

CICLO DE VIDA DE *RHYNCHOSPORIUM SECALIS*
(DEUTEROMYCETES) CAUSANTE DE LA ESCALDADURA
DE LA CEBADA

por Magda Carvajal *
y Yolanda Hornelas**

LIFE CYCLE OF *RHYNCHOSPORIUM SECALIS* (DEUTEROMYCETES)
CAUSE OF THE BARLEY LEAF BLOTCH

SUMMARY

The life cycle of *Rhynchosporium secalis* is described, confirming the epidermic and stomatal penetration of the hyphae of this fungus into the barley leaves. We also confirmed the other stages of the cycle.

RESUMEN

Se describe el ciclo vital de *Rhynchosporium secalis*, confirmándose tanto la penetración epidérmica como la estomatal de las hifas del hongo en las hojas de cebada escaldadas. También se confirman las otras fases del ciclo.

INTRODUCCION

La escaldadura de la cebada es una enfermedad causada por el hongo *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) Davis, que baja mucho la producción de este

* Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, Apartado Postal 70-233, Deleg. Coyoacán, México, D.F., 04510.

** Servicios Académicos de Microscopía Electrónica de Barrido, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México, D.F., 10810.

cereal. Los síntomas se encuentran en las Figs. 1 y 2. Este hongo fué descrito por primera vez por Oudemans (1897), como *Marsonia secalis*, quien lo encontró en centeno en Holanda. Posteriormente, Davis (1919) lo consideró en el género *Rhynchosporium*.

Rhynchosporium es un Deuteromycete del orden Moniliales, familia Moniliaceae (Caldwell, 1937); posee micelio hialino o blanco que se difunde como estroma compacto, bajo la cutícula del hospedante. Los conidios nacen sésiles de células del estroma fértil, son hialinos, con un septo y de forma cilíndrica a ovalada, con un pico corto oblicuo en la mayoría de las esporas, que miden de 12 - 20 x 2 - 4 μm (Dickson, 1956).

Ha habido ideas contradictorias acerca del ciclo de *R. secalis* en sus diferentes fases. Además, este ciclo no se encuentra descrito con detalle en la literatura, por lo que un objetivo del presente trabajo fue estudiar el ciclo de vida de esta especie.

MATERIALES Y METODOS

Para poder estructurar e ilustrar el diagrama del ciclo de vida de este hongo, se hizo una revisión bibliográfica básica sobre el tema y se realizaron observaciones y microfotografías tanto al microscopio óptico, como al microscopio electrónico de barrido marca Jeol JSM-35, de hojas escaldadas de la variedad de cebada Porvenir, del Campo Agrícola Experimental El Horno, en Chapingo, Estado de México. Además se observó el primer ejemplar de *R. secalis* colectado en México en 1947 y obtenido del Herbario de Fitopatología del Instituto de Biología, UNAM (MEXU), para ver los cambios en la morfología externa de las esporas después de 38 años. Dicho ejemplar, fue colectado e identificado por J. Rodríguez y M. Zenteno y registrado en Chapingo con el número 862 y en MEXU como 604.

En la elaboración de las preparaciones para la microscopía óptica, se remojaron pedazos de hojas escaldadas en agua destilada estéril, a una temperatura entre 18 y 22°C durante un día y se montaron las preparaciones en lactofenol. Para observar mejor la penetración, se utilizaron lesiones azulosas jóvenes, que son las que están en plena esporulación.

Para la observación en microscopio electrónico de barrido, se fijaron las hojas escaldadas en glutaraldehído al 2.5 % diluido en Na_2HPO_4 , a un pH de 7.4 por una hora. Después se deshidrataron las muestras con alcohol a dife-

rentes concentraciones y se hicieron dos cambios en acetona. Posteriormente las muestras se secaron a "punto crítico" en una atmósfera de CO₂, para evitar que se colapsaran. Las 50 muestras se montaron y recubrieron con oro ionizado.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Fig. 3 muestra el ciclo de vida de *R. secalis*, en donde tenemos en primer término, que la germinación de los conidios es por cualquier extremo, donde se forma un tubo germinativo y después un apresorio (Figs. 3A, B, 4, 5, y 6). Estas observaciones coinciden con las de Caldwell (1937). A continuación sucede la penetración directa que da lugar a una hifa subcuticular (Fig. 6). Asimismo, se observan hifas del hongo tanto en los estomas cerrados como en los abiertos (Figs. 7 y 8).

