

# ANALISIS CUALITATIVO DE LA VARIABILIDAD CULTURAL DE *SEPTORIA TRITICI*<sup>1</sup>

Por CRISTINA A. CORDO<sup>2</sup> y JUAN C. LINDQUIST<sup>3</sup>

## SUMMARY

*Septoria tritici* (Rob. et Desm.), cause of leaf blotch of wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) exhibited cultural variability into the nine cultures isolated. The cultural variability was observed into the same generation and furthermore into members of different generations of cultures.

Cultures from field collection of *S. tritici* were established from single spore transfers on CZDV'8 and APS. Produced stromatic and pycnidial colonies. Some cultures of pycnidial type show a marked tendency to produce mycelial type variants. Moreover, other cultures of pycnidial type show stability.

The variable cultural characters were: colour, area, mycelial structures, growth speed, sporulation.

The saltation was very common into the cultures after some transfer generations. They dominated on CZDV'8; moreover, they were produced on all nutritive media. Only one culture was returned to original type with loss of sporulation.

## INTRODUCCION

*Septoria tritici* (Rob. et Desmasieres) = *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter, es uno de los principales problemas de sanidad del cultivo de trigo. Las cepas aisladas desde material infectado a campo y transferidas monospóricamente a Czapeck Dox V'8 resultaron esporulantes a través de sucesivos subcultivos monospóricos. Se observó una considerable variación de caracteres culturales que no fue constante para todas las cepas. Esta variación se estudió y se presenta en este trabajo.

Pocos trabajos sobre variabilidad cultural en especies de *Septoria* se han publicado. Johnson (1952) observó en *S. avenae* dos tipos

---

<sup>1</sup> Trabajo realizado en las Cátedras de Fitopatología y Cerealicultura, Facultad de Agronomía, U.N.L.P.

<sup>2</sup> Dr. En Ciencias Naturales, Botánica, Investigador Adjunto de la C.I.C. Pcia. de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Ing. Agrónomo, Profesor Emérito, Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, U.N.L.P.; Codirector: Ing. Agr. Héctor O. Arriaga.

de variantes culturales: el tipo *miceliar*, presente en el cultivo original (con micelio claro, abundante, picnidios escasos y sustrato de color castaño) y el tipo *picnidial*, originado como variante desde el primero, por sucesivos reaslamientos monospóricos (con micelio oscuro, abundantes picnidios y sustrato pigmentado de color verde azulado). La variante picnidial tuvo una tendencia marcada a revertir hacia el tipo miceliar a través de nuevos reaslamientos monospóricos. Los sucesivos reaslamientos monospóricos no aseguraron mantener tipos culturales estables.

Scharen y Krupinsky (1970) estudiaron la variabilidad de *S. nodorum* en 9 generaciones de transferencia monospórica, observando diferencias en el color del micelio, hábito de crecimiento, número y formación de picnidios, esporas y patogenicidad.

Hooker (1957) observó que distintas cepas monospóricas de *S. avenae* que crecían en APS, variaron en cuanto a velocidad de crecimiento, esporulación y otros caracteres culturales. Esta variabilidad apareció en la 3° o 4° generación de transferencia monospórica y a través de subsiguientes subcultivos se alcanzaron tipos culturales estables. En pruebas de patogenicidad se comprobó que la virulencia de los cultivos estabilizados, derivados de aislamientos monospóricos o de ápice de tubo germinativo, también variaron.

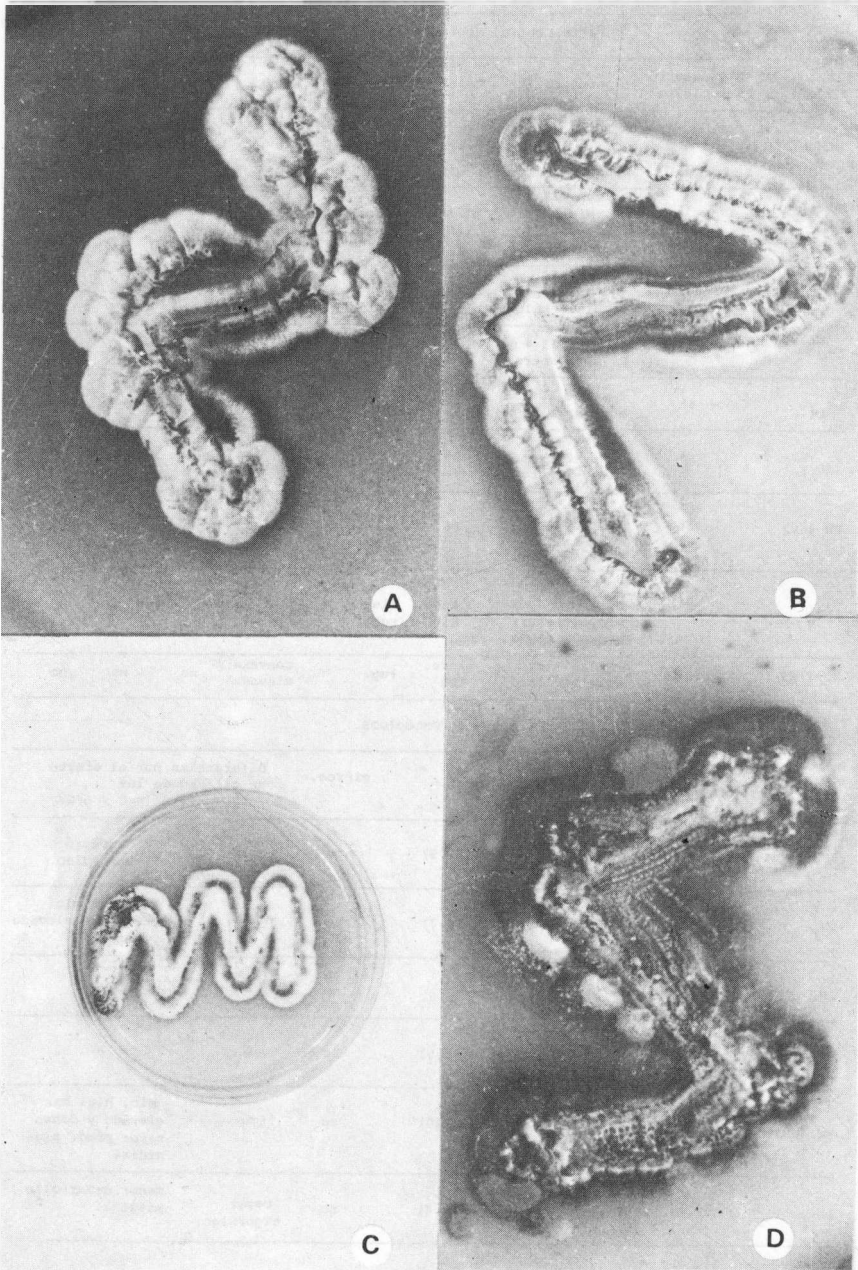
La conducción de planes de incorporación de germoplasma resistente a una enfermedad exige trabajar con cepas cultural y patogénicamente estables. De esta forma se garantizaría un comportamiento constante de los cultivares probados a través de las generaciones. De aquí la necesidad de conducir este análisis cualitativo sobre la variabilidad cultural de *S. tritici*. Las pruebas se realizaron en La Plata y se describe el comportamiento cultural de 9 cepas, de distinta procedencia, a través de sucesivas generaciones de reaslamiento monospórico.

