

LILLOA

REVISTA DE BOTÁNICA

« *HELMINTHOSPORIUM TURCICUM* » PASS.

EN LA REPUBLICA ARGENTINA

Por MARIA DOLORES CAMPI

ABSTRACT

« *Helminthosporium turcicum* » Pass. In the Argentine Republic. — *H. turcicum* is a very common fungus in the Argentine Republic. Inoculations made on corn gives 81 % infection, being favored by environmental humidity. The infection can be direct or indirect. Conidiophores are produced just through the stomata.

The fungus develops in good form on artificial culture medium; the spores produced on it, are smaller than those of natural conditions.

Vegetative development is quicker at 28° C. than at 20° C., but spores are produced in greater size and number at 20° C.

This is the first time that *H. turcicum* has been demonstrated in this country, on *Sorghum vulgare* var. *sudanense* and *S. vulgare* var. *kafir*.

INTRODUCCIÓN

Helminthosporium turcicum Pass. es el agente causal del « tizón del maíz », « leaf blight », o « white blast » del maíz, de los norteamericanos.

En 1876 Passerini describió por primera vez la enfermedad sobre hojas de maíz, bajo el nombre de « nebbia » y la atribuyó al *Helminthosporium turcicum*. En 1880 Cooke y Ellis, describieron bajo el nombre de *Helminthosporium inconspicuum* un hongo sobre maíz, similar a *H. turcicum*. Dreschler (1) (*) y Mitra (2) después de prolijas investigaciones coinciden en identi-

(*) Por estos números véase la bibliografía al final.

ficar a *H. inconspicuum* Cooke et Ellis con *H. turcicum* Pass. Este es un parásito importante de las cosechas de maíz en Europa meridional, Africa, Australia y Rusia. En Francia se menciona por primera vez en 1903, en la India en 1907, en Sud Africa en 1912 y en Australia en 1915. Otto Reinking (8) considera al tizón del maíz una enfermedad común y destructiva de las Filipinas. Mitra lo ha encontrado en Bihar y otras partes de la India, en todos aquellos parajes de grandes lluvias y tiempo caluroso, causando enormes pérdidas en las cosechas tardías. En Estados Unidos ha sido señalado en N. Jersey, New York, Connecticut, Delaware, Massachusetts y en el este de Pensilvania.

Helminthosporium turcicum ha sido citado sobre *Sorghum vulgare*, *Andropogon Sorghum*, *Sorghum halepense*, *Elymus* sp. y *Cinna arundinacea* (Dreschler cree que en esta última es otra especie, *Helminthosporium catenarium*).

ANTECEDENTES EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

Es una enfermedad poco conocida. Probablemente porque el aspecto de las hojas de maíz atacado, que se presentan como secas y retorcidas, puede ser atribuido a los fuertes calores y lluvias frecuentes, factores que indudablemente favorecen su aparición. « El aspecto general de los maizales afectados es el de secos, con sus hojas colgando y más o menos retorcidas como si hubiesen sufrido el efecto de heladas ». Godoy (4).

En 1913 Hauman Merk (6) encontró sobre hojas de maíz lesiones que atribuyó a *Helminthosporium gramineum* Rab., pues no halló fructificaciones del hongo. Dice que las manchas son idénticas a las que estudió sobre cebada y que describió así: « c'est ainsi qu'on voit de loin, les champs d'orge tout jaunes et que les feuilles non seulement celles de la base pendant l'hiver, mais encore celles de la tige au cours de printemps sont souvent entièrement couvertes de grandes taches jaunes et brunes ». El Ing. Agr. Lindquist (5) cree que las manchas observadas por Hauman deben ser atribuidas a *H. turcicum*. Él fué quien lo estudió por primera vez, sobre hojas de maíz

cultivado en la chacra de la Facultad de Agronomía de La Plata en 1928. El Ing. Agr. Marchionatto, pudo aislar este hongo en 1929, de las hojas de maíz procedentes de Morón y un cultivo figura en la colección del Laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura, bajo el n° 58. Desde entonces fué recibido en repetidas ocasiones, en el laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura, material de maíces procedentes de diferentes localidades de la zona maicera.

Los Ings. Agrs. Carrera y Marengo (7) determinaron en 1932, *H. turcicum* entre los parásitos encontrados sobre el maíz cultivado en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires. El Ing. Agr. Grodsinsky, en un viaje efectuado a Santa Fe en marzo de 1937, encontró, en el departamento de San José del Rincón, maizales fuertemente atacados y recogió muestras que gracias a su gentileza he podido estudiar. Un fuerte ataque de *Helminthosporium* sp. ha sido señalado en marzo de 1938 por el Ing. Agr. Godoy (4) a quien debo agradecer el envío de numerosas muestras de material enfermo. En el laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura determinamos dicho *Helminthosporium* como *H. turcicum*.

Personalmente he hallado *H. turcicum* en junio de 1938 sobre maíz Pergamino sembrado tardíamente en la Estación Experimental de Plantas del Ministerio de Agricultura de la Nación en José C. Paz. El desarrollo de la enfermedad coincidió con un período de lluvias frecuentes y tiempo caluroso. En los meses de febrero y marzo del mismo año, durante los cuales se produjo una sequía excepcional, visité los maizales de dicha Estación Experimental y no pude encontrar la enfermedad.

Sobre Sudan Grass y maíz kafir cultivados en la cercanía de los maíces infectados hallé un *Helminthosporium* que he determinado como *H. turcicum* (lám. I).

SINTOMATOLOGÍA

La enfermedad se presenta sobre las hojas de plantas jóvenes, como manchitas pequeñísimas de color marrón rojizo o paja, circundadas por un margen claro; al principio las man-

chas son pequeñas ($1,5 \times 0,5$ mm), oblongas y aisladas. Después se desarrollan rápidamente, si la humedad ambiente es favorable, se vuelven confluentes y forman manchas extendidas en el sentido de las nervaduras y limitadas por ellas. Son de color paja, que puede variar del pardo al oscuro y con un margen marrón oscuro variable (lám. II; lám. III, izq.).

Algunas semanas después de la iniciación de una lesión foliar, cuando el área afectada tiene más o menos 5 cm de ancho, se puede observar a simple vista, en ambas caras de la hoja, una eflorescencia de aspecto polvoriento y de color pardo negruzco, formada por conidios y conidióforos del parásito. Las manchas se localizan con preferencia en los bordes y en el centro de la lámina foliar, pudiendo abarcarla toda y prolongarse a la vaina de la hoja. Las hojas afectadas se marchitan, se retuercen y se secan (lám. IV). El hongo puede alcanzar también las espigas y se presenta como una eflorescencia negruzca sobre las glumas.

El material estudiado procede de maizales infectados naturalmente, de las localidades de Rosario de Lerma (Salta), San José del Rincón (Santa Fe) y Estación Experimental de Plantas del Ministerio de Agricultura de la Nación en José C. Paz.

ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD

Con el fin de estudiar la patogenia de *H. turcicum* se realizaron inoculaciones artificiales sobre hojas de maíz, con cultivos puros procedentes de la cepa de la colección del Laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura, determinada por el Ing. Agr. Marchionatto, aislada en 1929 sobre hojas de maíz y mantenida en cultivo de agar papa glucosado.

Técnica empleada. Trozos de hojas enfermas fueron desinfectados con Cl_2Hg , lavados con H_2O estéril y posteriormente colocados en cajas de Petri con agar papa glucosado al 1 %. Se incubó a 25°C y cuando aparecieron los conidios del hongo se hizo una suspensión de los mismos en agua estéril. Luego de fundir y enfriar a 42°C un tubo de agar papa glucosado, se introdujo en él, 1 ó 2 gotas de esta suspensión que fué agi-

tada y volcada en caja de Petri. Localizado el conidio bajo el microscopio, se marcó con un punto de tinta, con el ansa estéril se lo levantó juntamente con un trocito de agar y se transportó a una caja o tubo. Los cultivos posteriores se tomaron de éstos y los ensayos se realizaron sobre maíz dulce y amargo. Para inocular se procedió así: se hizo una suspensión en agua estéril de conidios de 14 a 19 días, período en que los mismos muestran su poder máximo de germinación. Se dejó 2 ó 3 gotas de esta suspensión, en el hueco que forman las hojas todavía acartuchadas, las que constituyen una espléndida cámara húmeda natural.

Los testigos fueron tratados de la misma manera pero con agua destilada estéril.

Todas las plantas se cubrieron con bolsas de papel celofán y se introdujo en la maceta un algodón empapado en agua estéril para mantener una humedad a saturación o se colocaron en cámaras húmedas por 48 horas.

Las infecciones se produjeron a veces a las 24 horas de la inoculación.

Cuando *H. turcicum* es inoculado sobre las hojas de maíz, las manchas formadas son idénticas a las encontradas en la naturaleza.