Se comprobó, coincidiendo con Ayres (1972), la presencia de hifas subcuticulares, con sus apresorios, las cuales penetran a la cutícula tanto en forma mecánica, como por degradación enzimática. Los apresorios ayudan al hongo a penetrar en la planta, al aumentar la adhesión a la superficie de la misma y aplican fuerza, provocando un medio favorable para la degradación de la pared celular del hospedante.

La forma en que la hifa penetra a las células del mesófilo, para alimentarse de ellas y cómo las colapsa, se observa en las Figs. 3(C, D, E, F), 9, 10 y 12. Mientras que el crecimiento del hongo se demuestra en las Figs. 3F y 10, en concordancia con los trabajos de Ayesu-Offei y Clare (1970) y de Caldwell (1937). Se vió el crecimiento de hifas subcuticulares ramificadas, el desarrollo del estroma a partir de ellas y el colapso del mesófilo.

La esporulación se inicia del micelio subcuticular, el cual forma segmentos cortos de la hifa o conidióforos cortos y cada segmento produce uno o varios conidios, en un principio sésiles [Fig. 3 (G, H)] y que después se desprenden (Fig. 10, 11, 12 y 13). Los conidios son bicelulares en forma de cuerno, de ahí el nombre de *Rhynchosporium*. También observamos que en variedades resistentes, las esporas son más ovaladas que en las variedades más susceptibles (Figs. 3H, 10 a 11). Resultó interesante estudiar las esporas de *R. secalis* del primer ejemplar colectado en México en 1947; se observó que abundan las esporas y algunas están deformadas probablemente debido a la deshidratación sufrida por tantos años (Fig. 14, 15 v 16); sin embargo, hay conidios sésiles inmaduros y maduros en perfecto estado (Fig. 17, 18 y 19).

Como señalan Ryan y Grivell (1974), Caldwell (1937) y Ayesu-Offei y Clare (1970), en la descripción de síntomas, las capas de pectina y cutícula de las células de cebada infectada, se mantienen intactas hasta el momento de la esporulación del hongo. La pared celular es degradada y reemplazada por hifas.

Se observó que los conidios se forman como evaginaciones de las células superficiales del estroma fértil y la esporulación es más abundante en la parte central de la lesión foliar, la cual se encuentra completamente colapsada. No fué posible observar lo encontrado por Ayesu-Offei y Clare (1970), quienes registraron el estroma subestomatal produciendo conidios que salen por las aperturas estomatales; solamente se encontró que la esporulación se produce rompiendo la epidermis, con lo cual se causa un efecto indirecto dañino a la planta.

Por medio de la microscopía electrónica de barrido, se observó la penetración de *R. secalis* por los estomas, hasta dos hifas en un mismo ostiolo (Figs. 7 y 8), lo que va de acuerdo con lo registrado por Bartels (1928) y Mackie (1929) respecto a que los tubos germinativos del hongo penetran también por las aperturas estomatales y desmiente las aseveraciones de Ayesu-Offei y Clare (1970) y de Caldwell (1937) con respecto a que el hongo penetra únicamente por la cutícula y epidermis y que no penetra a través de los estomas. El estoma está al principio cerrado, presentando una resistencia a la entrada de las hifas o tubos de germinación (Fig. 7), pero después posiblemente por efecto de la toxina, se abre dejando paso a las hifas hacia el interior de la hoja (Fig. 8). *R. secalis* aumenta la permeabilidad de las membranas de las células oclusivas y de las epidérmicas, que al morir aumentan la concentración de nutrientes en los espacios intercelulares libres.