#### MATERIAL Y METODO

Los cultivos de *S. tritici* fueron aislados desde hoja de trigo infectado de distintos cultivares y diversas localidades trigueras. Todas las cepas se aislaron monospóricamente en distintos años. Se

---

Fig. 1. — A: Cepa 38388 C. D.; crecimiento en medio CZDV'8; 25<sup>a</sup> generación de reaslamiento monospórico; tipo constante en morfología y esporulación (aumento x 1). B: Cepa LH<sub>1</sub>; crecimiento en medio CZDV'8; 5<sup>a</sup> generación; tipo estromático (aumento x 1). C: 6<sup>a</sup> generación; tipo miceliar (aumento x 0,50). D: Cepa LH<sub>14</sub>; crecimiento en medio CZDV'8; 4<sup>a</sup> generación; tipo estromático original (aumento x 1).



CUADRO 1 - Caracteres culturales desarrollados en medio CZAPECK DOX V'S

Parte central de la colonia								
CEPAS	NºGeneración subcultivo	Aspecto	Color	Superficie	Altura	Pigm. difus.	Picn.	Cuerpo estér.
38388 C.D.	mas de 5	con. II + E. hifas cor- tas afieltr. laxo	117	rugosa - surc.	elev.	no	no	no
LH <sub>1</sub>	6°	con. II + E. mic. hial. afieltr. laxo afieltr. dens.	blanc. 120	lisa - rugosa	elev. a convexa	no	no	no
LH <sub>2</sub>	4°	con. II h. brill. m. hial. raro	55	lisa - pleg.	difusa	no	no	no
LH <sub>3</sub>	4°	con. II + E. mic. aterc.	127	lisa - surc.	convexa	no	no	no
LH <sub>14</sub>	4°	con. II húm. brill.	58	lisa	difusa	no	no	no
P <sub>46</sub>	5°	con. II + mic. afieltr. laxo - dens.	105	lisa - surc.	marcad. convexa	no	no	no
BW 4682	4°	con. II húm. brill. + mic. algod. denso	86	lisa	elevada	no	no	no
LHT <sub>9</sub>	6°	con. II húm. brill. + mic. afieltr. denso a algod.	blanc. 85	lisa - rugosa	lig. conv. elevada	no	no	no
M <sub>2-9-82</sub>	2°	E + mic. afieltr. laxo	blanc. 119	rug.	convexa elevada	no	no	no
Caracteres microscópicos								
CEPAS	Tamaño S / LCUV	conidios C / LCUV	microc.	Diferencias por el efecto de calidad de luz				
				S / LCUV	C / LCUV			
38388 C.D.	1 - 4 sep. (18,6) 28,6 (35,7) x 1,4 um	1 - 4 sep. (21,4) 30 (42,9) x 1,4 um	no	--		aceleró esporulac.		
LH <sub>1</sub>	1 - 2 sep. (17,1) 21,4 (28,6) x 1,4 um	1 - 2 sep. (21,4) 25,7 (35,7) x 1,4 um	no			estimuló mic. hial. mas elevado y denso		
LH <sub>2</sub>	1 - 2 sep. (20) 24,3 (32,9) x 1,4 um		no	--		no		
P <sub>46</sub>	3 sep. (34,3) 42,9 (55,6) x 1,4 um	3 sep. (35,7) 42,9 (58,5) x 1,4 um	no	--		--		
BW 4682	1 - 4 sep. (21,4) 30 (42,9) x 1,4 um	1 - 3 sep. (21,4) 28,6 (40) x 1,4 um	no			mic. hial mas elevado y denso mayor prod. pic- nidial		
LHT <sub>9</sub>	1 - 3 sep. (27,1) 35,3 (52,1) x 1,4 um	1 - 3 sep. (30,0) 41,4 (55,4) x 1,4 um	no	mayor. esporulac.		menor desarrollo marginal		

## Parte marginal de la colonia

Aspecto	Color	Superf.	Altura	Borde	Color reverso	Pigm. dif.	Picn.	Cuerpos estéril.	Zonac.
E afeiltr. denso - aterciop.	117 118	surcos pliegue	elevada convexa	entero	122	no	sí	no	sí
E afeiltr. denso - aterciop.	120 125 122	surco	elevada convexa	entero	108	no	sí	no	sí
E aterciop. algod.	117 118	rugos.	convexa	ondul.	104	no	no	no	sí
E afeiltr. denso	117	lisa	elevada	filam.	124	no	sí	sí	sí
mic. cordé mic. afeiltr.	55 63	lisa lisa	convexa difusa	entero "	58 104	no	no	no	no
E + mic. afeiltr. denso algod. laxo	105	lisa surcos	convexa lig. convexa	entero	58 104	no	sí	sí	sí
E + mic. afeiltr. laxo	118	lisa surc.	lig. convexa	filam.	104	no	sí	sí	sí
E mic. hial. afeiltr. denso algod. laxo	118	lisa pleg.	difusa	filam.	87 119	no	sí	sí	sí
E mic. afeiltr. denso	118	lisa	elevada convexa	ondul.	124	no	sí	sí	sí