A las 24 y 48 horas se observan pequeñas lesiones puntiformes de color marrón rojizo o paja, con un halo claro. Al microscopio se observa que el tejido coloreado está necrosado.

Los conidios germinan por medio de uno o dos tubos germinativos, que se hinchan en los extremos y emiten un pequeño tubo que perfora la epidermis o penetra directamente por el estoma. He notado una tendencia de los tubos a penetrar por entre las laminillas de dos células epidérmicas o por entre las paredes de las células estomáticas y las que las rodean.

Para estudiar la penetración del parásito se observó directamente bajo el microscopio, lesiones de 24 ó 48 horas, previamente decoloradas como sigue: se dejaron por 24 horas los trozos infectados en una mezcla de alcohol absoluto y ácido acético glacial en partes iguales y se diafanizaron con una solución saturada de hidrato de cloral. Finalmente se coloreó durante medio minuto con fucsina ácida y se lavaron los trozos con agua.

Con buenas condiciones de humedad y temperatura, las manchas se desarrollan con rapidez. En la lámina III, derecha, puede observarse la diferencia de desarrollo en manchas de la misma edad procedentes de inoculaciones realizadas en diferentes fechas.

La producción de conidios y conidióforos tiene lugar algunas semanas después. A veces, a los 15 días de la inoculación, si las condiciones de temperatura y humedad son buenas.

Manchas sobre hojas, que se desarrollaban lentamente, fueron llevadas a cámaras húmedas y dejadas a temperatura de laboratorio se extendieron con rapidez en 48 horas.

Se procedió igualmente con manchas extendidas, de 15 días, que naturalmente no presentaban órganos de reproducción del parásito y que dejadas a temperaturas de laboratorio en cámara húmeda, esporularon a las 24 horas.

Los resultados de las inoculaciones están consignados en la tabla siguiente:

Fecha	Suspensión de esporas	Número de infecciones	Infecciones sobre	Testigo	Infecciones felices	Testigo infectado	Observaciones
28-IX-37	C.M.A. (1)	16	hoja	4	14	—	Maíz azuc.
25-X-37	»	15	»	3	9	—	»
30-X-37	»	15	»	4	12	—	»
6-XI-37	»	11	»	4	10	—	»
19-II-38	»	36	»	10	28	—	Maíz Perg.
3-III-38	»	7	»	4	7	—	»
7-VII-38	»	13	»	8	12	—	»
Total		113			92		81 %

Estas experiencias dan una prueba de la naturaleza patogénica de *H. turcicum* sobre hojas de maíz.

(1) Estas abreviaturas corresponden a Colección del Laboratorio de Fito-patología del Ministerio de Agricultura.

MORFOLOGÍA DEL PARÁSITO

Técnica. Para estudiar el parásito en su relación con el huésped se hicieron numerosos cortes de trozos enfermos, coloreando con azul de algodón y montando en agua. El material fué tratado así: se dejó por 24 horas en una solución de ácido acético glacial y alcohol absoluto en partes iguales, se diafanizó por 24 a 48 horas en hidrato de cloral y finalmente se coloreó con azul de algodón y se observó directamente al microscopio el material así aclarado.

La medida de los conidióforos se tomó con cámara clara proyectando los cortes montados en agua estéril. Y los conidios, montados en igual forma, fueron medidos de la misma manera.

MICELIO EN LOS TEJIDOS DEL HUÉSPED

El parásito está localizado en el mesofilo de la hoja, no observándose en las células epidérmicas sino ocasionalmente, pero en este caso son hifas aisladas. Los micelios son gruesos, cilíndricos, tabicados, con una membrana externa relativamente fina, coloreada o no (depende del grado de madurez), el episporio y una interna hialina, el endosporio, que da origen a los tabiques los cuales son siempre perpendiculares a la pared de la hifa. Tienen color subhialino hasta oliva marrón en las hifas que dan nacimiento a los conidióforos, las cuales forman una masa estromática en la cavidad subestomática (fig. 1, *c*, *d* y *f*).

Las hifas se disponen en forma de red apretada en el tejido de la hoja como se puede observar en la figura 1, vista por transparencia y obtenida de una hoja de maíz infectado naturalmente y decolorada durante 24 horas en una solución de ácido acético glacial y alcohol absoluto en partes iguales, diafanizada con hidrato de cloral 24 ó 48 horas y coloreada con azul de algodón.

El micelio es intra o intercelular. Invade los vasos (lám. V), la clorofila desaparece y la hoja se seca y muere.

La aparición de los conidióforos y conidios tiene lugar unas



Fig. 1. — *a, b, c*, material infectado naturalmente; *d*, maíz Pergamino inf. nat. J. C. Paz; *e*, mat. procedente de Rosario de Lerma, inf. nat.; *f*, mat. inf. nat. de Santa Fe. Dib. cámara clara Abbe.

semanas después de la aparición de las manchas, cuando éstas han invadido una extensión apreciable de la hoja. Emergen del estoma (lám. V, abajo y fig. 1 b-f), no los he podido ver salir a través de la cutícula como los dibuja Mitra.

Los conidióforos son simples, tabicados, erectos y de color pardo que pasa al pardo oscuro en la madurez. Su extremidad apical es siempre hialina. Son flexuosos debido a la particularidad de su crecimiento, producen un conidio en el ápice, siguen creciendo, desviándose a un costado, ascienden nuevamente, originan otro conidio y así sucesivamente. Se puede observar bien sobre ellos las cicatrices dejadas por éstos al caer.

Las medidas que he obtenido de especímenes desarrollados naturalmente y de diferente procedencia, son las siguientes:

Material de Rosario de Lerma: $79-222 \times 5-11 \mu$. Término medio: $152,24 \times 8,72 \mu$.

Material de Santa Fe: $75-184 \times 6-13 \mu$. Término medio: $119,43 \times 8,94 \mu$.

Material de José C. Paz: $74-257 \times 6-12 \mu$. Término medio: $144,4 \times 9,4 \mu$.

Los autores que he consultado dan estas medidas:

Dreschler: $260 \times 7,3-9 \mu$. Mitra: $115-150 \times 6-8,7 \mu$.

Lindquist: $100-130 \times 7-9 \mu$. Saccardo: $150 \times 6 \mu$.

Los conidios de *H. turcicum* son elípticos, tabicados, con los extremos apical y basal redondeados y algo agudos.

Es cierto que hay una tendencia del segmento basal a aguzarse en forma de cono, aunque a menudo se presenta redondeado como lo es siempre el apical. A primera vista, con poco aumento, algunos conidios aparecen como ahusados en las puntas, pero esta impresión es debida a que el diámetro del segmento medio, es comúnmente mucho mayor que el diámetro de los terminales. El ancho máximo se encuentra al tercio o cuarto de la extremidad basal; los tabiques son transversales a la pared del conidio. Otra característica es la presencia constante del hilio, pequeña protuberancia a veces muy saliente. El hilio pequeño o grande es siempre bien visible y según Dreschler, apartaría *H. turcicum* de la mayoría de las formas congéneres. Los conidios de *H. turcicum* encontrados

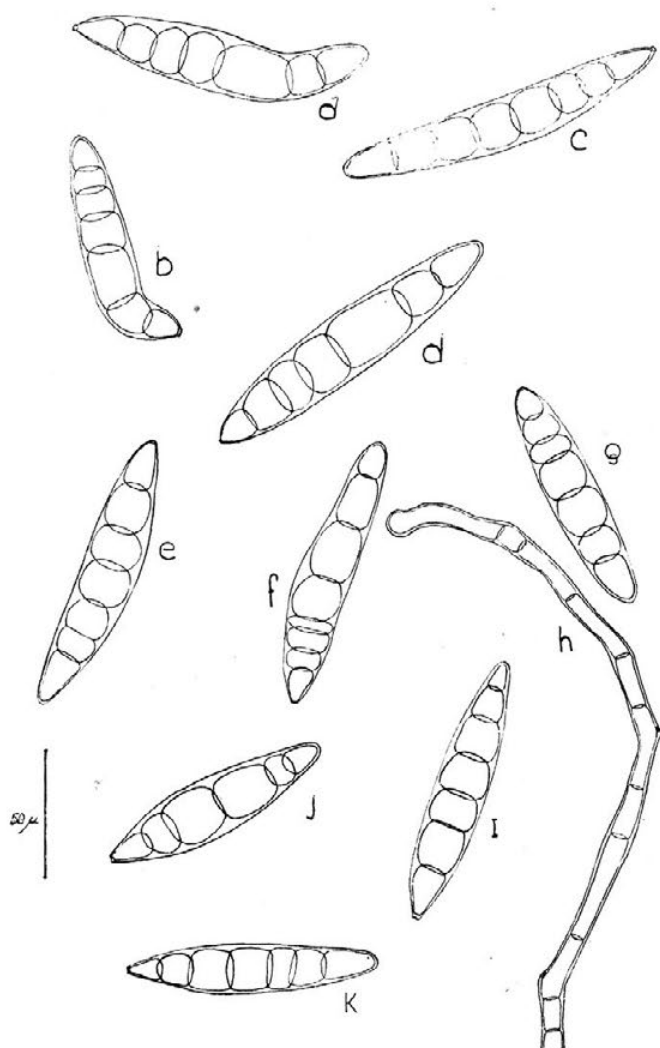


Fig. 2. — *a, b, c, d, e*, conidios de mat. infec. nat. de J. C. Paz; *f, g*, conidios de mat. de Rosario de Lerma inf. nat.; *h*, conidióforo, mat. de Santa Fe; *i, j, k*, conidios de la misma localidad. Dib. cámara clara Abbe.

en la naturaleza son derechos o suavemente curvados (fig. 2). El tamaño de los mismos, así como el número de los tabiques, es variable. He medido conidios de materiales de diferentes localidades y he obtenido los resultados que consigno a continuación: conidios de material procedentes de Rosario de Lerma: $66-126 \times 18-19 \mu$ con un término medio: $103,9 \times 22,57 \mu$; el número de tabiques 3-8 término medio 5,12.