Ayres (1972) aceveró que el crecimiento a través de poros estomatales nunca se ha observado, pero Ayesu-Offei y Clare (1970) y Ali (1974) afirman que el hongo esporula por las aperturas estomatales, aunque esto no se puede tomar como crecimiento hifal, ya que los conidios son los que salen y no se ha registrado que lo hayan hecho hifas estériles. De modo que si el crecimiento a través de los poros nunca se ha observado, hay bases para creer que lo que apreciamos en las Figs. 7 y 8, es penetración por los estomas.

Todas las fases del desarrollo correspondiente al ciclo de este hongo, traen trastornos fisiológicos en la cebada. Se aumenta la respiración y la

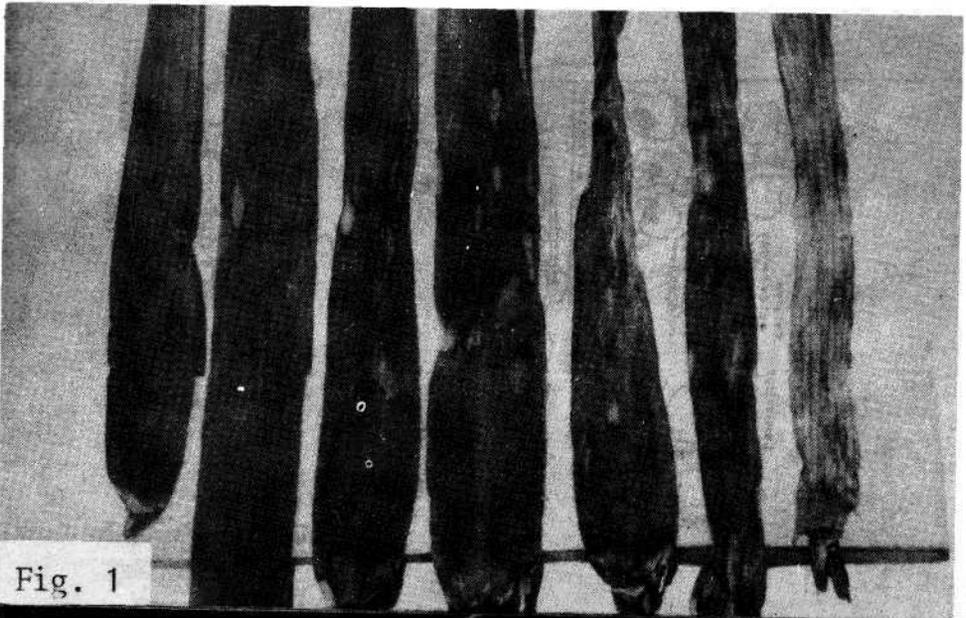


Fig. 1

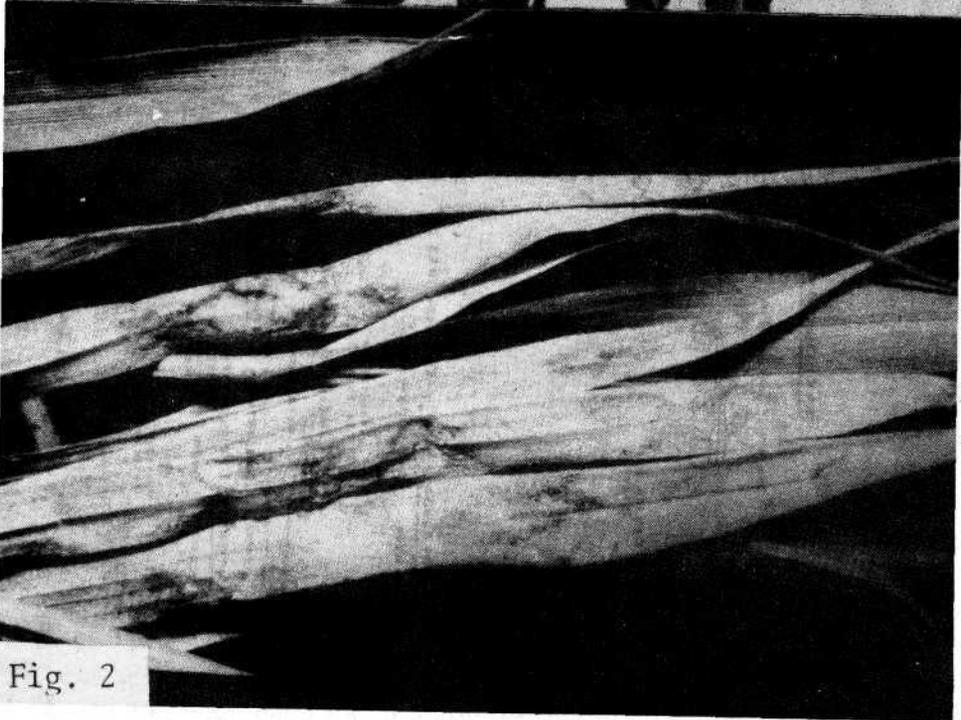


Fig. 2

Figs. 1-2: Síntomas de escaldaduras de la cebada. 1: Secuencia del daño por escaldadura en hojas. 2: Lesiones jóvenes en plena esporulación.