Sectorización	con micelio profundo mas allá del borde
sí	no
sí	no
no	sí
sí	sí
sí	sí
sí	sí

CUADRO 2 - Caracteres culturales desarrollados en medio APS

CEPAS	Parte central de la colonia							Parte marginal de la colonia								
	Nº Generación de subcultivo	Aspecto	Color	Superf.	Altura	Pigm. difus.	Cuerpos estéril.	Aspecto	Color	Superf.	Altura	Borde	Color reverso	Picnid.	Cuerpos estéril.	Zonac.
38388 C.D.	mas de 5	con. II húm. brill.	61 104	rugoso granular	elevada difusa	no	no	E + con II mic. arieltr. denso - al- god. laxo	119 108	lisa surcos	muy convexa	entero	--	sí	no	sí
LH <sub>1</sub>	6°	E mucoso afieltr. laxo	122	rugosa	lig. convexa	no	no	mic. aéreo algod. denso	B 122	lisa surco.	convexa	entero	108	no	no	sí
LH <sub>2</sub>	4°	mic. aéreo algod. denso	117 B	liso elevada	elevada	no	no	mic. aéreo algod. denso	B 117	lisa	elevada	filam.	104	sí	no	sí
LH <sub>3</sub>	4°	mic. aéreo afieltr.	117	liso	elevada	no	sí	mic. aéreo algod. denso	B 117	lisa	difusa	entero	124	sí	no	sí
LH <sub>14</sub>	4°	mic. aéreo algod. laxo	83 124	surcos	elevada	no	no	E + mic. al- god. laxo	B 124	lisa	difusa	entero	107 124	sí	sí	sí
P <sub>46</sub>	5°	E + mic. afieltr. laxo	118	rugosa	difusa elevada	no	sí	E + mic. afieltr. den- so	B 118	lisa	convexa	lob.	104	sí	no	no
BW 4682	4°	con. II húm. brill.	86	lisa	convexa	no	no	E + mic. afieltr. laxo	104	lisa	lig. convexa	filam.	104	sí	no	sí
LHT <sub>9</sub>	6°	con. II + E demic. afieltr. laxo	108	rugosa	convexa	no	sí	E mic. afieltr.	124	lisa	difusa	filam.	119	no	no	sí
M <sub>2</sub> -9-82	2°	E + mic. algod. laxo	104	rugosa	convexa	no	sí	E + mic. algod. laxo	119	lisa	difusa	filam.	104	sí	no	no

CUADRO 3 - Caracteres culturales desarrollados en medio AM

Parte central de la colonia								Parte marginal de la colonia								
CEPAS	N° Generación de subcultivo	Aspecto	Color	Superf.	Altura	Pigm. difus.	Cuerpos estéril.	Aspecto	Color	Superf.	Altura	Borde	Color reverso	Picnid.	Cuerpos estéril.	Zonac.
38388 C.D.	mas de 5	con. II húm. brill. algod. denso	61	rugosa	lig. convexa	no	no	afieltr. a algod.	119 118	lisa	elevada	entero ondul.	45 119	sí	no	sí
LH <sub>1</sub>	6°	con. II mic. algod. denso	117 85	lisa rugosa	elevada	no	no	algod. denso	B 117	lisa	elevada	entero	108	no	sí	sí
LH <sub>2</sub>	4°	mic. hial. algod. laxo	B	lisa	elevada	no	no	algod. denso	B	lisa	elevada	lobul.	85	sí	no	no
LH <sub>3</sub>	4°	mic. hial. algod. laxo	B	lisa	elevada	no	no	algod. denso	B	lisa	elevada	enter. lobul.	85	sí	no	no
LH <sub>14</sub>	4°	con. II mic. algod. laxo	B	surcos	elevada	no	no	algod. denso	B 117	lisa	convexa	enter.	119	sí	sí	sí
P <sub>46</sub>	5°	con. II húm. brill.	61	lisa rugosa	lig. convexa	no	no	con. II + mic. afieltr.	61 121	rugos.	elevada	erosion.	61 104	sí	no	no
BW 4682	4°	con. II mic. algod. laxo	61	lisa rugosa	lig. convexa	no	no	E + mic. afieltr. denso	B 108	lisa	lig. convexa	filam.	86 119	sí	no	no
LH <sub>9</sub>	6°	con. II* húm. brill.	61 48	lisa rugosa	elevada convexa	no	no	mic. ras. profundo	108	lisa	difusa	entero	108	no	no	sí
M <sub>2-9-82</sub>	2°	con. II húm. brill.	87	rugosa	convexa	no	no	E + mic. afieltr. laxo a algod. dens.	119 B	lisa	lig. convexa	filam.	87 104 106	sí	no	sí

mantuvieron por reaislamientos monospóricos sucesivos (Cordo, 1979) en estrías de CZDV'8.

*Las cepas utilizadas son:*

- 38388 C.D., aislada desde el cultivar Buck Napostá en Agosto de 1974; procedencia, Coronel Dorrego.
- LH<sub>1</sub>, LH<sub>2</sub>, LH<sub>3</sub>, LH<sub>14</sub>, aisladas desde distintas líneas de trigo, pertenecientes a un ensayo comparativo de rendimiento en Noviembre de 1980; procedencia, Los Hornos, La Plata, Provincia de Buenos Aires.
- LHT<sub>9</sub>, aislada desde una línea de triticale en 1980; procedencia, Los Hornos, La Plata.
- P<sub>46</sub>, aislada desde una variedad no identificada de trigo en 1980; procedencia, Fontezuela, Pergamino.
- BW 4682, aislada del C.V. Chasicó INTA en 1981; procedencia, Barrow, Tres Arroyos, Provincia de Buenos Aires.
- M<sub>2</sub>-9-82, aislada del cultivar Buck Cencerro en 1982; procedencia, Miramar, Provincia de Buenos Aires.

En el momento de realizar la experiencia las cepas eran conducidas por la 4° a 6° generación de reaislamientos.