Santa Fe: $66-128 \times 16-27$. Término medio: $99,17 \times 22,01 \mu$. Tabiques 3-7. Término medio: 5,34.

José C. Paz: $62-134 \times 13-23 \mu$. Término medio: $104,37 \times 18,43 \mu$. Tabiques 2-7 μ . Término medio 5,46 μ .

Mitra da para conidios las medidas siguientes: $75-125 \times 18-24 \mu$, $\times 4-7$ tabiques:

Dreschler: $45-132 \times 15-25 \mu$. Tabiques 1-8. Lindquist: $90-100 \times 20-24 \mu$. Tabiques: 5-8.

Saccardo: $85-92 \times 20-24 \mu$. Tabiques: 5-8.

Los conidios son largamente viables; unos procedentes de un material de Rosario de Lerma, que fueron guardados en el herbario por cinco meses, cuando se colocaron en agua estéril a 25°C germinaron un 67 %.

ESTUDIO DEL HONGO EN MEDIOS DE CULTIVO

El hongo fué cultivado en agar papa glucosado al 1 %, agar zanahoria, agar harina de maíz y medio mineral Czapek, manteniéndose los cultivos a la temperatura de $20-30^{\circ}\text{C}$.

Las observaciones se realizaron con preferencia en cultivos sobre agar papa glucosado a 25°C .

Los micelios son similares a los encontrados en la naturaleza: cilíndricos, tabicados. El largo y diámetro de los segmentos es variable: $10-107 \times 4-10 \mu$ (fig. 3). Pueden ser aéreos, superficiales o sumergidos. El micelio aéreo es subhialino, de segmentos largos y relativamente estrechos (fig. 3, *a-d* y *j*). Sobre él se producen en abundancia los conidióforos y conidios. El micelio superficial es levemente coloreado, subhialino u oliva pardo claro; el diámetro de las hifas es un poco mayor que las del micelio aéreo. El micelio sumergido está constituido por

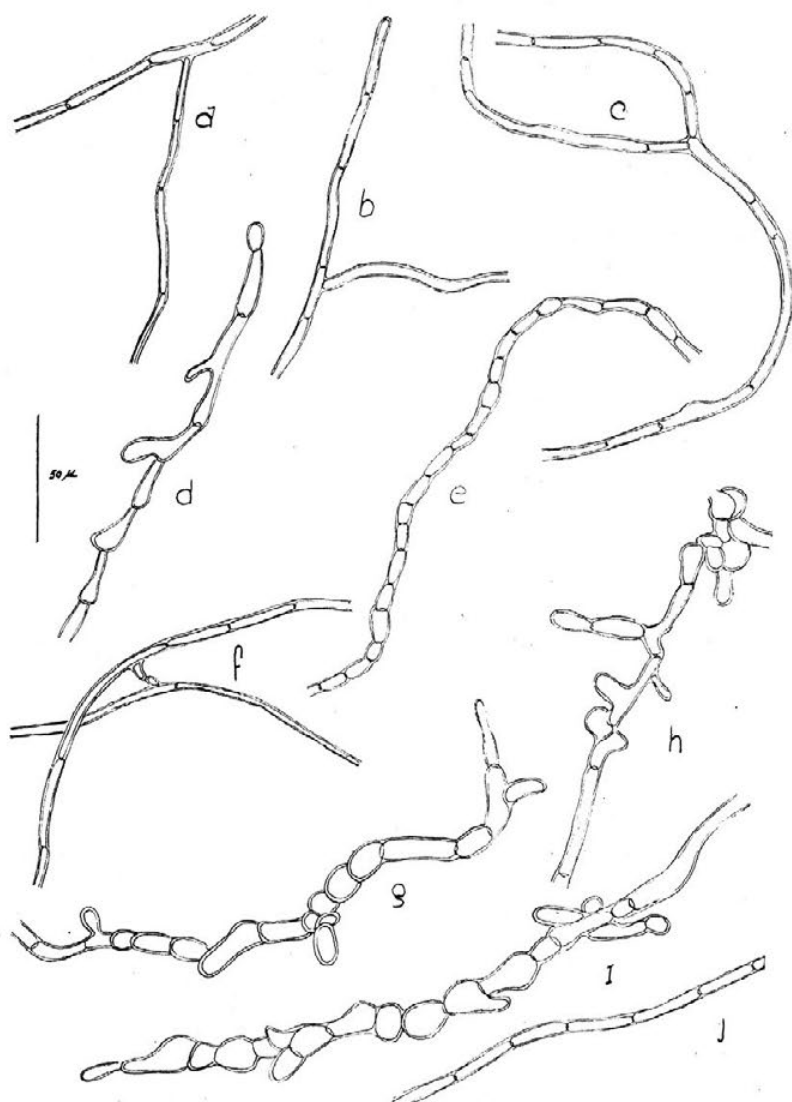


Fig. 3. — *a, b, c, d, j*, micelios aéreos (agar papa glucosado) ; *e*, micelio sumergido, subhialino (agar harina de maíz) ; *f*, micelio sumergido (agar zanahoria) ; *g, h, i*, micelios oscuros, medio mineral Czapeck. Dib. cámara clara Abbe.

hifas, claras (fig. 3, *e* y *f*) u oscuras, gruesas, de segmentos cortos y anchos (fig. 3, *g-i*); en cultivos viejos, las hifas pueden llegar a hincharse irregularmente, semejando clamidosporos. Hay una tendencia general de las hifas a anastomosarse (fig. 4).

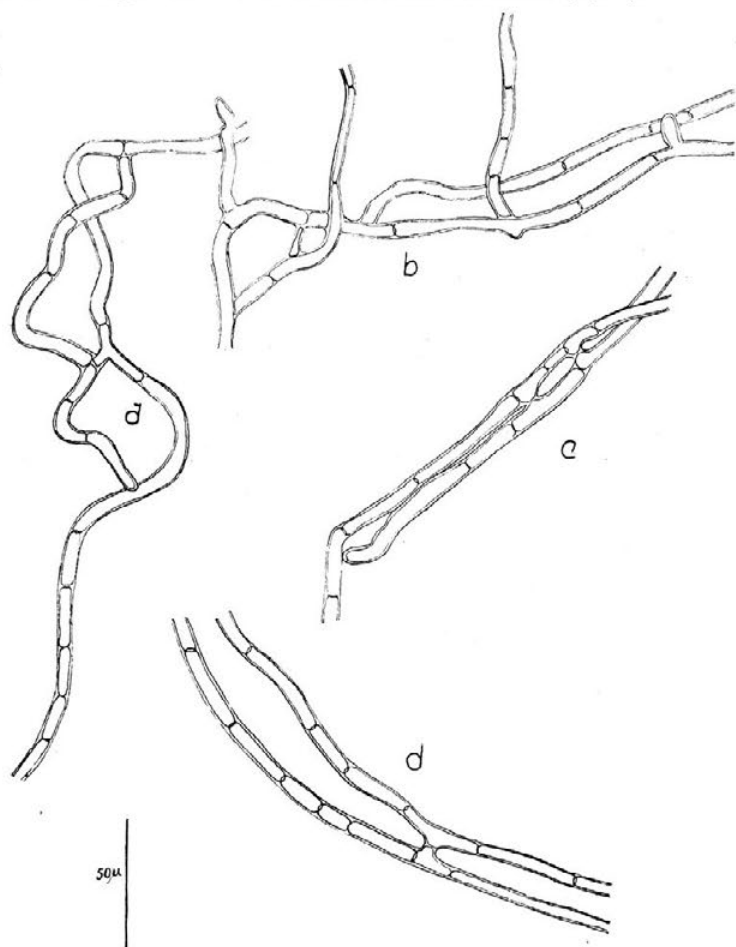


Fig. 4. — *a*, *b*, micelios desarrollados en película de agar papa glucosado, a los dos días de la siembra; *c*, micelio desarrollado en a. p. gluc.; *d*, micelio desarrollado en agar zanahoria. Dib. cámara clara Abbe.

