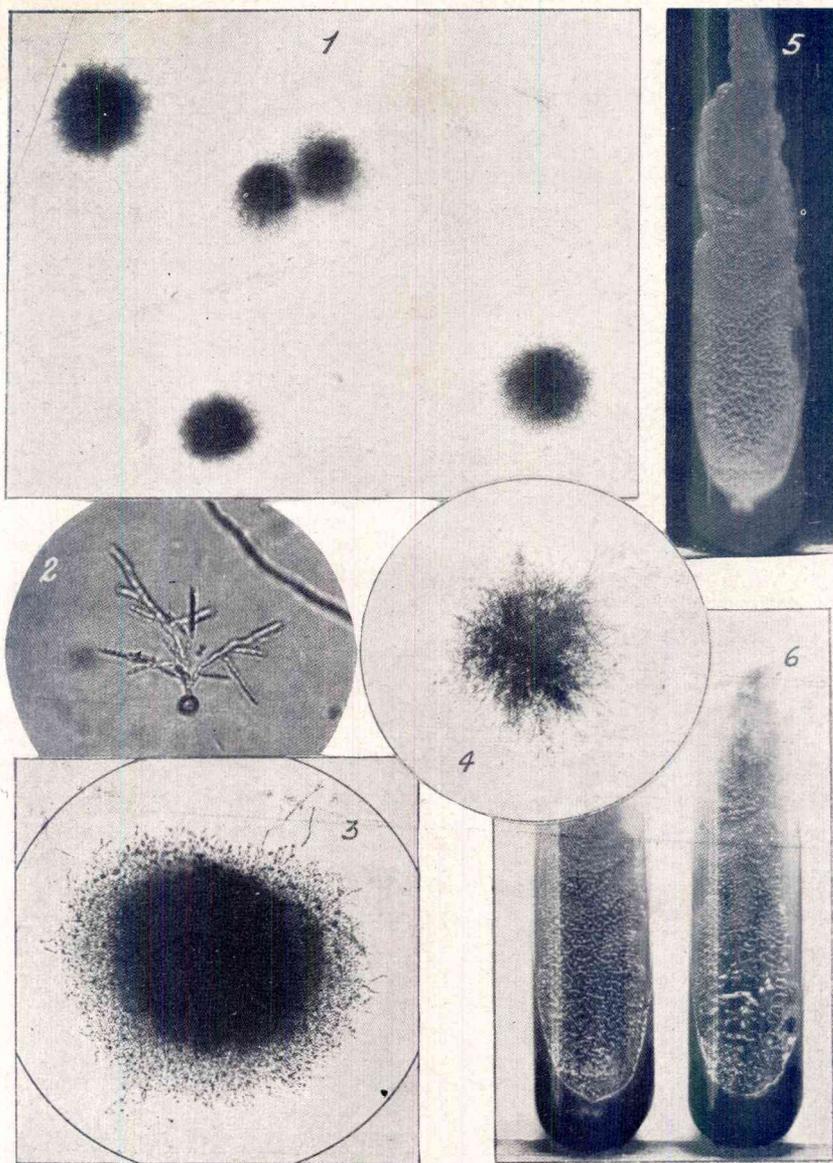
EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA I

*Phlyctaena ? linicola* Speg. — 1, cultivo de 12 días en placa de agar de papa glucosado. 2, cultivo de 18 días en tubos (nótese la masas de esporos). 3, dos colonias superficiales algo aumentadas. 4, colonias en placa de Petri vistas inferiormente para mostrar las masas de esporos, en forma lenticular, abiertas en el agar. 5, fibras de un lino enriado, atacado de «pasmus».