La observancia de los caracteres culturales se realizó en 3 medios nutritivos: agar-papa-sacarosa (APS), agar malta (AM), y Czapeck Dox V'8 (CZDV'8). Se sembraron para cada cepa y cada medio 6 cajas de Petri de 12 cm. La siembra de conidios secundarios provenientes de una colonia monospórica se realizó en Zig-Zag (Lee y Jones, 1974) y los cultivos se incubaron durante 28 días en cámara de cría a 22°C y 12 hs de luz, y una intensidad lumínica de 3400 lux. Una serie duplicada de todas las cepas en Czapeck Dox V'8 se sometió al efecto de la luz cercana al ultravioleta (tubo TL 40 W/68 RSF 40 BLB Holanda) para ver su incidencia en la formación de esporas. Se examinaron en total 380 cajas.

En todas las cepas se observó: color de micelio o estroma (Rayner, 1970), textura, aspecto, color del reverso, pigmentos difusibles (Garassini, 1958), presencia de zonación y sectorización. En cuanto a los caracteres microscópicos se observaron diferencias en tipo y tamaño de micelio, tipo y tamaño de conidios, midiendo 200 conidios de cada cepa.

Las cepas que mostraron variación en la misma generación fueron repicadas registrando el comportamiento correspondiente de las siguientes generaciones.

## RESULTADOS

A través de las distintas generaciones, algunas cepas mostraron variaciones culturales o de esporulación (LH<sub>1</sub>, LHT<sub>9</sub>, P<sub>46</sub>, LH<sub>4</sub>, BW 4682, M<sub>2</sub>-9-82), mientras otras se mantuvieron constantes (38388 C.D., LH<sub>2</sub>, LH<sub>3</sub>).

Los caracteres culturales para cada uno de los medios ensayados son los siguientes:

#### *Czapeck Dox V'8 (CZDV'8) (Cuadro 1)*

En la zona *central* de la estría predominan los conidios secundarios de aspecto húmedo y brillante, acompañados por micelio afieltrado laxo a denso o algodonoso denso. El color de los conidios secundarios y micelio varió desde el blanco, crema, vináceo, al gris en sus distintas gamas (Rayner, 1970).

La zona *marginal* presenta estroma revestido por micelio afieltrado laxo a denso (Fig. 1A) y aún algodonoso denso (Fig. 1B). Sólo LH<sub>14</sub>, en la 4° generación formó micelio "cordé" que se repitió en una sectorización.

El color del micelio varió desde el rosado hasta el gris en sus distintas gamas. Los caracteres morfológicos, como superficie, altura, borde, variaron levemente entre las distintas cepas. Los picnidios se originaron con mayor frecuencia en la zona *marginal*.

La formación de zonaciones alternadas se ha visto en todas las cepas a excepción de LH<sub>14</sub> y M<sub>2</sub>-9-82; de igual forma, las sectorizaciones más claras que todo el micelio predominaron en todas las cepas, a excepción de LH<sub>2</sub> (Figs. 2G, 3J y 3K).

El efecto de la luz cercana al ultravioleta se puede resumir en las siguientes características:

- produjo esporulación más temprana en las cepas 38388 C.D. y LH<sub>1</sub>.
- estimuló el desarrollo de micelio hialino más elevado y denso en LH<sub>1</sub> y BW 4682 (Fig. 3K). Contrariamente, a LHT<sub>9</sub> le produjo inhibición del desarrollo de micelio *marginal*. Las restantes cepas no se vieron afectadas por la diferencia de calidad de luz.

#### *Agar-papa-sacarosa (APS) (Cuadro 2)*

En las cepas 38388 C.D. y BW 4682, la zona *central* es húmeda y brillante por los conidios secundarios; en las restantes, los conidios se estromatizan y revisten de micelio afieltrado a algodonoso. Formaron picnidios las cepas P<sub>46</sub>, LHT<sub>9</sub> y M<sub>2</sub>-9-82, y cuerpos estériles, LH<sub>3</sub>.

La zona *marginal* es estrómatica a excepción de las cepas LH<sub>1</sub>, LH<sub>2</sub> y LH<sub>3</sub> que sólo desarrollaron micelio algodonoso denso. Los caracteres morfológicos como: superficie, altura y borde variaron según la cepa. En esta zona no produjeron picnidios LH<sub>1</sub>, LH<sub>3</sub> y LHT<sub>9</sub>, y produjo cuerpos estériles LH<sub>14</sub>.

Las sectorizaciones aparecieron en LH<sub>1</sub>, LH<sub>3</sub> y LH<sub>14</sub>.

*Agar-malta (AM) (Cuadro 3)*

La zona *central* de la estría está constituida invariablemente por conidios secundarios de aspecto húmedo y brillante que, según la cepa, se revisten de micelio algodonoso.

El color de la masa conidial es rosado y el del micelio es blanco o gris claro. No se forman ni picnidios ni cuerpos estériles.

La zona *marginal* está constituida sólo por micelio algodonoso a afieltrado denso, observando estromatización en LH<sub>14</sub>, BW 4682 y M<sub>2</sub>-9-82. El color del micelio varía desde el blanco al gris en sus distintas gamas. La superficie es predominantemente lisa y elevada, a excepción de P<sub>46</sub> en que es rugosa. El borde, para este medio, se presenta con mayor variación. No produjeron picnidios en esta zona LHT<sub>9</sub> y LH<sub>1</sub>; LH<sub>14</sub> produjo cuerpos estériles. Las únicas cepas que no desarrollaron zonación ni sectorizaciones fueron LH<sub>2</sub> y LH<sub>3</sub>.

*Caracteres microscópicos*

Todas las cepas se examinaron para estudiar diferencias en el tipo y tamaño de micelio. Se desarrollaron en todas las cepas 4 tipos de hifas que variaron en cuanto a espesor de la hifa, tamaño de la célula, espesor de la pared celular, proximidad de los septos, brotación de conidios secundarios, ramificaciones y recorrido en la colonia. El micelio de tipo "cordé" desarrollado en la 4° generación de la cepa LH<sub>14</sub> responde a las características dadas por Messiaen C.M. y Cassini R. (1968).

Los caracteres morfológicos y métricos de los conidios se observaron en el medio CZDV'8, sometiéndolos a dos calidades de luz: sin LCUV y con LCUV.