Los conidióforos extremadamente largos, tabicados, se diferencian de las hifas que les dan nacimiento, por su color de un tinte más oscuro (a veces no hay diferencia), por el ápice hialino

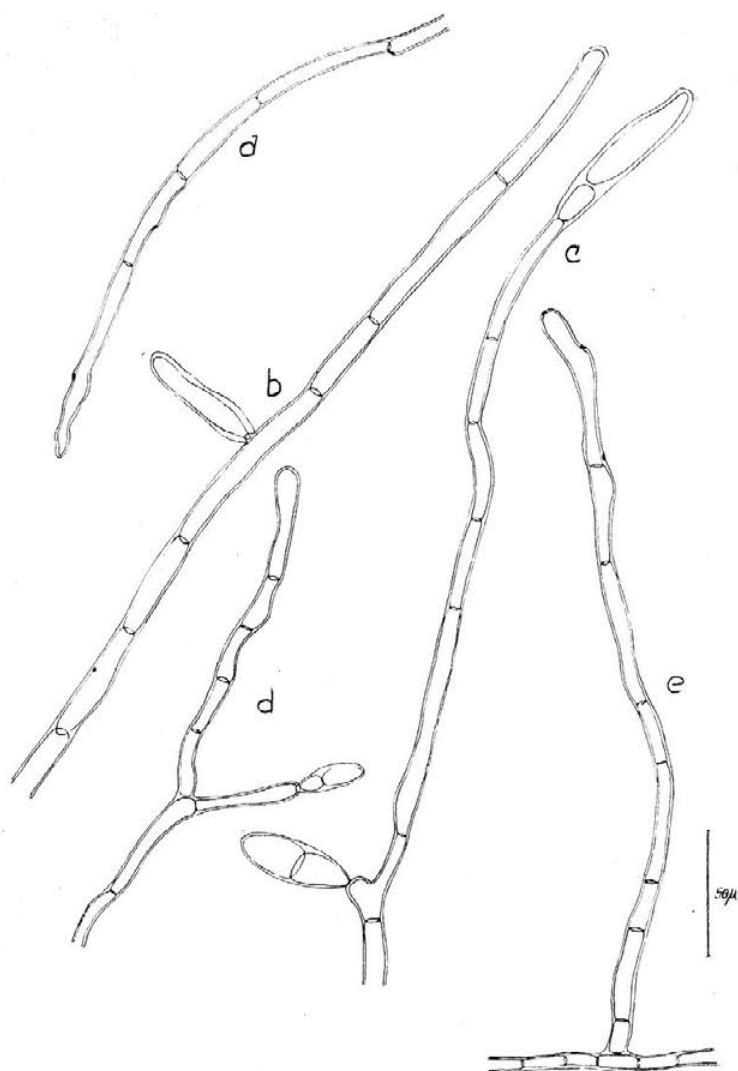


Fig. 5. — *a* y *c*, conidióforos desarrollados en agar zanahoria
b, *c* y *d*, en medio mineral Czapek. Dib. cámara clara Abbe

y por llevar conidios. Son erguidos, derechos o ligeramente geniculados, con una geniculación leve en las puntas, único carác-

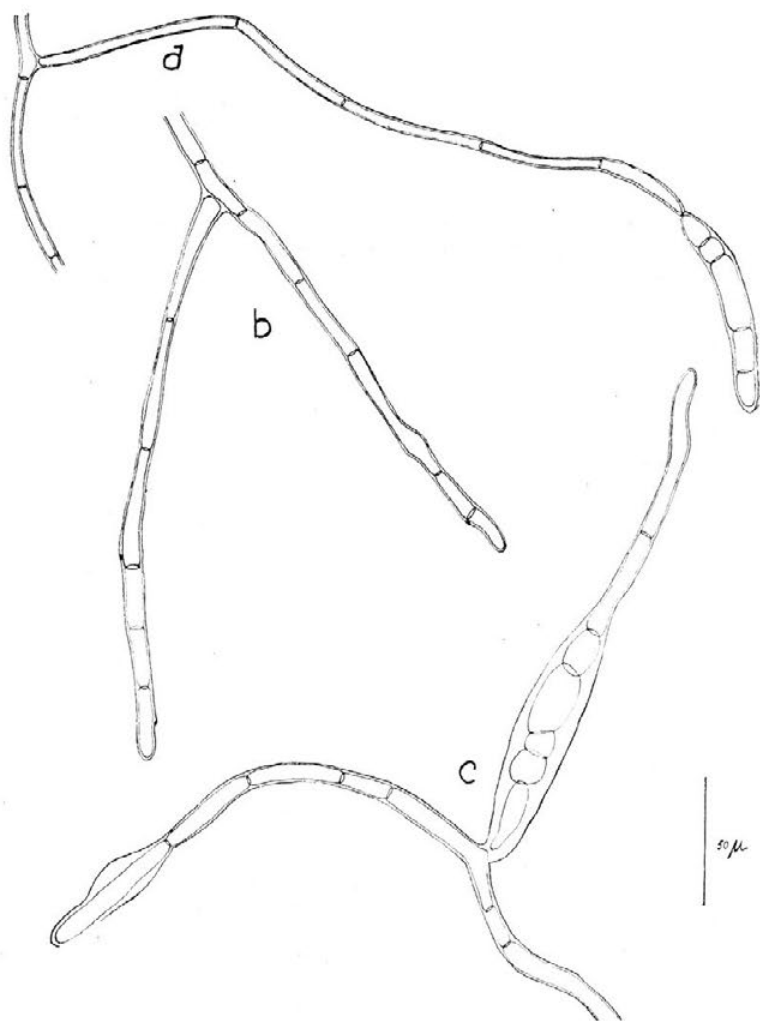


Fig. 6. — a, conidióforo desarrollado en agar papa glucosado
b y c, en medio mineral Czapek. Dib. cámara clara Abbe

ter que a veces permite diferenciarlos de las hifas que los originan. Pueden observarse fácilmente las cicatrices oscuras dejadas por los conidios al desprenderse (fig. 5 a, b y e y fig. 6 b).

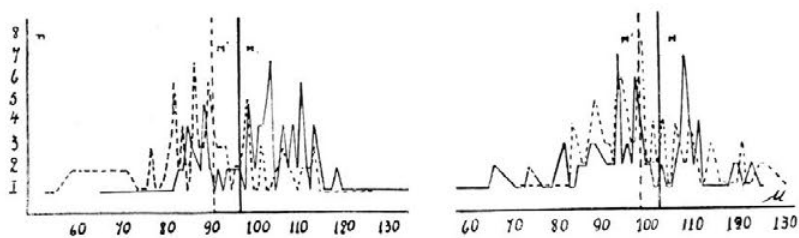


Fig. 7. — Variación de la longitud de los conidios de *H. turcicum*; línea llena, del natural y línea cortada, en cultivo de agar papa glucosado. Izquierda: material procedente de Santa Fe, M: 99,18, M': 92,22. Derecha: material de J. C. Paz, M: 104,37, M': 100,72, n = frecuencia.

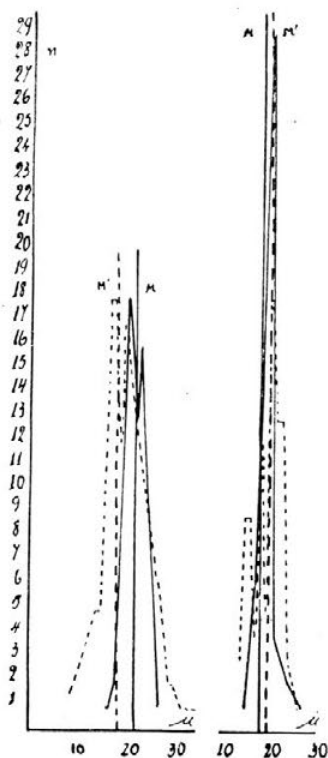


Fig. 8. — Variación del ancho de los conidios de *H. turcicum*; línea llena, del natural y línea cortada, en cultivo de agar papa glucosado. Izquierda: material procedente de Santa Fe, M, 22,01, M', 17,97. Derecha: material de J. C. Paz, M, 18,43, M', 19,32, n = frecuencia.