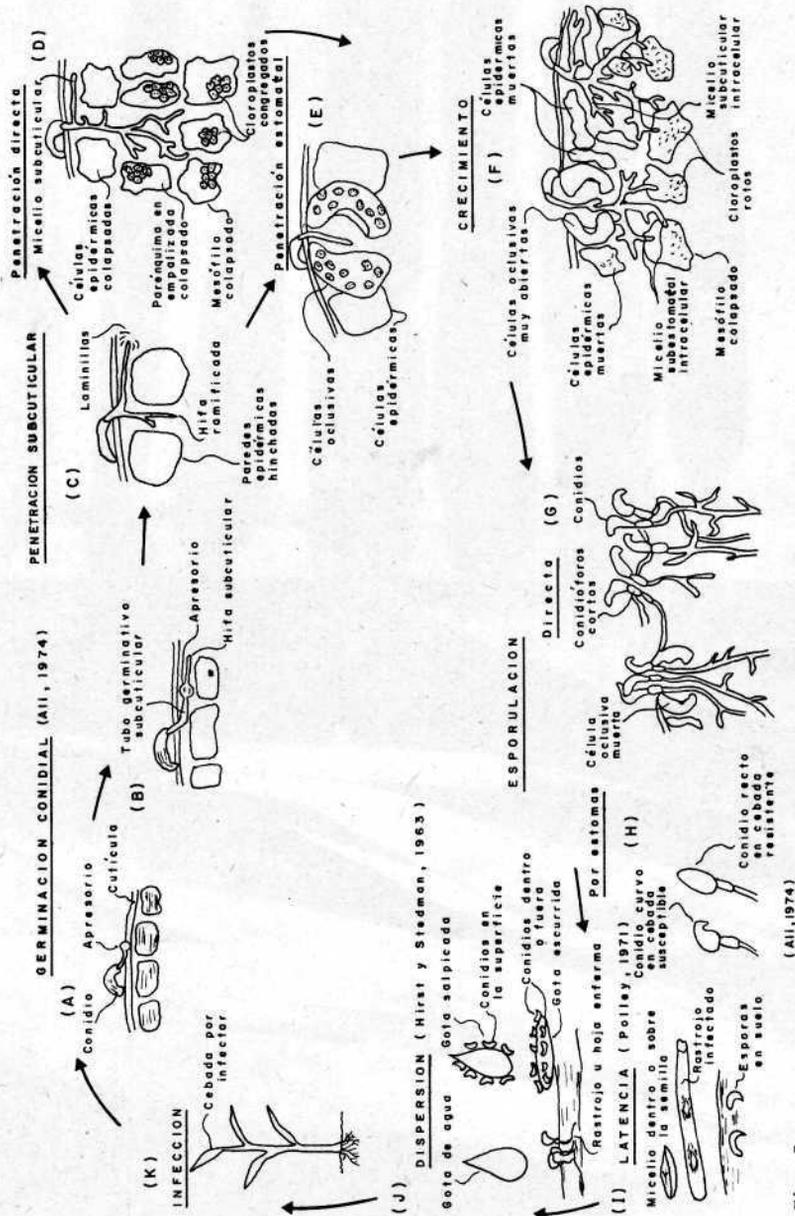
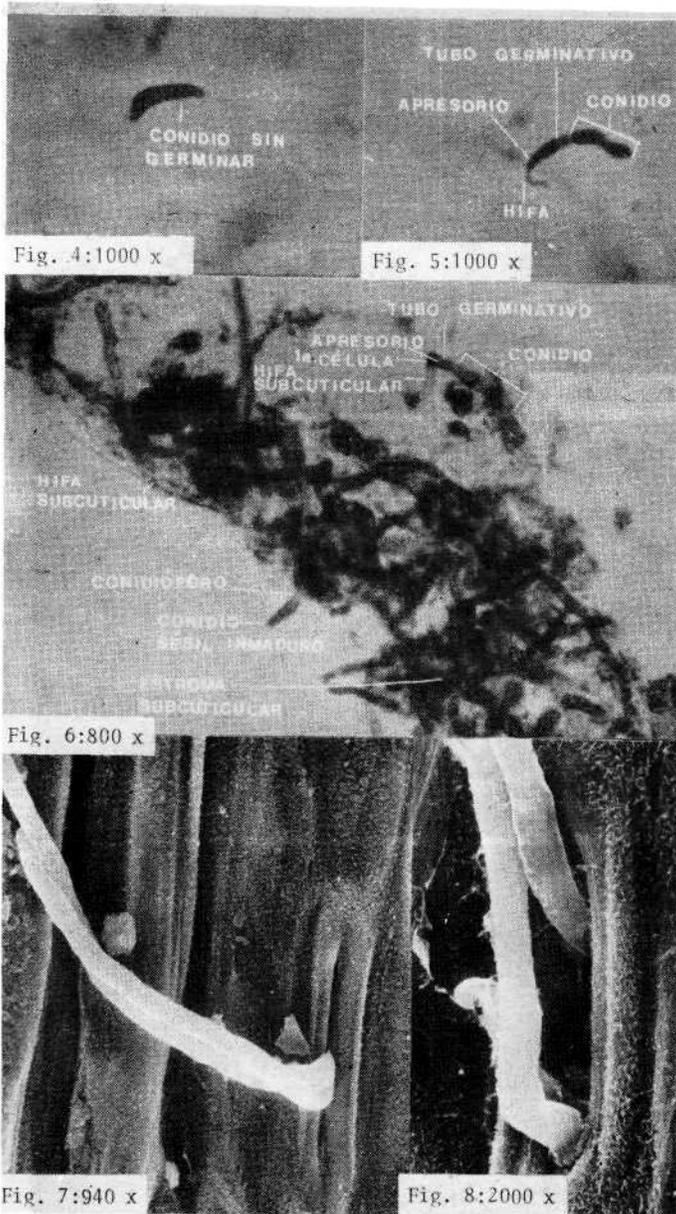


Fig. 3

Fig. 3: Ciclo de vida de *Rhynchosporium secalis* [elaborado por uno de los autores (Carvajal), en base a estudios propios y modificando a varios autores].



Figs. 4-8: Germinación y penetración de *R. secalis*. 4: Conidios sin germinar. 5: Conidio germinando. 6: Penetración subcuticular y germinación. 7: Penetración estomatal de dos hifas en una hoja de cebada. 8: Hifas abriendo un estoma de una hoja de cebada.



