

**IDENTIFICACION DE *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) VERTERGR,
EN CULTIVOS DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.) EN LA
IX REGION, CHILE¹**

**Identification of *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, in pea
(*Pisum sativum* L.) fields in the IX Region of Chile**

Jaime Guerrero C.²

S U M M A R Y

During the winter of 1984, a disease on pea was detected in the Carillanca Experimental Station, IX Region of Chile. Affected plants showed small brown to purple spots on the leaves. They were almost circular, without definite margins. Some affected leaves died, due to drying, and remained attached to the stem. All plant parts could be affected, including the petals and pods. The stem lesions were similar in color, but longer and elongated, often extending upward and downward from the nodal area; they could coalesce and take a blue-black color and cause streaking of the stem. Also footrot and severe blight was observed.

Based on the morphology, culture's characteristics, mycological observations and pathogenicity tests, it was concluded that the field symptoms observed correspond to the action of *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, perfect form of *Ascochyta pinodes* (Berk y Blox). This is the first report of this fungus in Chile.

INTRODUCCION

Durante el invierno de 1984, en la Estación Experimental Carillanca (INIA), IX Región, se observó en arveja cv. Tarjet una enfermedad, cuya sintomatología se caracterizaba por la presencia en hojas y vainas de pequeñas manchas circulares, sin márgenes definidos, de color café a púrpura, para luego adquirir tonalidad negro azulada, con apariencia de estrías longitudinales. En la área nodal, éstas eran mucho más evidentes, extendiéndose las lesiones hacia ambos lados, circundando y cubriendo gran parte del tallo.

A medida que avanzaba la enfermedad, se apreciaba necrosis y atizonamiento de hojas y tallos, afectando además otras partes de la planta, como flores y zarcillos, hasta provocar, en algunos casos, la muerte de estos órganos. Junto con los síntomas indicados, se presentaba marchitez de hojas y pudrición de la base del tallo. (Figura 1).

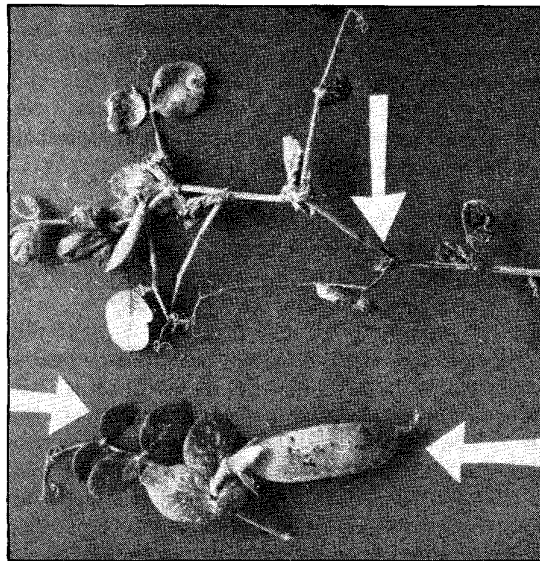


FIGURA 1. Síntomas característicos provocados por *M. pinodes* en hojas, tallos y vaina de arveja.

FIGURE 1. Characteristic symptoms caused by *M. pinodes* on leaves, stems and pod of pea.

¹ Recepción de originales: 10 de abril de 1985

² Estación Experimental Carillanca (INIA), Casilla 58-D, Temuco, Chile.

Los síntomas y signos observados coincidían preferentemente con los descritos por diversos autores, para una seria enfermedad fungosa provocada por una de las tres especies de *Ascochyta* relacionadas con la arveja, que pueden actuar asociadas o por separado: *A. pisi* (Lib), *A. pinodella* (Jones) (*Phoma medicaginis* var. *pinodella* (Jones) (Boerema) según Gane y otros, 1984) y *A. pinodes* (Berk y Blox). Esta última es la única que posee fase sexual o perfecta, y que corresponde a *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, (Butler y Jones, 1961; Jones y Linford, 1925; Rostogoni y Saini, 1984; Rossi, 1975; Schroeder, 1953; Walker, 1957; Weimer, 1947).

Esta enfermedad, provocada por el o los patógenos involucrados en el complejo *Ascochyta*, ha sido informada en muchas partes del mundo donde se cultiva la arveja, causando importantes pérdidas (Rostogoni y Saini, 1984; Rossi, 1975; Walker, 1964; Wallen, 1965).

En Chile, sólo se ha informado de *A. pisi* (Lib) (Mujica y Vergara, 1980), no existiendo antecedentes sobre la presencia de *M. pinodes*.