Cuadro 4. — Medidas en  $\mu\text{m}$  de conidios de 6 cepas de *S. tritici* (Rob. et Desm.) bajo dos calidades de luz.

CEPAS	Sin LCUV		Diám.	Con LCUV		Diám.
	Long. conidial			Long. conidial		
	Mín.	Máx.		Mín.	Máx.	
LH <sub>1</sub>	17,1	28,6	1,4	21,4	35,7	1,4
38388 C. D.	18,6	35,7	1,4	21,4	42,9	1,4
BW 4682	21,4	42,9	1,4	21,4	40,0	1,4
P <sub>46</sub>	34,3	55,6	1,4	35,7	58,5	1,4
LHT <sub>9</sub>	27,9	52,1	1,4	30,0	55,4	1,4
LH <sub>2</sub>	20,0	32,9	1,4	23,4	35,9	1,4

El análisis de varianza practicado sobre las mediciones registradas revela la existencia de diferencias altamente significativas entre las cepas estudiadas y en la interacción Luz  $\times$  Cepas, no así en el efecto de la calidad de luz (Cuadro 5).

Cuadro 5. — Análisis de varianza para las fuentes de variación en estudio

Fuentes de variación	G. L.	S. C.	C. M.
Cepas	5	1123,24	224,15**
Luz	1	1,02	1,02n.s.
Cepas x Luz	5	22,61	4,52**
Error	36	37,7	1,04
Total	47	1184,63	25,20

El análisis estadístico practicado sobre los datos de la Interacción Luz cercana al ultravioleta  $\times$  Cepa confirma el efecto de esta calidad de luz sobre dos de las cepas (LH<sub>1</sub> y P<sub>46</sub>) (Cuadro 6).

Cuadro 6. — Análisis de varianza para las fuentes de variación en estudio

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio
LH <sub>1</sub> d L	2	9,23	4,61**
38388 C. D. d L	2	2,83	1,415
BW 4682 d L	2	1,19	0,595
P <sub>46</sub> d L	2	8,06	4,03**
LHT <sub>9</sub> d L	2	1,83	0,915
LH <sub>2</sub> d L	2	0,63	0,315
Error	36	37,7	1,047
Total	47	1184,63	25,20

El tamaño de los conidios de las cepas LH<sub>1</sub> y P<sub>46</sub> se vio afectado por el efecto de la luz cercana al ultravioleta: LH<sub>1</sub> con los de menor tamaño y P<sub>46</sub> con los mayores.

### Variabilidad

En todas las cepas ocurrieron cambios morfológicos, no sólo entre cultivos de distinta generación (LH<sub>1</sub>, LH<sub>14</sub>, LHT<sub>9</sub>), sino tam-

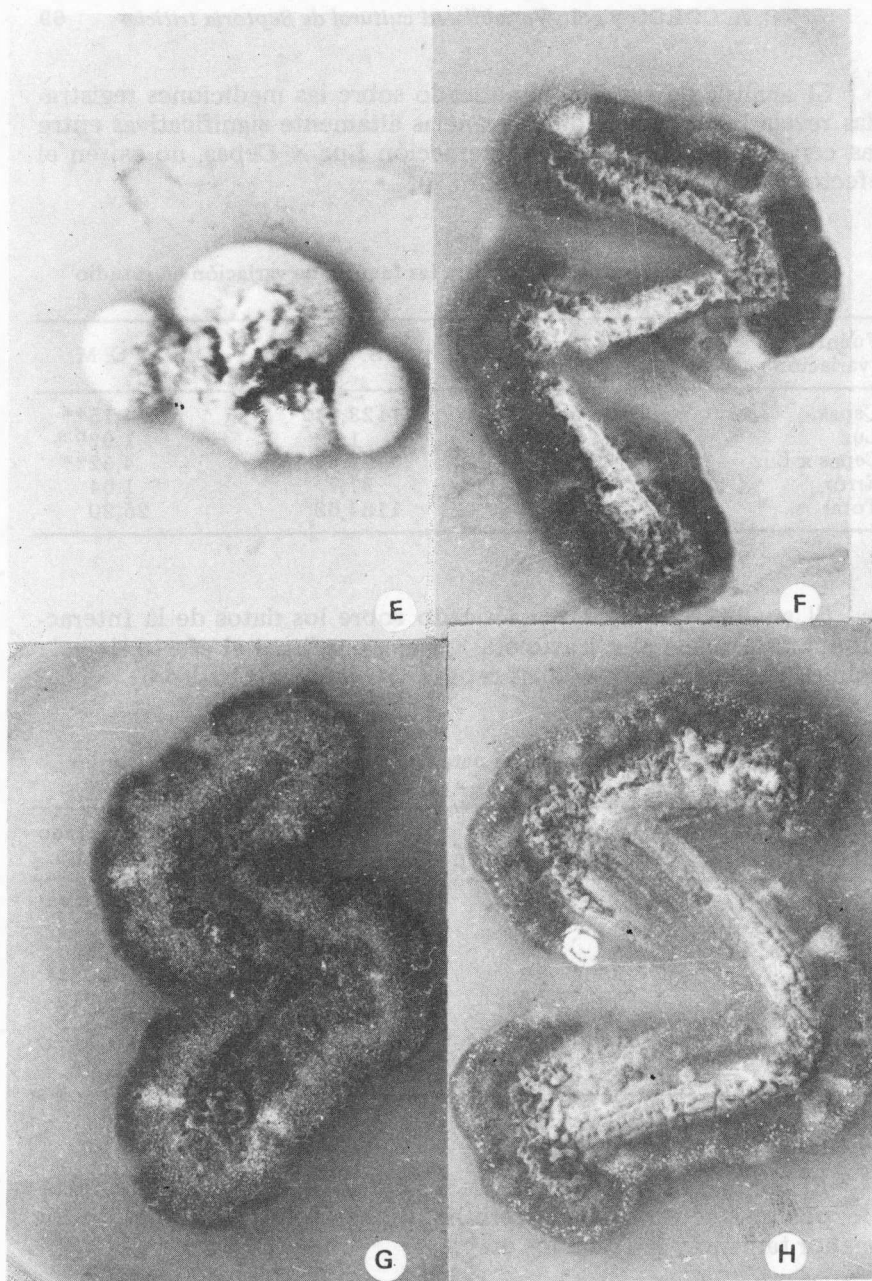


Fig. 2. — E: *Cepa LH<sub>14</sub>*; crecimiento en medio CZDV'8; 4<sup>a</sup> generación, *tipo variante*, con micelio "cordé". F: 5<sup>a</sup> generación, *tipo estromático* sin LCUV. G: 5<sup>a</sup> generación, *tipo variante* sin LCUV. H: 5<sup>a</sup> generación, *tipo estromático* con LCUV. Todos los aumentos son x 1.