Fig. 9:400 x

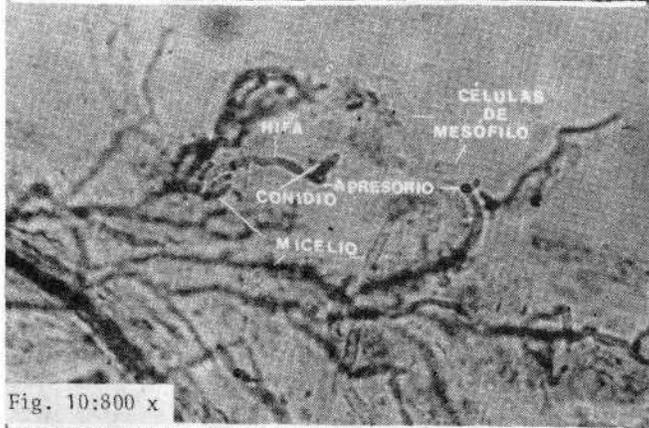


Fig. 10:800 x

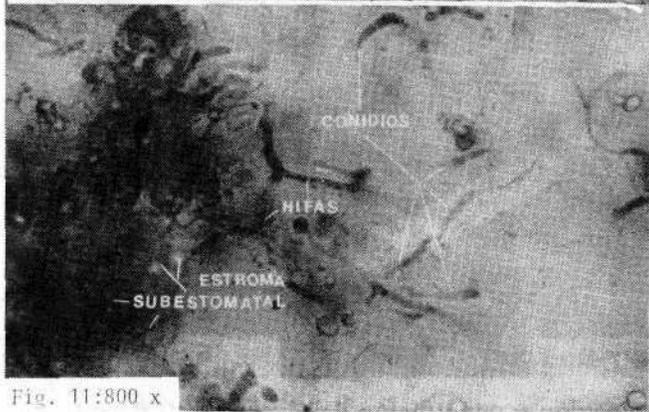
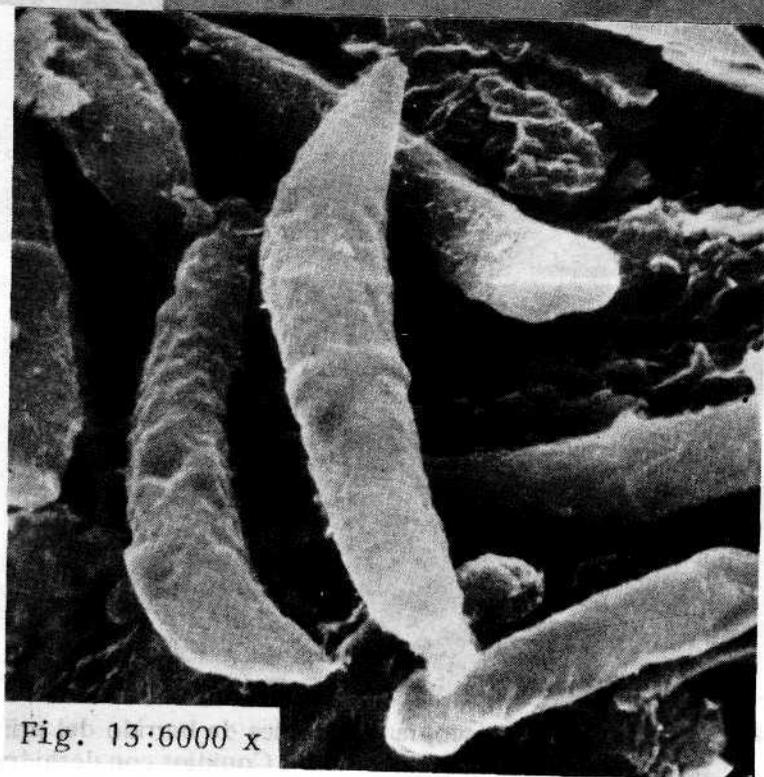
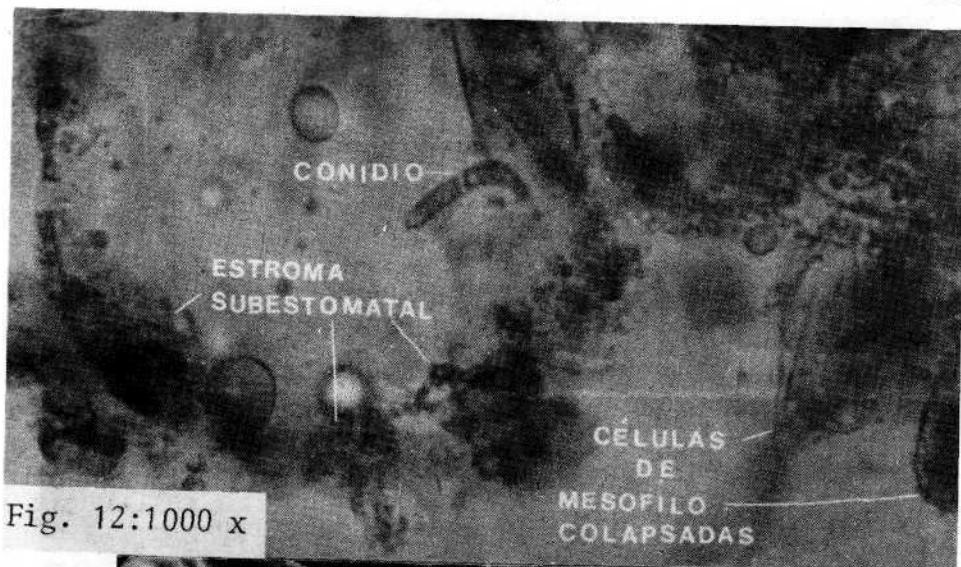