El objetivo del presente trabajo fue la identificación y caracterización del o los agentes causales de los síntomas observados en arveja y que están relacionados con el complejo *Ascochyta*, que afecta este cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Numerosas muestras de plantas de arveja, recolectadas en la Estación Experimental Carillanca, que presentaban síntomas y signos de la enfermedad, fueron analizadas en laboratorio, procediéndose de la siguiente forma:

- Observación directa de tejido dañado bajo lupa estereoscópica y microscopio óptico.
- Mantención de tejido enfermo en cámara húmeda, para lo cual se utilizó placas Petri estériles, con papel filtro húmedo en el interior, permaneciendo en condiciones de laboratorio, por 48 a 72 hr.
- Para efectuar los aislamientos, se extrajeron pequeños trozos de tejido dañado, de tallos y hojas que presentaban síntomas de la enfermedad. Previo a la siembra de los trozos, en medio agar–papa–dextrosa (APD) al 20/o, éstos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 10/o por 1–2 min. Paralelamente, peritecios provenientes de tallo enfermo fueron colocados en agua estéril y posteriormente distribuidos sobre placas Petri, con idéntico medio de cultivo. Las placas se incubaron en estufa de cultivo a 24° C, por cinco días. Luego se dejaron bajo régimen de luz natural, a temperatura ambiente.

– Tres plantas de arveja, de cinco semanas de edad, desarrolladas en macetas con tierra estéril, fueron inoculadas, mediante atomizador manual De Vilbiss, con una suspensión de ascosporas preparadas en agua estéril, a una concentración media, estimada en base a turbidez. Las ascosporas fueron obtenidas a partir de peritecios maduros, desarrollados en tallos enfermos, los cuales fueron aplicados en 50 cc de suspensión. Otras tres plantas fueron inoculadas con una alta concentración de picnidiosporas extraídas de un aislamiento puro en APD. A este medio se agregó agua estéril y se desprendieron las conidias con una bagueta de vidrio esterilizada; luego se filtró y se aplicó en 50 cc de suspensión. Se dejaron tres plantas como testigo, sin inocular.

Una vez inoculadas, las plantas se mantuvieron bajo bolsas de polietileno, para otorgarles condiciones de alta humedad, dejándolas en el laboratorio, bajo temperaturas promedio de 20° – 22° C.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento e identificación

Tejido superficial, proveniente de tallos, fue analizado directamente bajo el microscopio óptico, detectándose la presencia de pequeños cuerpos frutales, inmersos, redondos, ostiolados, de color café oscuro o negro, ubicados subepidérmicamente, con un pequeño cuello sobresaliente, identificado como peritecio, cuyo diámetro variaba entre 120 y 200 μ ; en su interior contenían ascos, cortos, cilíndricos y con doble membrana, de tamaño entre 60–70 μ de largo, con 10–15 μ de ancho. Cada asco contenía ocho ascosporas, hialinas, bicelulares, con notorios glóbulos de aceite en cada célula y constreñidas a nivel del septo. Las ascosporas medían 12–16 μ de largo por 6–9 μ de ancho. Las medidas indicadas anteriormente, son un promedio de aproximadamente 50 mediciones, para cada caso en particular (Figura 2).

Tanto de los peritecios, como de los trozos de tallo sembrados, se desarrolló un hongo que creció rápidamente en APD, formándose inicialmente un micelio de color blanquecino, el que luego se tornó a gris oscuro. A partir de las 48 hr de incubado, éste produjo abundantes picnidios, globosos, ostiolados, color café oscuro a negro, de 80–140 μ de diámetro. El exudado de picnidiosporas era blanco amarillento y algo escaso; éstas eran típicamente bicelulares, con abundantes glóbulos de aceite en su interior y constreñidas en el centro; medían 10–13 μ de largo, por 4–4,5 μ de ancho.

El hongo fue identificado como *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, forma sexual del hongo



FIGURA 2. Peritecio, ascos y ascosporas de *M. pinodes*, desarrollados en tallo de arveja (1000x, aprox.).

FIGURE 2. Perithecium, asci, and ascospores of *M. pinodes*, developing on the pea stem (1000x, aprox.).

Ascochyta pinodes (Berk y Blox), ya que sus características morfológicas y de cultivo coincidían con las señaladas por Melhues, 1913; Rossi, 1975; Schroeder, 1953; Walker, 1957.

Frecuentemente se encontró, asociados en la misma planta, síntomas y signos (picnidios) de *A. pisi*, incrementando el nivel de daño; no obstante, en la área donde se trabajó, siempre existió predominio de *M. pinodes*. Ambas determinaciones fueron confirmadas por el Commonwealth Mycological Institute (CMI), quedando registrados, respectivamente, bajo los números 292060 y 292061.