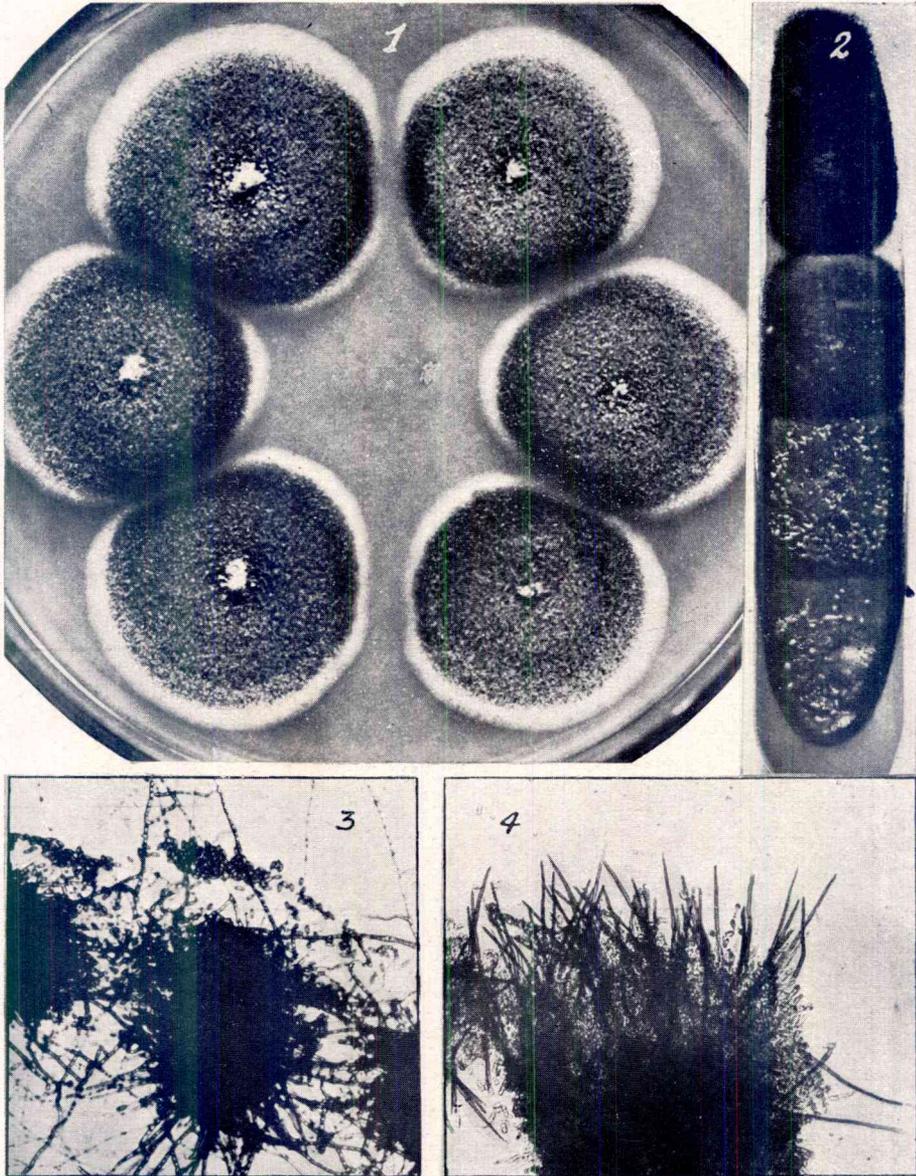
EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA IV

*Septoria lycopersici* Speg. — 1, a) plantita de tomate (*Lycopersicum esculentum*) inoculada artificialmente con cultivos puros (en x dos lesiones características); b), testigo no inoculado. 2, los cotiledones de una plantita inoculada, con lesiones. 3, cotiledón de un testigo no inoculado. 4, lesión con picnidos, obtenida por inoculación artificial.



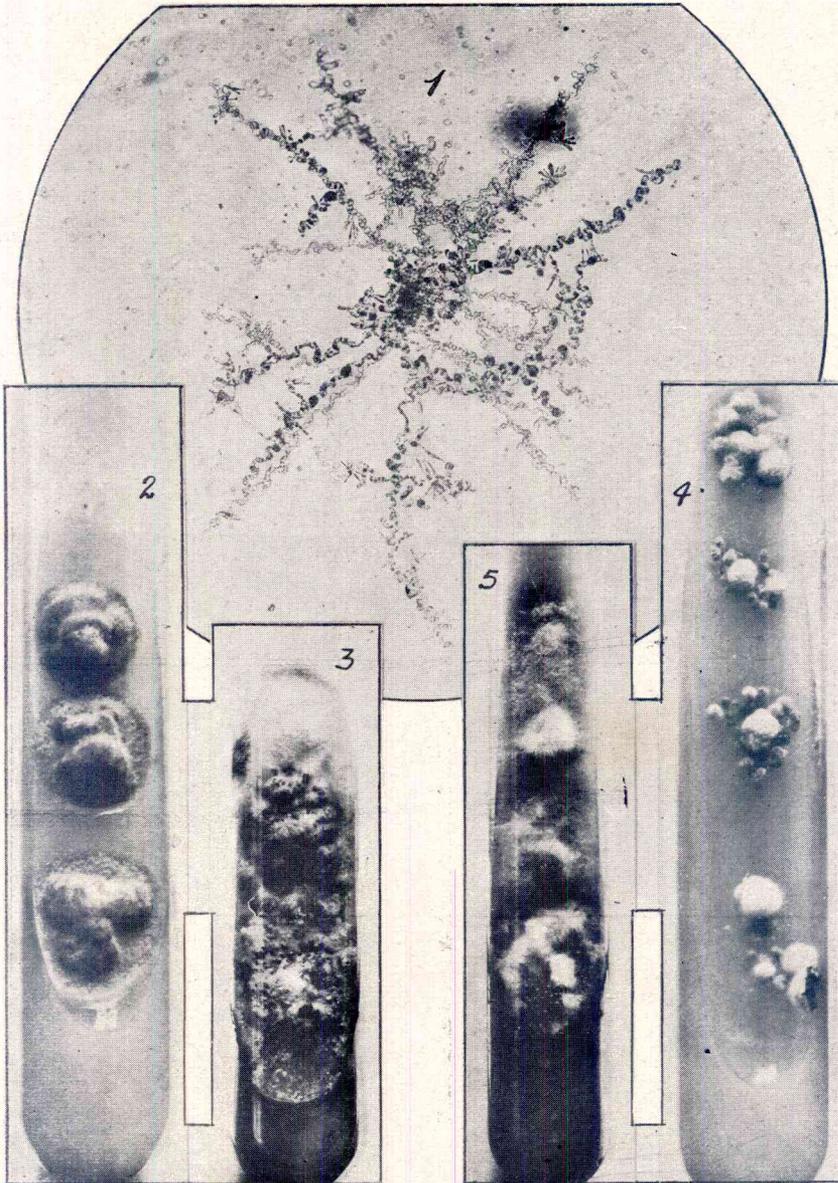
EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA V