Fig. 11:800 x

Figs. 9-II.- Crecimiento de *R. secalis*. 9-10: Penetración de las hifas en células del mesófilo y su crecimiento. II. Formación de conidios y crecimiento hifal en hojas de cebada.



Figs. 12-13.- Mesófilo colapsado y conidios bicelulares. 12: Células de mesófilo colapsadas y conidios bicelulares. 13: Espora bicelular.

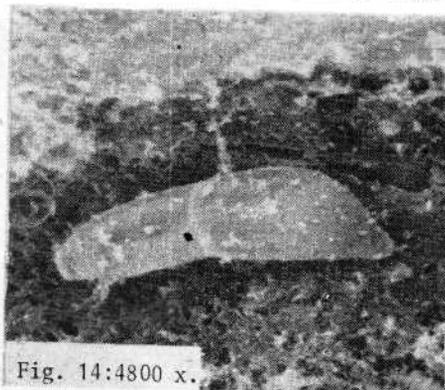
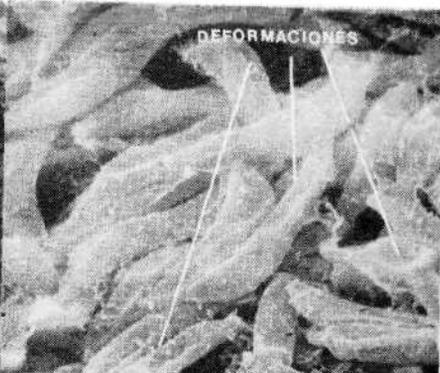


Fig. 14:4800 x.



DEFORMACIONES

Fig. 15:2600 x.

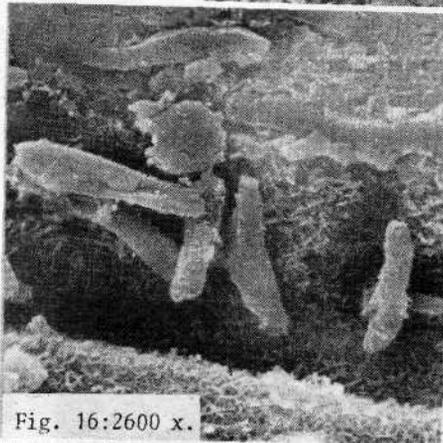


Fig. 16:2600 x.

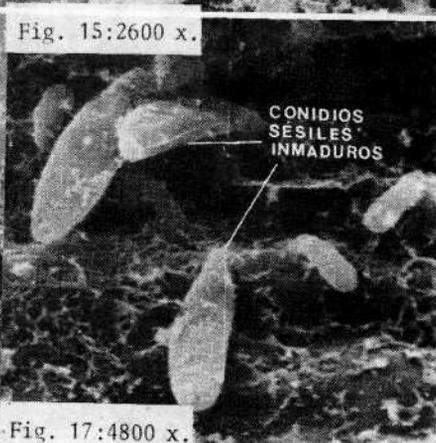
CONIDIOS
SÉSILES
INMADUROS

Fig. 17:4800 x.