Pruebas de patogenicidad

A partir del cuarto día, en las plantas inoculadas con ascosporas o con picnidiosporas, se desarrollaron síntomas similares a los observados en el campo: marchitez de los folíolos y hojas, las cuales morían, quedando pegadas al tallo, y manchas color café a púrpura, tanto en hojas, como en tallos, adquiriendo posteriormente en los tallos tonalidad negro—azulada. Las lesiones predominaban en la zona de inserción de los pecíolos de las hojas infectadas, desde donde se extendían y cubrían prácticamente todo el tallo. Finalmente, se produjo atizonamiento y muerte de las plantas. En hojas y tallos, se obtuvo abundante desarrollo de picnidios, con ambos tipos de inoculaciones. Los peritecios se desarrollaron en bajo número, en su mayoría inmaduros y preferentemente en tejido muerto, de plantas inoculadas con ascosporas. Las plantas mantenidas como testigos no desarrollaron síntomas ni signos, permaneciendo sanas a través de todo el experimento.

De plantas inoculadas artificialmente, se logró re-aislar e identificar el hongo *M. pinodes* y su forma *A. pinodes*.

CONCLUSIONES

Tanto por las características morfológicas y culturales del hongo aislado, como por las observaciones microscópicas del tejido afectado y las pruebas de patogenicidad realizadas, se concluye que los síntomas predominantes, observados en plantas de arveja, en la Estación Experimental Carillanca, IX Región, eran provocados por el hongo Ascomicete *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, forma sexual del hongo imperfecto *Ascochyta pinodes* (Berk y Blox).

RESUMEN

Durante el invierno de 1984, en la Estación Experimental Carillanca (INIA), IX Región, se detectó en arveja (*Pisum sativum* L.) cv. Tarjet, una enfermedad caracterizada por la presencia, sobre hojas y vainas, de pequeñas manchas color café a púrpura, de forma poco regular, casi circulares, sin márgenes definidos. En los tallos, las lesiones eran más grandes y elongadas, de color café a púrpura, pudiendo coalescer para posteriormente adquirir tonalidad negro—azulada, siendo más evidentes en la área nodal, donde se extendían hacia ambos lados, circulando y cubriendo gran parte del tallo. Además, las hojas afectadas se marchitaban y morían, quedando pegadas al tallo;

asimismo, se observó pudrición de la base del tallo, atizonamiento y muerte de plantas.

De acuerdo a las pruebas de patogenicidad, a las características morfológicas y culturales del hongo aislado y a las observaciones microscópicas realizadas, se concluye que los síntomas predominantes observados en plantas de arveja, en la Estación Experimental Carillanca, IX Región, se debían a la acción del hongo *Mycosphaerella pinodes* (Berk y Blox) Vertergr, forma sexual de *Ascochyta pinodes* (Berk y Blox). Constituyendo ésta la primera referencia para Chile.

LITERATURA CITADA

- BUTLER, E.J. and JONES, S.G. 1961. Plant Pathology. London. Mac Millan. 979 p.
- GANE, A.J.; BIDDLE, A.J.; KNOTT, C.M.; and EAGLE, D. J. 1984. Pea Growing Handbook. Processors and Growers Research Organization. England. 242 p.
- JONES, F. and LINFORD, B. 1925. Pea disease survey in Wisconsin. Agricultural Exp. Sta. Res. Bull. 64: 24–29.
- MELHUS, J.E. 1913. *Septoria pisi* in relation to Pea Blight. Phytopathology 3: 51–59.
- MUJICA, F. y VERGARA, C. 1980. Flora fungosa chilena. 2da. Ed. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía, Ciencias Agrícolas Nº 5. 308 p.
- RASTOGONI, K.B. and SAINI, S.S. 1984. Inheritance of resistance to Pea Blight (*Ascochyta pinodella*) and induction of resistance in pea. (*Pisum sativum* L.). Euphytica 33: 9–19.
- ROSSI, L.A. 1975. Fitopatología. Curso Moderno. Buenos Aires. Ed. Hemisferio Sur. (Tomo III. Micosis). 374 p.
- SCHROEDER, W.T. 1953. Podres de la raíz, marchitamientos y plagas de los chícharos. En: The Yearbook of Agriculture. Enfermedades de las plantas. México, Centro Regional de Ayuda Técnica. p: 464–472.
- WALKER, J.C. 1957. Plant Pathology. New York. The McGraw–Hill. 707 p.
- WALLEN, V.R. 1965. Field evaluation and the importance of the *Ascochyta* complex on peas. Can. J. Plant Sci. 45: 27–33.
- WEIMER, J.L. 1947. Resistance of *Lathyrus* spp. and *Pisum* spp. to *Ascochyta pinodella* and *Mycosphaerella pinodes*. J. Agri. Res. (US) 75 (5–6): 181–190.