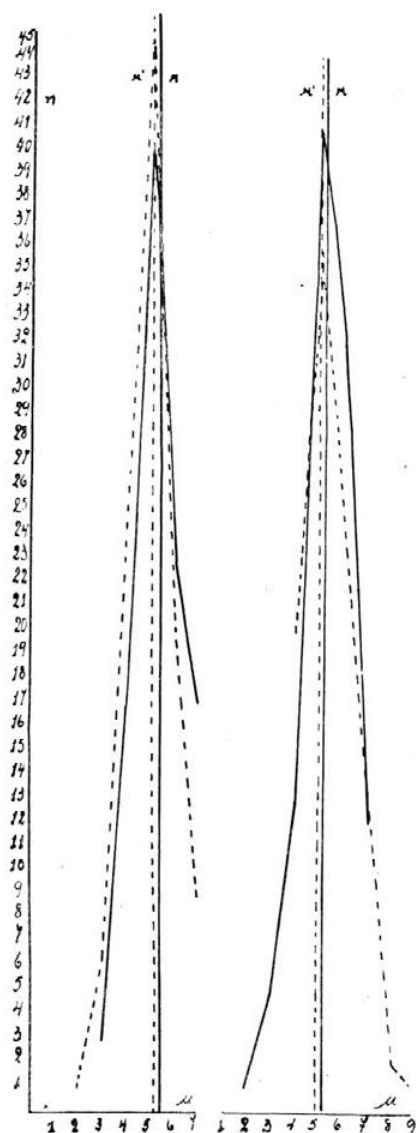


Fig. 9. — Variación del número de tabiques de los conidios de *H. turcicum*; línea llena, del natural y línea cortada, en cultivo de agar papa glucosado. Izquierda: material procedente de Santa Fe, M: 5,34, M': 505. Derecha: material de J. C. Paz, M: 5,45, M': 5,32, n = frecuencia.

En medios de cultivos los conidióforos aparecen siempre solitarios. A veces se ramifican (sólo en medios de cultivos) con ramificación simple (fig. 5 *d* y fig 6 *b*).

Los conidios no difieren en su morfología y estructura de los observados sobre el huésped. En medios de cultivos son en general más chicos que los producidos en la naturaleza, pero más rechonchos (fig. 7, 8 y 9). Además la curvatura es más acentuada siendo a veces el ángulo de curvatura tan pronunciado, que los conidios son geniculados (fig. 10 *a*, *b*, *h* y *q*). El vértice del ángulo se puede desplazar del centro al tercio o cuarto de la extremidad basal.

En escasas ocasiones he encontrado algunos en los cuales el ángulo de curvatura se encontraba a la altura del primer tabique apical. Los conidios son de crecimiento acropleurógeno. Pueden originarse lateralmente sobre el conidióforo a gran distancia del ápice del mismo (fig. 5 *b-e*); su número sobre él es variable (he podido contar hasta 16 cicatrices), pero lo común es de 4 ó 5.

Cuando los conidios llegan a la madurez se desprenden, pero he tenido ocasión de observarlos germinando directamente sobre el conidióforo (fig. 6 *c*). La germinación de los conidios dura pocas horas y se efectúa por uno o dos tubos polares (fig. 11 *a-e*). Puede ocurrir también por el segmento medio pero es muy rara (fig. 11 *f*). Los segmentos que darán nacimiento a los tubos germinativos siempre toman un tinte hialino, lo que permite reconocer el lugar de aparición de dichos tubos.

En algunas ocasiones 2 ó 3 células dan conjuntamente un tubo, pero esto ocurre en conidios desarrollados en malas condiciones; una sola vez los he visto dando nacimiento directamente a otro, y en los cultivos han aparecido 2 ó 3 conidios de dos puntas (fig. 10 *j*).

Los conidios aparecen por lo común a los cinco días de la siembra, aunque pueden nacer a los tres. A continuación van las medidas de los observados en cultivo, obtenidos de material infectado artificial y naturalmente.

Conidios provenientes de la cepa de la colección del Laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura de la Nación. Longitud 89,43 μ . Ancho 19,07 μ . Tabiques 5,10.

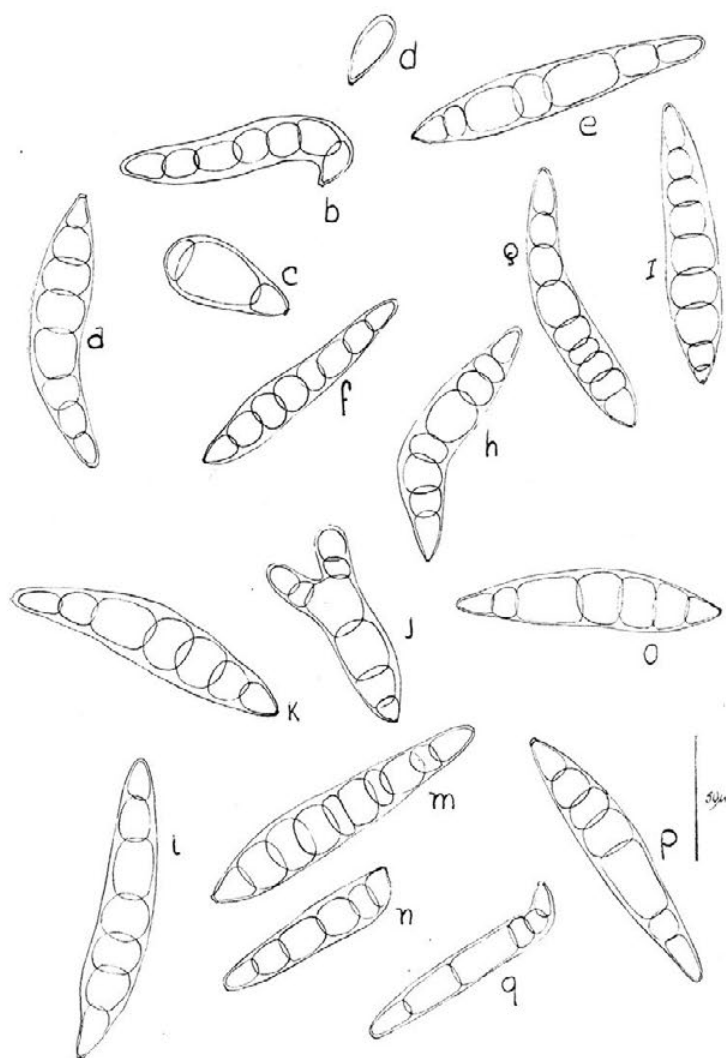


Fig. 10. — Conidios de *H. turcicum* desarrollados en medios de cultivo : mat. procedente de : a, b, c, d, e, Col. Lab. Fit. Min. Agr. ; f, g, h, i, mat. realzado de plantas inoc. con C. M. A. ; j, k, l, m, n, mat. de Santa Fe ; o, p, q, conidios aislados de especímenes enfermos de J. C. Paz. Dib. cámara clara Abbe.

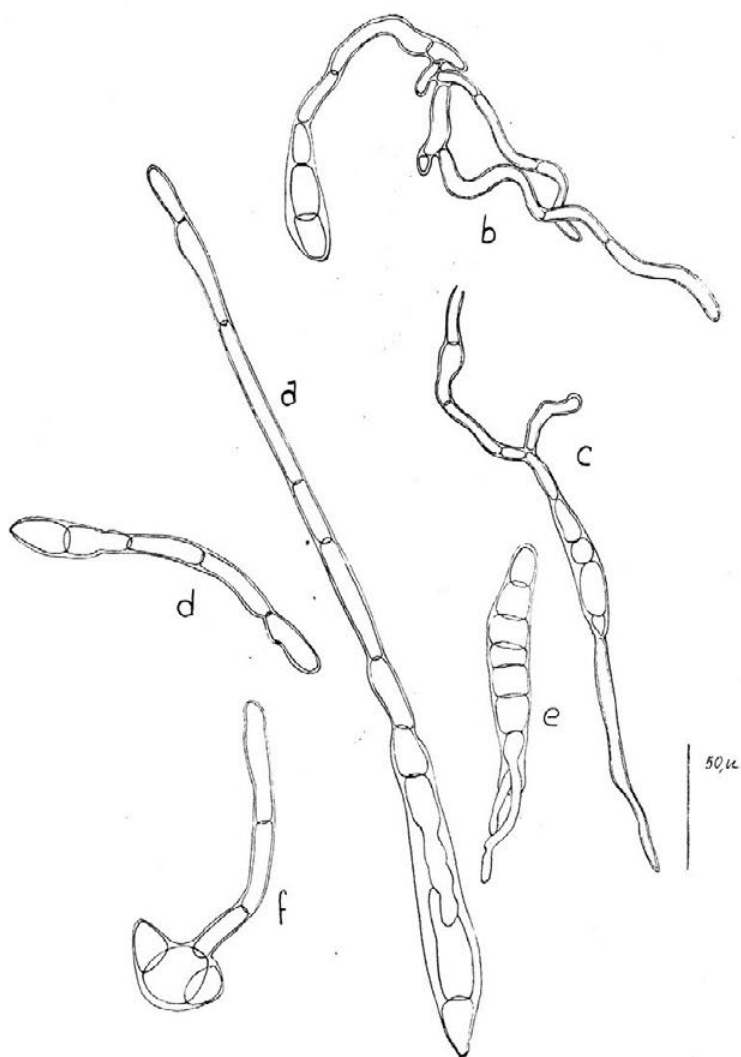


Fig. 11. — Germinación de conidios en : *a, d, e, f*, agar papa glucosado ; *b*, película de agar papa glucosado ; *c*, agua estéril. Dib. cámara clara Abbe

Conidios de cultivos reaislados de plantas inoculadas con conidios de la Colección del Laboratorio de Fitopatología del Ministerio Agricultura de la Nación. Longitud 86,95. Ancho 17,33. Tabiques 5,80.