*Ustilago maydis* (D. C.) Tul. — 1, aspecto de las colonias en agar glucosado a los 4 días ( $\times 30$ ). 2, germinación de un espora ( $\times 280$ ). 3, colonia superficial ( $\times 90$ ). 4, colonia profunda ( $\times 60$ ). 5 y 6, cultivos en tubos de agar de papa glucosado y agar de zanahoria.



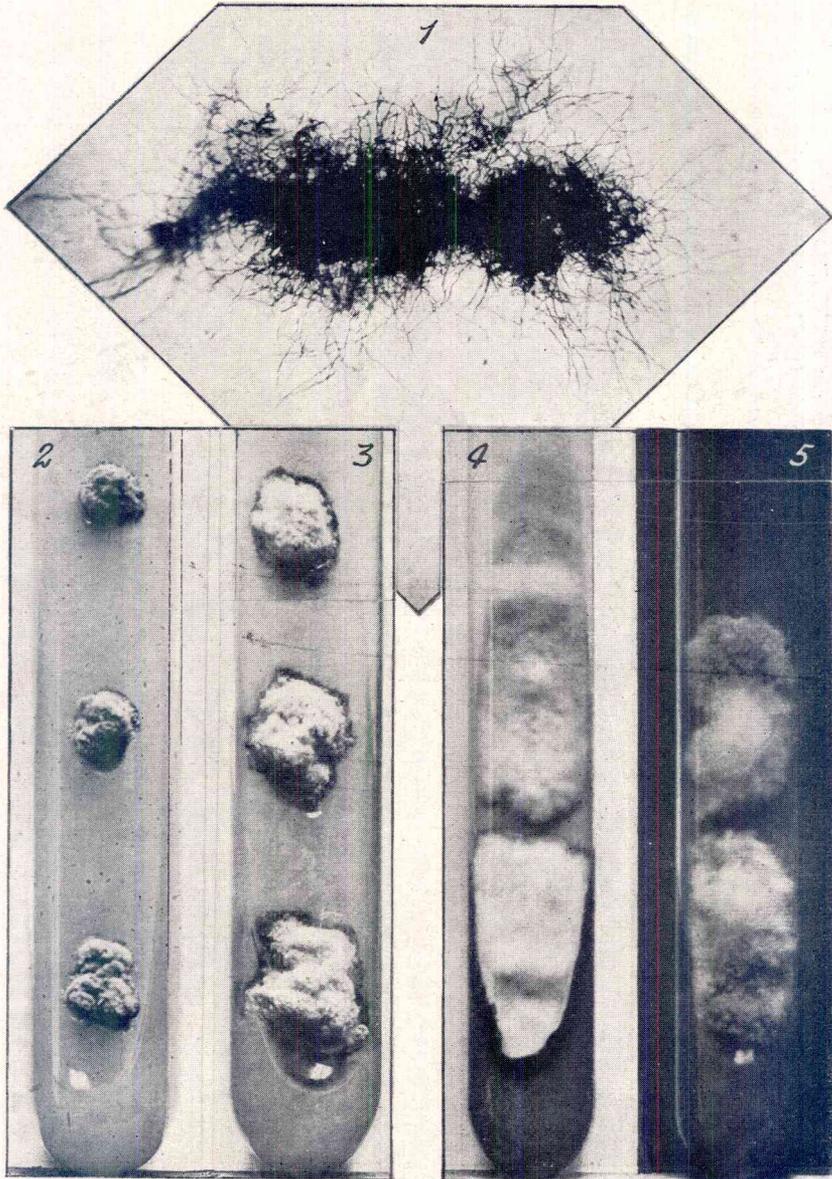
EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA VI