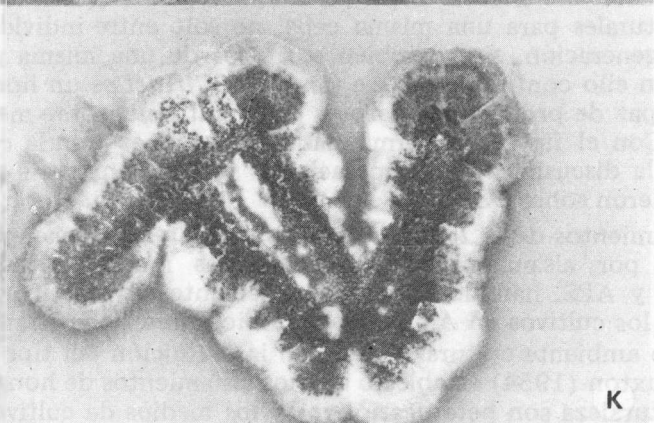
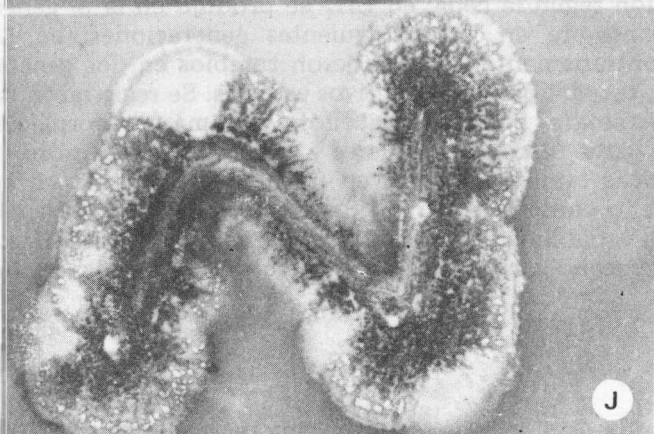
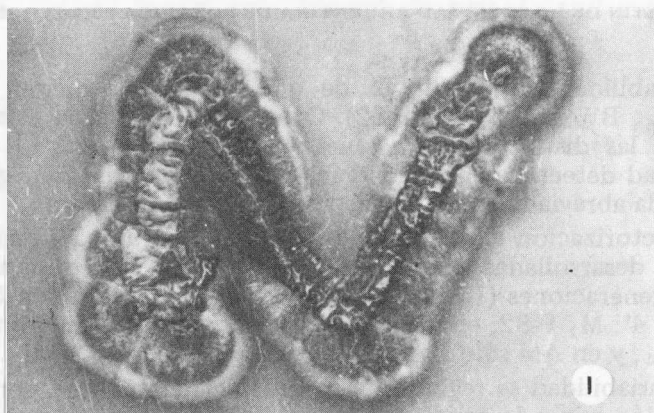


Fig. 3. — I: *Cepa* BW<sub>4682</sub>; crecimiento en medio CZDV'8, 4<sup>a</sup> generación, tipo estromático original sin LCUV. J: 4<sup>a</sup> generación, tipo variante sin LCUV. K: 4<sup>a</sup> generación, tipo estromático original con LCUV. Todos los aumentos son x 1.

bién variabilidad entre cultivos de una misma generación (LH<sub>1</sub>, LH<sub>14</sub>, P<sub>46</sub>, BW 4682 y M<sub>2</sub>-9-82). Otras cepas quedaron estables a través de las distintas generaciones (38388 C.D., LH<sub>2</sub>, LH<sub>3</sub>). La variabilidad detectada entre generaciones y para una misma generación queda abreviada en los Cuadros 7 y 8, respectivamente.

La sectorización en los cultivos fue muy común para casi todas las cepas desarrolladas en medio CZDV'8 después de transcurridas algunas generaciones (LH<sub>14</sub>, en 5° y 6° generación; P<sub>46</sub>, en 5°; BW 4682, en 4°; M<sub>2</sub>-9-82, en 2° generación). En APS produjeron LH<sub>1</sub>, LH<sub>3</sub>, LH<sub>4</sub>, y en AM sólo no produjeron las cepas LH<sub>2</sub> y LH<sub>3</sub>.

La variabilidad se registró en distintas generaciones y con variada duración según la cepa; en LH<sub>1</sub> se produjo en la 5° generación, siendo constante en las subsiguientes generaciones; en LH<sub>14</sub> y LHT<sub>9</sub>, contrariamente, se produjeron cambios en dos generaciones sucesivas, tornándose luego cultivos estables. Se registraron cambios en la morfología, color del micelio o estroma y esporulación. Las sectorizaciones fueron triangulares y el micelio, algodonoso, blanco, registrándose también algunas en forma de manchones, irregulares y de micelio cordé o afieltrado denso, de color gris claro, sobre estroma. La variabilidad para una misma generación se manifestó en el color del micelio, esporulación y formación de sectorizaciones.

#### DISCUSION

Mediante este análisis se probó una marcada variación en caracteres culturales para una misma cepa, no sólo entre individuos de distinta generación, sino también entre los de una misma generación. Con ello confirmamos que también *S. tritici* es un hongo variable capaz de producir numerosos tipos culturales sobre medio artificial. Con el fin de uniformar las observaciones para la conducción de la discusión, las comparaciones se hicieron entre cultivos que crecieron sobre CZDV'8.