Conidios de cultivos aislados de material procedentes de Santa Fe : Longitud 92,22 μ . Ancho 17,97 μ . Tabiques 5,05.

Conidios aislados de material recogido en José C. Paz : Longitud 104,37 μ . Ancho 18,43 μ . Tabiques 5,46.

Las medidas fueron tomadas con proyección en cámara clara y son términos medios de 100 conidios. Colonias de 26 a 30 días.

CRECIMIENTO EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

H. turcicum es un parásito facultativo que se adapta bien a la vida saprofítica. Es fácilmente cultivable en los medios comunes de laboratorio.

Con el fin de estudiar su comportamiento en medios de cultivos, se lo ensayó repetidas veces y en los siguientes: agar papa glucosado al 1 %, agar zanahoria, agar harina de maíz y medio mineral Czapek.

En todos los casos se empleó 10 c.c. del medio y se utilizó la cepa proveniente de la Colección del Laboratorio de Fitopatología del Ministerio de Agricultura.

Se sembraron trozos de 4 mm y se incubaron a dos temperaturas diferentes: 20 y 28° C, para observar la influencia de la misma. Las cajas utilizadas de 92 cm de diámetro. En todos los casos se partió de cultivos monospóricos.

Agar papa glucosado. — El hongo se desarrolla bien en este medio. Las colonias son de bordes irregulares (lám. VI, 1 y VII, 1). El crecimiento al principio es superficial, micelios hialinos, después grises. El hongo se profundiza en el substrato, el cual toma un color verde botella que pasa por el verde oliva y se oscurece tanto que pasa al negro en las colonias viejas. El producto puede ser aéreo, superficial y sumergido. El micelio aéreo es veloso al principio, de color gris sucio, formado por hifas subhialinas y estrechas. Cuando nacen los conidiófo-

ros se oscurece llegando al oliva pardo y la colonia se torna paulatinamente lanosa. El micelio superficial es grueso, granulado, subhialino o coloreado, tiene segmentos más cortos que el micelio aéreo. El producto sumergido compuesto de hifas obscuras, gruesas y regularmente hinchadas. Las colonias alcanzan el borde de la caja entre los 15 y 20 días.

La producción de conidios es buena a los 15 días de cultivo. A los 30 toda la colonia toma un color pardo oscuro y se observa en su superficie un fieltro de conidios.

El crecimiento es más rápido a 28° C que a 20° C. La producción de conidios está en relación inversa con el crecimiento.

Término medio de las medidas de 100 conidios.

	Long.	Ancho	Tab.
20° C.....	104,47	18,31	5,35
28° C.....	80,16	18,22	5,68

Agar zanahoria. — El desarrollo en este medio es más lento. Colonias regulares con zonas concéntricas de crecimiento, de color verde oliva. El substrato no se oscurece tanto como en agar papa glucosado (lám. VI, 2 y VII, 2). Micelio aéreo velloso, que se torna lanoso al envejecer la colonia; de color gris claro que paulatinamente toma tintes pardos al producirse los conidios. Micelios sumergidos piriformes, oscuros.

El crecimiento no es tan bueno como en agar papa glucosado. Las colonias tardan dos meses para llegar al borde.

La producción de conidios es buena y son estrechos y largos.

Mejor desarrollo a 28° C, que a 20° C. Término medio de las las medidas de 100 conidios:

	Long.	Ancho	Tab.
20° C.....	93,02	17,96	5,68
28° C.....	80,16	18,12	5,02

Agar harina de maíz. — Desarrollo pobre. Colonias regulares. Ramas de hifas de color gris pardo, dan un aspecto arborescente a la misma (lám. VI, 3 y VII, 3). El crecimiento es preferentemente superficial, poco producto aéreo y sumergido. La colonia es de color gris pardo. El substrato no se oscurece como en los otros medios ensayados a los 20° C. A 28° C puede

tomar tonos verde pardusco oscuros. En este medio la producción de conidios es muy buena y son levemente más claros, largos y estrechos.

Las colonias llegan a los bordes de la caja entre los 20 y 30 días. Término medio de las medidas de 100 conidios.

	Long.	Ancho	Tab.
20° C.....	95,51	16,17	6,11
28° C.....	81,73	15,45	5,33

Medio mineral Czapek. — En este medio el hongo se desarrolla con mayor rapidez que en cualquiera de los anteriores. Las colonias llegan a los bordes a los 14 días de cultivo. Producto aéreo gris sucio. Substrato verde botella que se ennegrece completamente al envejecer el cultivo (lám. VI, 4 y VII, 4). Micelios sumergidos, gruesos y piriformes. Micelio aéreo lanoso de color pardo negruzco en relación con abundantes conidios largos y estrechos. El hongo se desarrolla mejor a 28° C que a 20° C. Término medio de las medidas de 100 conidios.

	Long.	Ancho	Tab.
20° C.....	89,10	15,77	5,92
20° C.....	107,73	15,82	5,51

INFLUENCIA DE LA HUMEDAD

El factor humedad relativa tiene una influencia preponderante en el desarrollo del « tizón del maíz ». Este ha sido encontrado siempre, en las cosechas de maíz tardías, en todos aquellos lugares donde el otoño es lluvioso o en temporadas de verano excepcionalmente húmedas.

Repetidamente he tenido ocasión de constatar la importancia que la humedad ambiente tiene sobre el desarrollo del hongo. Manchas sobre hojas de maíz infectado artificialmente con *H. turcicum* que se desarrollaban lentamente en las condiciones del invernáculo, colocadas en cámara húmeda y dejadas en el laboratorio a temperatura ambiente, se desarrollaban extraordinariamente dentro de las 24 horas. La aparición y cantidad de conidios depende casi exclusivamente de la humedad del aire.

Para comprobar la influencia del factor humedad se hicieron experiencias idénticas a las realizadas por el Ing. Agr. Vallega (9), quien repitió las efectuadas por Stevens. Dice aquél.

« El dispositivo utilizado se basa en las determinaciones hechas por Peltier, el que demuestra que brotes de trigo se secan dentro de las 3 horas a una humedad relativa entre 0 y 60 %; en 12 horas a 70 y 80 %; en 24 horas al 90 % y pasando ya este porcentaje, el tallo queda húmedo durante largo tiempo ».

En un tubo de vidrio, de unos 20 cm de largo, se colocó una varilla de vidrio. Sobre ésta, y en una extensión de 15 cm, se sostuvieron por medio de ganchos de metal, trozos de hojas de maíz a distancia de 1 cm y se agregó 2 ó 3 cm de agua hasta tocar aproximadamente el primer gancho. Se llevó todo a la autoclave y se calentó a 110° durante 30". Se inoculó, dejando en cada trozo una gota de una suspensión de esporos en agua. Los trozos de hojas se fueron secando, comenzando por los más alejados de la superficie del agua. A los 5 días de la inoculación se pudieron observar sobre los 6 u 8 primeros trozos (respecto de la superficie del agua) un micelio aéreo, largo, hialino que se dirigía hacia abajo.

El micelio superficial es de color gris verdoso, formado por hifas gruesas y nodulosas. En él ya aparecen las fructificaciones, conidios bien formados, 5-7 tabicados. La cantidad de micelio y fructificaciones está en relación inversa a la distancia del agua.

A los 10 días, el crecimiento se vuelve superficial y el micelio aparece sobre la superficie de los trozos de hojas, como un terciopelo marrón oliva en relación con los conidios y conidióforos. Estos se encuentran en abundancia en los trozos colocados inmediatamente encima del agua. Son de color más claro que los desarrollados en medios de cultivos o encontrados en la naturaleza. Sobre los trozos superiores se desarrollan escasas fructificaciones.

El micelio es preferentemente aéreo, subhialino y muy escaso. Decece en cantidad a medida que se aleja del agua.

No he podido observar crecimiento arriba del 8° gancho (en los diez tubos preparados) excepto en dos tubos, en que se encontró hasta en los trozos de hojas de maíz, colocados a una distancia de 12 cm de la base libre de la varilla.