*Colletotrichum lindemuthianum* (SACC ET MAGS.) BR. ET CAV. — 1, cultivo de 8 días en placa de agar de papa glucosado. 2, cultivo en tubo a los 20 días, con abundante esporulación. 3, colonias en agar glucosado (nótese la formación de esporos) (X 120). 4, pelos de *Colletotrichum* obtenidos en cultivo (X 145).



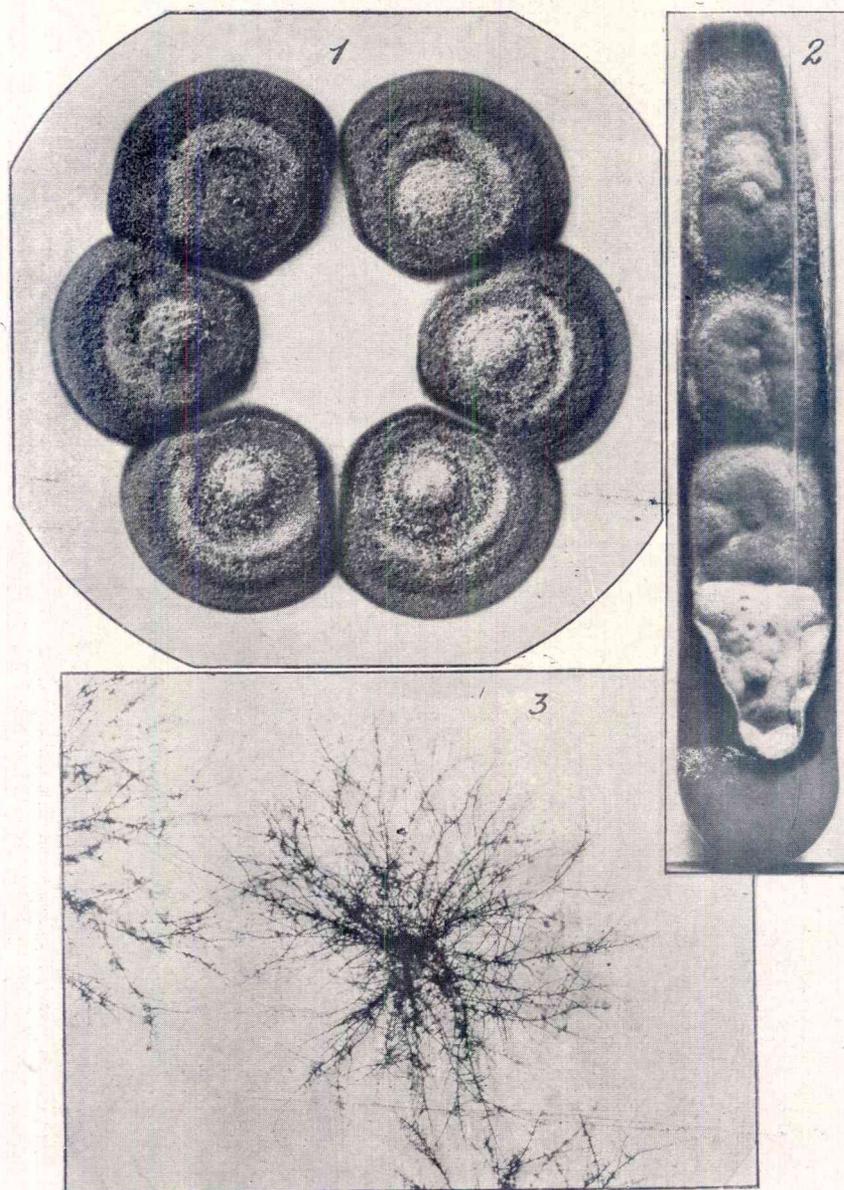
## EXPLICACION DE LA LÁMINA VII

*Septoria petroselini* DESM. y *Sept. petr.* DESM. var. *apii* BR. ET CAV. — 1, colonia de *Septoria petroselini* en agar glucosado a los 20 días ( $\times 60$ ). 2 y 3, cultivos de *Sept. petroselini* en tubos de agar de papa glucosado. 4 y 5, cultivos de *Sept. petroselini* var. *apii* en el mismo medio de cultivo (el 3 y el 5 provienen del 2 y el 4 respectivamente).



