Determinación de *Ascochyta lentis* Bond. y Vassil. en lenteja (*Lens culinaris* M.)[1]

Identification of *Ascochyta lentis* Bond. and Vassil. on lentils (*Lens culinaris* M.) in Chile

Paulina Sepúlveda R.[2]
Mario Alvarez A.[2]

SUMMARY

During the 1980–81 season a disease on lentils was detected in the dry–land coastal area of the VI Region, in Chile. Plants showed whitish spots on leaves surrounded by a dark brown ring. These spots were mainly located at the edges of the leaves. A partial or complete defoliation, starting from the base of the plants, was observed. Picnidia on leaves, stems, and pods were also seen.

Ascochyta lentis Bond. and Vassil. was isolated from plants showing the above symptoms. The fungus was grown in PDA 2% , where it formed abundant picnidia, which contained hyaline, bicelular conidia. Lentil seedlings of approximately two weeks old were artificially inoculated with a spore suspension of the fungus, and consecuently field symptoms were reproduced, including the formation of picnidia. *A. lentis* was consistently recovered from the inoculated plants.

En la temporada 1980/81 se detectó, en el secano costero de la VI Región de Chile, una anomalía afectando a plantas de lenteja (*Lens culinaris* M.) de diversas variedades. La sintomatología que presentaban estas plantas consistía inicialmente en manchas blanquecinas, rodeadas de un halo café oscuro, ubicadas de preferencia en los bordes y extremos de los folíolos. Posteriormente se producía una desfoliación parcial o total, comenzando por las hojas basales. Sobre las vainas se presentaban manchas circulares de color café. Se observó, además, la presencia de cuerpos frutales identificados como picnidios de un hongo, de color negro brillante, de forma globosa y ostiolados, formados preferentemente en el centro de las manchas foliares y, además, en vainas y tallos (Figura 1).

Las semillas de vainas afectadas presentaban manchas necróticas, hundidas, de color castaño oscuro. Al reventar picnidios sobre una gota de agua, se observó al microscopio el desprendimiento ondulante de una gran cantidad de conidias hialinas, bicelulares, de forma ovoide a oblonga, que permanecían unidas por una sustancia mucilaginosa.

Aislación del hongo

El hongo se aisló colocando picnidios de hojas afectadas en agua destilada, produciéndose el desprendimiento de conidias. Luego, mediante una aguja esterilizada, se dispersó la suspensión conidial en forma de zig–zag sobre discos con Agar–Papa–Dextrosa al 2%. A los 5–7 días se observó crecimiento de un micelio de color crema que cambió lentamente a café oscuro. Después de 15–20 días se observó la presencia de picnidios formados en el medio de cultivo.

[1] Recepción de originales: 19 de enero de 1982.
[2] Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

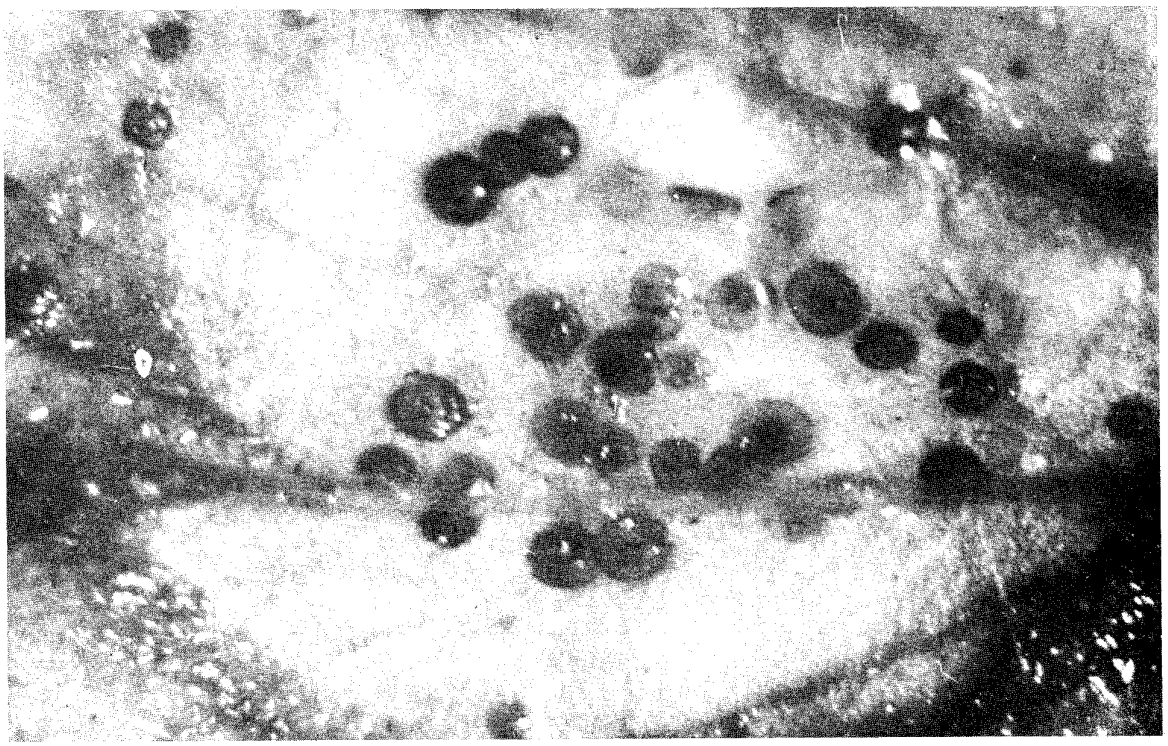

Figura 1. Cuerpos frutales (picnidios) formados sobre una lesión en hoja de lenteja. Estos son globosos, ostiolados, de color negro brillante y semi–sumergidos en el tejido del huésped (Foto: V. Rebuffel).