INFLUENCIA DE LA REACCIÓN DEL MEDIO

Se estudió a diferentes pH cultivando el hongo en solución Richard. Se procedió así : se prepararon por triplicado, 6 Erlenmeyer con 50 cc. de solución Richard, a pH 3, 4, 5, 6, 7 y 8 los que se obtuvieron, ya sea acidificando el medio con una solución de HCl $n/10$ o con OHK $n/10$ y utilizando el comparador de Hellige.

Posteriormente se llevó a la autoclave y se sembró con cantidades iguales de micelio procedente de un cultivo monospórico. Se incubó a 24-26° C.

A los 15 días se determinó el desarrollo del hongo, pesando el micelio previamente desecado en estufa hasta peso constante. El peso se halló por diferencia con el papel de filtro, tarado con anterioridad.

El desarrollo y característica del mismo, a los diferentes pH así como la variación de éstos a los 15 días están anotados en el cuadro siguiente. (Ver pág. 30.)

INFLUENCIA DE LA LUZ

Con el fin de observar la influencia que la luz tiene sobre el desenvolvimiento del hongo, se prepararon 40 cajas de Petri con 10 cc. de agar papa glucosado y se dejaron a temperaturas de laboratorio. Veinte cajas se expusieron a la luz natural del laboratorio pero en un lugar en que el sol no incidiese directamente y las otras se cubrieron con papel negro.

A los dos días se observaron las cajas y se comprobó un pequeño desarrollo mayor en las cajas descubiertas. A los cinco días los aumentos se produjeron a la inversa. Siendo después de los siete días uniforme en ambos casos.

Se desprende de estas observaciones que la luz no ejerce influencia apreciable en el desarrollo de *H. turcicum*.

pH	Desarrollo de la colonia en mm	Caracteres del crecimiento	Altura de la colonia	Borde	Color	Fructificaciones	Variación del pH
3	3, 20	Sumergido y aéreo. Escaso. Colonias aterciopeladas.	Plana	Irregular Frondoso	Oliváceo oscuro	Escasas	4
4	285, 66	Colonias superficiales abarcando la superficie libre del medio. Aterciopeladas. Colonias sumergidas escasas, pequeñas.	Plana	Frondoso	Oliva amarillento oscuro	Abundantes	5, 8
5	343, 33	Producto aéreo abundante. Sumergido, escaso. Colonias aterciopeladas.	Plana	Frondoso	Oliva obscuro, Colonias sumergidas verde amarillentas	Abundantes	5, 8
6	283	Abundante producto aéreo abarcando la superficie libre del medio. Colonias aterciopeladas. Producto sumergido escaso.	Plana	Frondoso	Oliva amarillento oscuro	Abundantísimas	6, 4
7	303	Colonias superficiales, abundantes. Aterciopeladas. Colonias sumergidas, pequeñas, irregulares.	Plana	Frondoso	Oliva amarillento oscuro	Abundantísimas	6, 6
8	251	Colonias superficiales, irregulares. Aterciopeladas. Bastante producto sumergido.	Plana	Frondoso	Oliva amarillento oscuro	Abundantísimas	6, 6

CONCLUSIONES

1ª *Helminthosporium turcicum* es un hongo común en la República Argentina. Su naturaleza parasítica queda probada por las experiencias de inoculación hechas sobre el maíz, utilizando cultivos puros del hongo.

2ª La infección se produce por el estoma o directamente a través de la cutícula. No ha sido observada ninguna otra forma de infección.

3ª El grado de infección, así como la producción de conidios, está en relación estrecha con la humedad del aire.

4ª El hongo se desarrolla bien en los medios de cultivos comunes. El desarrollo es más rápido a 28° C que a 20° C, pero los conidios son más abundantes y más grandes a 20° C.

5ª Los conidios obtenidos en cultivo son en general más chicos que los encontrados en la naturaleza.

6ª El hongo prefiere un pH de 5-7.

7ª En esta contribución se señala por primera vez para el país *Helminthosporium turcicum* sobre dos nuevos huéspedes: Sudan Grass y maíz Kafir.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. DRESCHLER, C. 1920, *Some Graminicolous Species of « Helminthosporium »*. *Journal of Agricultural Research*, vol. XXIV, n° 8, pág. 712.
2. MITRA, M. 1923. « *Helminthosporium* sp. » on cereals and sugarcane in India. Part. I, (*Diseases of Zea mays* and « *Sorghum vulgare* » caused by species of « *Helminthosporium* ») *Mem. Dep. Agr. India Bot. Ser.*, VII, págs. 219-242. 3 pl.
3. REINKING, O. 1919. *Philippine Plant Diseases. Phytopathology*, vol. 9, 3, págs. 139-140.
4. GODOY, E. 1938. *Un intenso ataque de « Helminthosporium » sp. sobre maíz en los departamentos de Rosario de Lerma y Cerrillos*. Informe elevado a la Dirección de Fitopatología y Sanidad Vegetal.
5. LINDQUIST, J. C. *Hongos parásitos de las plantas cultivadas nuevos para la República Argentina* (ined.). Biblioteca de la Facultad de Agronomía de la Plata.
6. HAUMAN-MERK, L. 1915. *Les parasites végétaux des plantes cultivées*

en Argentine et dans les régions limitrophes. *Anal. Mus. Nac. Hist. Nat. de Bs. As.* 26 : 164-225 (pág. 204).

7. MARENGO, L. V., y CARRERA, C. 1932. *Parásitos vegetales hallados sobre plantas cultivadas en la Facultad de Agr. y Vet. de Buenos Aires. Agronomía. Org. Of. Centro Est. Agr.* 151 : 26-51, pág. 45.

8. SACCARDO, P. A. *Sylloge Fungorum* IV, pág. 420.

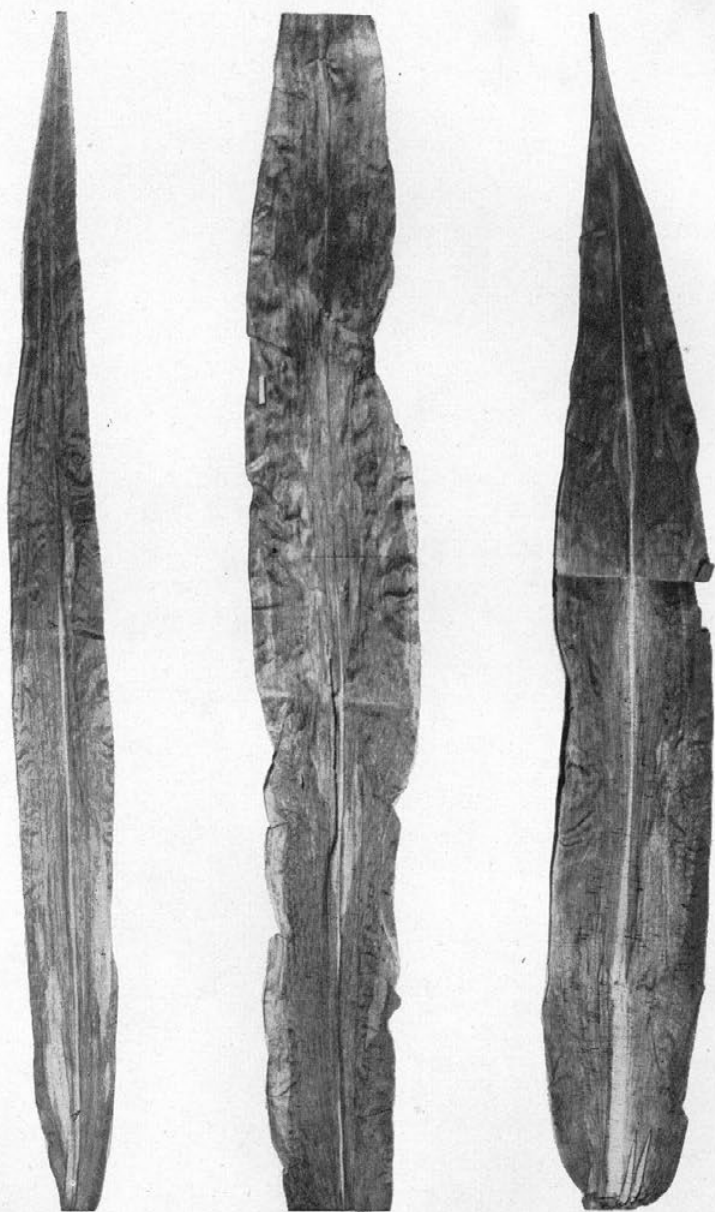
9. VALLEGA, J. 1936. *El « Helminthosporium sativum » P. K. y B. como parásito del trigo, en la República Argentina. Agronomía Org. Of. Centro Est. de Agr. y Vet de Bs. As.* 149, pág. 102.