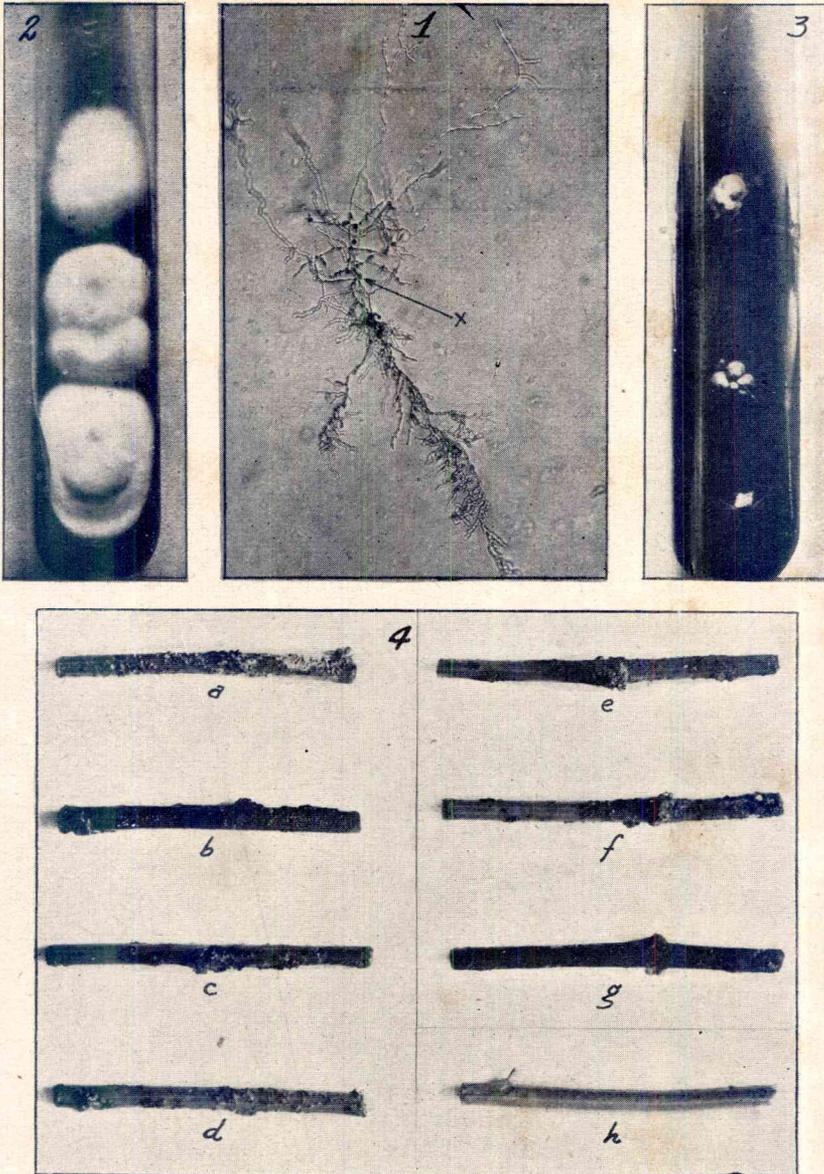
EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA VIII

*Septoria lactucae* Pass. y *Monilia cinerea* Box. — 1, colonia de *Septoria lactucae* en agar glucosado a los 7 días ( $\times 65$ ). 2 y 3, cultivos de *Sept. lactucae* en tubos de agar de papa glucosado. 4 y 5, cultivos de *Monilia cinerea* en el mismo medio de cultivo.



EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA IX

*Cercospora beticola* Sacc. — 1, cultivo en agar de papa glucosado a los 10 días.  
2, cultivo en tubo a los 15 días. 3, colonia de 4 días en agar glucosado ( $\times 20$ )



## EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA X

1, espora (x) y colonia de 5 días, de *Claviceps deliquescens* (Speg.) Hauman (forma *Sphaelias* (X 88).  
 2 y 3, cultivo del mismo organismo en agar de papa glucosado y en agar de carne glucosado, a los 15 días. 4, cultivos en trozos estériles de tallo de *Melilotus alba*, de: a), *Phlyctaena? linicola*; b), *Colletotrichum lindemuthianum*; c), *Septoria lycopersici*; d), *Sept. lactucae*; e), *Sept. petroselinii*; f), *Sept. petr. var apii*; g), *Cercospora beticola*; h), testigo no inoculado.