Aislamientos de *S. tritici* obtenidos de material de campo, establecidos por aislamientos y transferencias monospóricas sobre CZDV'8 y APS, han sido predominantemente estromáticos, mientras que los cultivos en AM resultaron miceliares, demostrando que el medio ambiente cultural influye en la definición del tipo de colonia. Buxton (1954) estableció que los aislamientos de hongos desde la naturaleza son heterocarióticos y los medios de cultivo sobre los que crecen actuarían como medio selectivo para la manifestación de sus componentes. En todos los medios, la mayoría de las cepas produjeron picnidios desde su origen. En ese sentido Hooker (1957) obtuvo resultados diferentes con *S. avenae*. Este hongo, con

CUADRO 7

Variabilidad entre generaciones de las cepas de *S. tritici*.

CEPAS	N° de generac. de transf. monosp.	Morfolog. micelio	Color micelio	Sectoriz.	Varibolid. en la misma generaci3n	Poder esporul.
LH <sub>1</sub> (Figs. 1: B, C)	5° a 6°	afieltr. denso	119 - 125	sí	en la 6° SN y B, y mic. afieltr. 121	perdi3
		hialino algod.	120 + SB	( mic. B )		
LH <sub>14</sub> (Figs. 1D, 2: E,F,G,H)	3° a 4°	estromát.	63	sí (mic. afieltr. denso B)	colonias mas oscuras 124, con menor sect. y bulb. estériles.	perdi3
		"cordé"	61	sí (mic. cordé 125)		
	4° a 5°	"cordé"	61	sí		
		estroma de mic. afieltr. laxo	127 119 124	Ibidem 4° gen.	sí	perdi3
LHT <sub>9</sub>	5° a 6°	centro con. II húmedos y brillant.	61			sí
		centro estrom. mic. afieltr. denso B a algod.	B	sí (mic. B algod.)	estrom. y S de mic. algod. B en manch3n; S lenguet. mic. algod. denso 118.	sí
	6° a 7°	estrom. afieltr. denso - algod.	B	Ibidem gen. ant.	Ibidem gen. ant.	
		estroma mic. afieltr. denso	15	" " "	" "	sí

Referencias para Abreviaturas:

B: blanco; N: negro; S: sectorizaci3n; Con. II: conidios secundarios; mic. hialino: micelio hialino; E: estroma; mic. ras.: micelio rasante; mic.: micelio; /lgod.: algodonoso.

colonias de tipo miceliar desde un comienzo, pasó a predominantemente esporulante, luego de sucesivas transferencias de esporas.

Con la cepa LH<sub>1</sub> de *S. tritici* ocurrió el fenómeno inverso al de *S. avenae*. Hasta la quinta generaci3n de subcultivo monosp3rico, la cepa LH<sub>1</sub> fue *estromática y esporulante*, pero en la sexta generaci3n se manifestó con *tipo miceliar* y con pérdida de esporulaci3n, aunque en sucesivas generaciones volvió a ser estromática. Es-

CUADRO 8

Variabilidad entre cultivos de una misma generación.

CEPAS	N° de la generación	Morfol. mic.	Color del micelio	Sectorización	Esporulación	Variante
	5°S / LCUV	afieltr. denso a algod. laxo	118	sí (mic. gris oscuro - 104)		
		Ibidem	124	sí (mic. B)	mayor que el origen.	TIPO I
P <sub>46</sub>	C / LCUV	afieltr. denso a algod. laxo	118	no		
		menor estrom. que el origen.	124	sí (mic. B)	mayor que el origen.	TIPO II
	4°S / LCUV	afieltr. laxo	118			
BW 4682 (Fig.3: I,J,K)		afieltr. denso	122	sí (mic. B)	sí	-
	C / LCUV	afieltr. laxo	122 121			
		afieltr. denso	118 117	sí (mic. B algod.)		

Referencias para Abreviaturas:

B: blanco; afieltr.: afieltrado; algod.: algodonoso; estrom.: estromatización; mic.: micelio.

te fenómeno fue observado en muchos hongos imperfectos, incluyendo algunas especies de *Septoria*. Hansen (1938) lo atribuyó a mutaciones producidas por los *subcultivos monospóricos continuados* de conidios multinucleados heterocarióticos. El mismo autor puntualizó que este "fenómeno dual" se expresa en muchos hongos debido a la presencia de dos núcleos genéticamente diferentes (núcleo miceliar y conidial o estromático), resultado de la heterocariosis en el talo. Como observó Bistis (1960) en *Trichophyton mentagrophytes*, la aparición del tipo miceliar denotó una pérdida irreversible de esporulación, y además, un cambio en la res-

puesta a las condiciones del medioambiente que promovieron la esporulación.

En este trabajo también se observó que, a través de un número limitado de subcultivos monospóricos, las cepas 38388 C.D., LH<sub>2</sub>, LH<sub>3</sub>, fueron culturalmente estables. Esto implicaría la posibilidad de llegar a ser cepas homocarióticas por disociación de núcleos a partir de su origen heterocariótico. La disociación de hifas homocarióticas a partir del heterocarion ha sido demostrada en *Ascomycetes* y hongos imperfectos (Beadle y Coonradt, 1944; Hooker, 1957). Los posibles mecanismos involucrados serían la ramificación de células hifales uninucleadas o el cambio de núcleos en ápices hifales durante la formación de septos en las hifas. Todas estas especulaciones son hipotéticas, porque aún no se han podido confirmar experimentalmente (Parmeter *et al.*, 1963).

No obstante, otras cepas mostraron variaciones evidentes, también con subcultivos monospóricos. Esto indicaría que, como ocurrió con *S. avenae* (Hooker, 1957; Jinks, 1952) y con *S. nodorum* (Scharen y Krupinsky, 1970), los subcultivos monospóricos no necesariamente conducen al establecimiento de cepas culturalmente estables (Parmeter *et al.*, 1963). Los talos derivados de un núcleo haploide simple, con el tiempo acumularían mutaciones, y donde haya células multinucleadas podría existir heterocariosis. Recordamos que *heterocariosis* es la capacidad de los núcleos haploides de formar varias asociaciones dentro de las hifas o esporas. Con este sistema, la variabilidad es potencialmente grande y las diferentes asociaciones de núcleos guían a una mayor variedad de habilidades en el hongo (Buxton, 1960).