INDICE

1. Introducción	5
2. Antecedentes en la República Argentina	6
3. Sintomatología	7
4. Etiología de la enfermedad	8
5. Morfología del parásito	11
6. Micelio en los tejidos del huésped	11
7. Estudio del hongo en medios de cultivo	15
8. Crecimiento en diferentes medios de cultivo	25
9. Influencia de la humedad	27
10. Influencia de la reacción del medio	29
11. Influencia de la luz	29
12. Conclusiones	31
13. Bibliografía citada	31



Izquierda : hojas de Sudan Grass. Derecha : maíz Kafir, atacadas por *H. turcicum*
Fot. Lab. Cinem. Min. Agric.



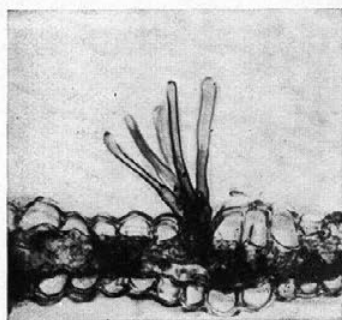
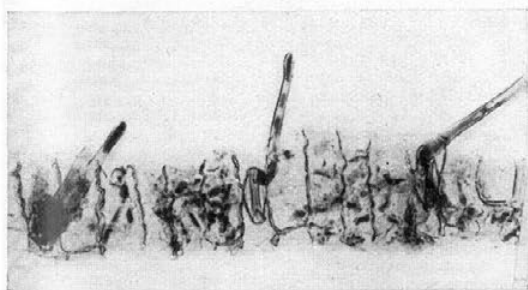
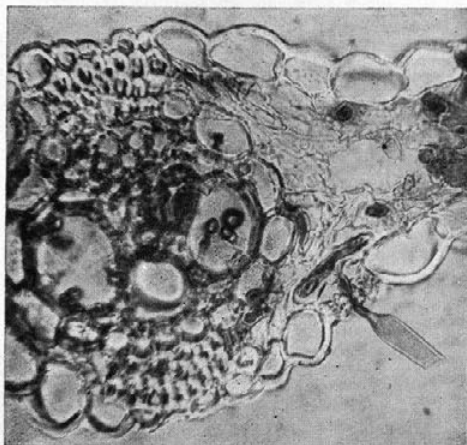
Hojas de maíz infectado naturalmente. Material procedente de Rosario de Lerma.
Fot. Lab. Cinem. Min. Agric.



Izquierda : maíz Pergamino infectado naturalmente por *H. turcicum*. Derecha :
hojas de maíz infectados artificialmente, a los 16 días de la inoculación. Fot. Lab.
Cienc. Min. Agric.

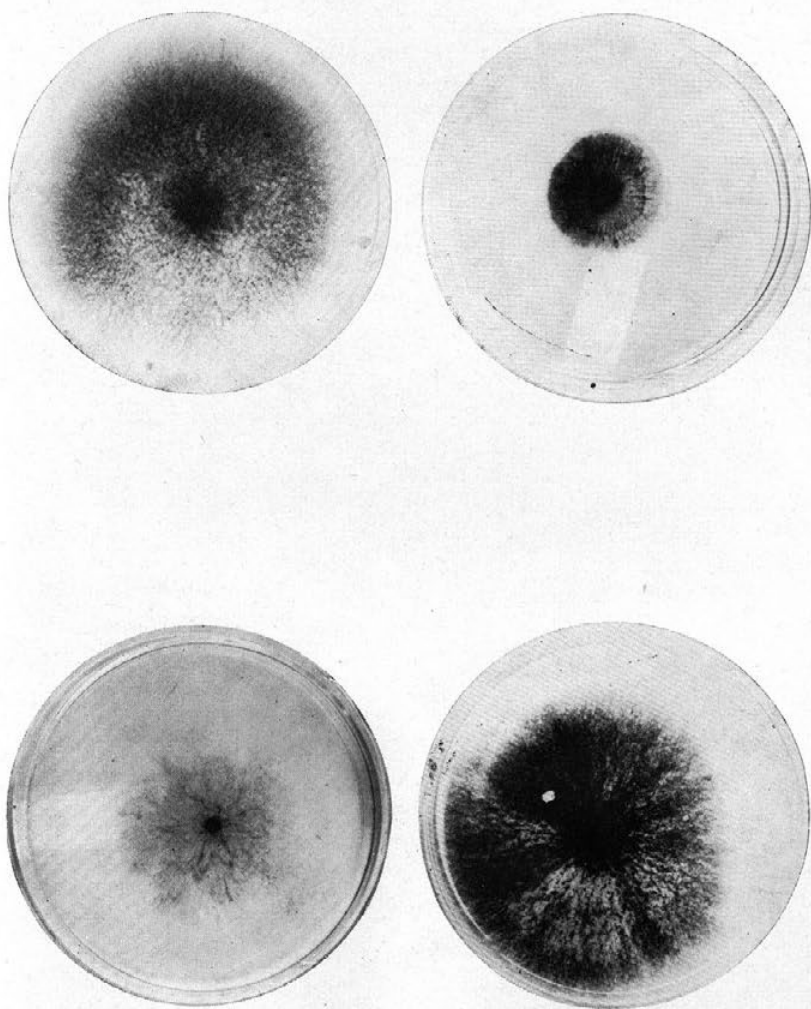


Maizales (variedad selec. Casilda) atacados por el tizón. Fot. Godoy

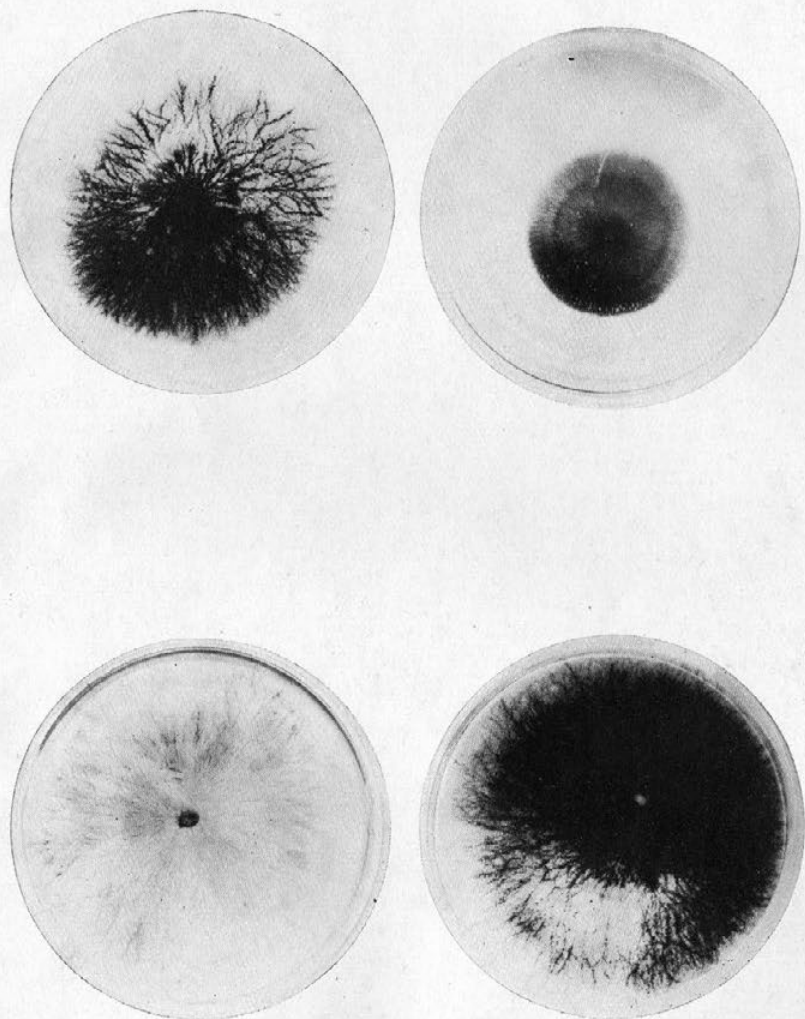


Arriba : corte transversal de hoja de maíz infectada artificialmente con *H. turcicum*. $\times 240$. Fot. Offerman

Abajo : cortes transversales de hojas de maíz infectadas naturalmente por *H. turcicum*. $\times 120$



Crecimiento del hongo en medios de cultivo. 1-4 de izquierda a derecha : 1, agar papa glucosado ; 2, agar zanahoria ; 3, agar harina de maíz, y 4, medio mineral de Czapek. Est. 20° C. Fot. Labor. Cinemat. Min. Agric.



Crecimiento del hongo en medios de cultivo. 1-4 de izquierda a derecha. 1, agar papa glucosado ; 2, agar zanahoria ; 3, agar harina de maíz ; 4, medio mineral de Czapek. Est. 28° C
Fot. Lab. Cinemat. Min. Agric.