Figure 1. Fructification bodies (picnidia) in a lesion on a lentil leaf: Picnidia are globe–shaped, ostioled, with a bright black color, and demersed in the host's tissue.

Identificación del hongo

De acuerdo a sus características morfológicas el hongo aislado se clasificó como *Ascochyta* sp., cuyas conidias medían de 13,0 a 22,4 μ de largo por 5,2 a 7,8 μ de ancho y los picnidios entre 100 y 200 μ de diámetro. El hongo fue identificado, a nivel de especie, como *Ascochyta lentis* Bond. y Vassil. por el Commonwealth Micological Institute, donde se encuentra catalogado bajo el Nº 252536.

A. lentis fue descrito como patógeno específico de lenteja en la URSS, entre los años 1930–1932, causando síntomas, en hojas y vainas, similares a los observados en Chile, incluyendo formación de picnidios de 175 a 300 μ de diámetro, que producían conidias que medían de 11,5 a 19,5 μ de largo por 3,5 a 5,8 μ de ancho (Bondartzeva–Monteverde y Vassilievsky, 1941).

Se han encontrado, además, otras especies de *Ascochyta* sobre lentejas, como *A. pisi* en Chile (Mujica, 1943) e India (Khatri y Singh, 1977) y *A. pinodella* en Estados Unidos (Wilson y Brandsberg, 1965).

Pruebas de patogenicidad

El inóculo se multiplicó en caldo de lenteja (40 g de semilla molida, 20 g de dextrosa y 1.000 cc de agua destilada) esterilizado, dejándolo 20 días bajo luz discontinua (12 hr/día) y a temperatura ambiente, lo que permitió un abundante desarrollo del patógeno, incluyendo formación de picnidios.

La inoculación artificial se realizó por dos métodos. En un caso se pulverizó el follaje de 20 plantas de tres semanas de edad, que crecían en maceteros con tierra esterilizada, con una suspensión de conidias, obtenida al filtrar el caldo de lenteja y agregar agua destilada. Luego las plantas se cubrieron con bolsas plásticas, colocándose los maceteros en cámaras húmedas en invernadero. Como testigo se utilizaron 20 plántulas de igual edad, pulverizadas con agua destilada y mantenidas bajo las mismas condiciones. A los 7 días se retiró el plástico, pero se mantuvieron los maceteros en cámara húmeda. Los síntomas se manifestaron a los 10–15 días después de la inoculación, con marchitez parcial de las plantas. A los 30 días de la inoculación se formó una abundante proporción de picni-

dios, tanto en hojas como tallos.

El otro método de inoculación consistió en emplear una suspensión de conidias, obtenidas a partir de placas petri en las cuales se habían formado abundantes picnidios. Para ello, se agregó agua destilada a las placas, se raspó el micelio con una bagueta y luego se filtró. Con dicha suspensión se pulverizaron 100 plántulas de lenteja de 13 días de edad, que crecían en bandejas metálicas con tierra estéril, con 50 cc de la suspensión conidial ($6{,}6 \times 10^5$ conidias/cc). Ambas bandejas se dejaron en cámara húmeda durante 15 días y luego se colocaron bajo condiciones de invernadero.

Quince días después de la inoculación se observó que un 62% de las plantas inoculadas presentaban síntomas de marchitez. Veinte y dos días después de la inoculación se formaron picnidios sobre las hojas del 70% de las plantas inoculadas y, de éstas, un 19% presentaba, además, estos cuerpos frutales en los tallos. Las plantas testigo permanecieron sanas.

En ambas pruebas de patogenicidad, se logró además re–aislar e identificar consistentemente el hongo *A. lentis*, a partir de las plantas inoculadas artificialmente, demostrándose que era el causante de la enfermedad.

Este patógeno se ha descrito, también, causando lesiones necróticas en hojas, tallos, vainas y semillas de lentejas en Santa Fé y San Pedro, Argentina (Mitidieri, 1973 y 1979) y en Río Grande do Sul, en Brasil (Veiga y otros, 1974), coincidiendo estos síntomas con los encontrados en el campo.

LITERATURA CITADA

BONDARTZEVA–MONTEVERDE (Mme. V.N.) and VASSILIEVSKY (N.I.). 1941. A contribution to the biology and morphology of some species of *Ascochyta* on Leguminosae. En: Rev. App. Mic., 20: 232–234. Abst.

KHATRI, H.L. and SINGH, K. 1977. Lentil blight–a new record for India. En: Rev. of Plant Pathology 56(3): 1362. Abst.

MUJICA F. 1943. Boletín Depto. Sanidad Vegetal, Chile. 3(1): 33–35.

MITIDIERI, I.M. de. 1973. Enfermedades criptogámicas nuevas o poco difundidas en la Argentina. IDIA 301: 9–12.

MITIDIERI, I.M. de. 1979. Lentil (*Lens culinaris*) spot caused by *Ascochyta lentis* Bond. and Vassil. in Argentina. En: Rev. of Plant Pathology 58(1): 462. Abst.

VEIGA, P.; MANARA, W.; MANARA, N.T.F.; TARRAGO, M.F.S. 1974. Ocorrência de *Ascochyta lentis* Bond. et Vassil. em lentilha (*Lens culinaris* Medik.) no Rio Grande do Sul. Revista do Centro Ciencias Rurais 4(3): 239–242.

WILSON, V.E. and BRANDSBERG, J. 1965. Fungi isolated from diseased lentil seedlings in 1963–64. Plant Disease Reporter 49(8): 660–662.