La variabilidad en nuestra experiencia se pudo acentuar por el método de manutención de las cepas por subcultivos monospóricos en tubos de CZDV'8. Johnson (1952) estableció que en *S. avenae* este fenómeno se observó en cultivos que habían crecido por un mes en tubos de APS, y luego se habían recultivado en cajas con el mismo medio. Buxton (1960) estableció que la manutención de los cultivos vivos por períodos prolongados de tiempo guiaban a una atenuación de su virulencia permanente o temporaria. La atenuación o pérdida de patogenicidad podría ocurrir en cultivos originados de esporas simples uninucleadas, por acumulación de mutaciones que tuvieron una ventaja selectiva en el medio de cultivo, ya que los núcleos mutantes pudieron multiplicarse, mientras en la naturaleza no habría persistido (Hooker, 1957). En este trabajo se ha visto que sobre CZDV'8 ocurrieron los tipos más variables. Quizá este medio acumuló selectivamente las mutaciones sugeridas. La cepa LH<sub>14</sub> mostró una marcada variabilidad en la 4° generación, desarrollando micelio tipo "cordé", falta de esporulación, mientras en la 5° generación revirtió hacia el tipo estromático manteniendo

ausencia del poder esporulante. En otras cepas se evidenciaron cambios en la coloración y textura del micelio, con aparición de sectorizaciones muy distintas, o desarrollo de micelio en manchones con formación de bulbillos estériles (cepa BW 4682). La incidencia de la luz cercana al ultravioleta ha contribuido también a definir el tipo de micelio desarrollado.

Las sectorizaciones (Buxton; 1954) son sectores en forma de abanico, como las de nuestra experiencia, o de isla, expresadas por la apariencia morfológica distinta del micelio, con respecto al resto de la colonia. Según Christensen y Graham (1934), para *Helminthosporium gramineum* y Hooker (1957), para *Septoria avenae*, las sectorizaciones se originarían como consecuencia de mutaciones producidas por el manejo del cultivo a través de reislamientos monospóricos. Como ocurriría en *Helminthosporium*, al producir esporas multinucleadas, está siempre vigente la posibilidad que los sectores sean la expresión de la segregación de diferentes aislamientos que podrían originarse a partir del heterocarionte inicial. Buxton (1954) agregó que el heterocarionte, originado como resultado de una mutación temprana en la vida del cultivo sectorizado, persistiría para expresar un número de apariencias morfológicamente distintas como resultado de cambios en sus relaciones nucleares. Otra explicación sería que se produjera alguna recombinación somática, por ocurrencia de un ciclo parasexual (Pontecorvo *et al.*, 1953; Pontecorvo y Sermonti, 1954) o por herencia citoplasmática (Pontecorvo *et al.*, 1953).

La presencia de micelio en forma de manchones sería atribuida, según Gibson y Griffin (1958) a las frecuentes anastomosis de las células uninucleadas, seguidas de interacción citoplasmática, entre talos de diferentes genotipos. Las colonias en mosaico o manchones son también una expresión de la heterocariosis.

#### AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Irma Gamundí de Amos por la lectura crítica del manuscrito; al Ing. Agr. Rafael Boggio por el asesoramiento estadístico; a la Comisión de Investigaciones Científicas por financiar esta investigación.

#### BIBLIOGRAFIA

- BEADLE G. W. & V. L. COONRADT, 1944. Heterocariosis in *Neurospora crassa*. *Genetics* 29: 291-308.

- BISTIS, G. N., 1960. The concept of heterocarosis in fungi. The historical record. *Amer. Naturalist* 94: 443-444.
- BUXTON, E. W., 1954. Heterocaryosis and variability in *Fusarium oxysporum f. gladiol.* (Snyder & Hansen). *J. Gen. Microbiol.* 10: 71-74.
- BUXTON, E. W., 1960. Heterocaryosis, saltation and adaptation. In: *Plant Pathology II*. Chapter 10: 359-405. Academic Press, New York.
- CHRISTENSEN, J. J. & T. M. GRAHAM, 1934. Physiologic specialization and variation in *Helminthosporium gramineum* Rab. *Univ. Minn. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.* 95.
- CORDO, C. A., 1979. Mancha de la hoja de trigo (*Septoria tritici*) en la República Argentina. *Informes N° 29 de la CIC de la Provincia de Bs. Aires:* 28.
- GARASSINI, L. A., 1958. *Microbiología* (1° edición): 170-174. Universidad Central de Venezuela, Editorial Sucre.
- GIBSON, A. & D. M. A. GRIFFIN, 1958. A study of variation in *Nectria ste-nospora*. *Australi J. Biol. Sci.* 2: 548-556.
- HANSEN, H. N., 1938. The dual phenom in imperfect fungi. *Mycol.* 30: 442-455.
- HOOKER, A. L., 1957. Cultural variability in *Septoria avenae* through successive single macrospore transfer. *Phytopathology* 47: 460-468.
- JINKS, R. E., 1952. Heterocaryosis: a system of adaptation in wild fungi. *Proc. Roy. Soc. London Ser. B* 140: 83-99.
- JOHNSON, T., 1952. Cultural variability in *S. avenae* Frank. *Canad. J. Bot.* 30: 318-330.
- LEE, N. & D. GARETH JONES, 1974. Rapid method for spore production in three *Septoria* spp. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 62 (1): 208-211.
- MESSIAEN, C. M. & R. CASSINI, 1968. Research sur les fusarioses. IV. La Systematique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyt.* 19 (3): 419.
- PARMETER, J. R., W. C. SNYDER & R. E. REICHLE, 1963. Heterokariosis and variability in Plant Pathology Fungi. *Annual Rev. Phytopathol.* 1: 51-73.
- PONTECORVO, G., J. A. ROPER & E. FORBES, 1953. Genetic recombination without sexual reproduction in *Aspergillus niger*. *J. Gen. Microbiol.* 8: 198-210.
- PONTECORVO, G. & G. SERMONTI, 1954. Parasexual recombination in *Penicillium chrysogenum*. *J. Gen. Microbiol.* 11: 94-104.
- RAYNER, R. W., 1970. A Mycological colour Chart. *The Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, and British Mycological Society.*
- SCHAREN, A. L. & J. M. KRUPINSKY, 1970. Cultural and Inoculation Studies of *Septoria nodorum*. Cause of Glume Blotch of Wheat. *Phytopathology* 60: 1480-1485.