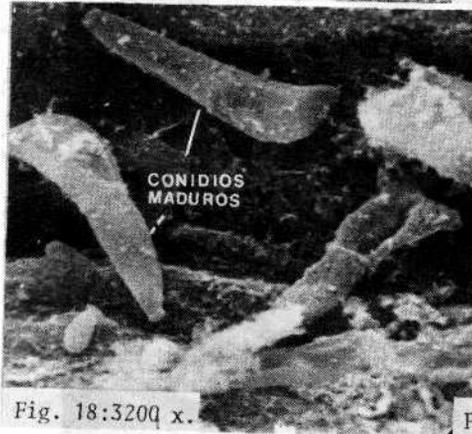
CONIDIOS
MADUROS

Fig. 18:3200 x.

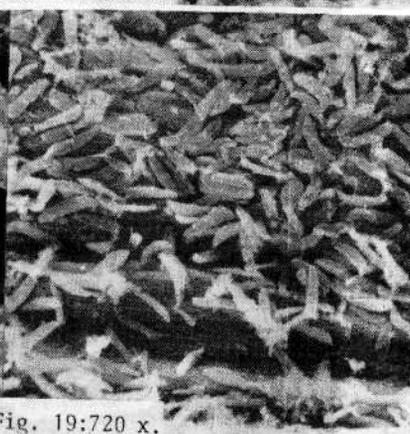


Fig. 19:720 x.

Figs. 14-19: Estudio de microscopía electrónica de barrido del primer ejemplar de *R. secalis* colectado en México. 14-16: Conidios con deshidratación ligera. 17: Conidios sésiles inmaduros. 18-19: Conidios bicelulares maduros desprendidos.

transpiración, así como la actividad de la peroxidasa, prolifenoloxidasa y la catalasa, lo cual conduce a un estado patológico de la cebada (Peresykin y Drapatyi, 1977).

El aumento en la transpiración, en la cebada con escaldadura, es un efecto frecuente en patógenos que dañan a las capas superficiales de la hoja, ya que se incrementa la transpiración cuticular y se pierde agua. Este daño ocurre durante la esporulación del patógeno (Dickinson y Lucas, 1977). Por último, en la cebada enferma, los niveles de auxina total suben y su efecto se atribuye al ácido indol acético. La giberelina aumenta a los 10 días y baja a los 20, aumentando también la citoquinina (Allen y Lyon, 1978).

LITERATURA CITADA

- Ali, S.M., 1974. Factors influencing infection, colonization and symptom expression in barley by *Rhynchosporium secalis*. *Aust. J. Agric. Res.* 25: 9-20.
- Allen, D. M. y A. J. E. Lyon, 1978. The influence of infection by *Rhynchosporium secalis* on growth regulators of barley. *Physiological Plant Pathology* 12: 159-166.
- Ayesu-Offei, E.N. y B. G. Clare, 1970. Processes in the infection of barley leaves by *Rhynchosporium secalis*. *Aust. J. Biol. Sci.* 23: 299-307.
- Ayres, P.G., 1972. Abnormal behaviour of stomata in barley leaves infected with *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis. *J. Exp. Bot.* 23: 683-691.
- Bartels, F., 1928. Studien über *Marssonina graminicola* Forsh. *Auf dem Geb. Pflanzenkrankh. u Immunität Pflanzeur.* 5: 73-114.
- Caldwell, R. M., 1937. *Rhynchosporium* scald of barley, rye and some other grasses. *Agric. Res.* 55: 175-198.
- Davis, J.J., 1919. Notes on parasitic fungi in Wisconsin VI. *Wisc. Acad. Sci. Arts, Letters J. Trans.* 19: 705-727.
- Dickson, J.G., 1956. *Diseases of field crop.* 2nd. Ed. Mc.Graw Hill Book, Nueva York, 49 p.
- Hirst, J. M. y O. J. Stedman, 1963. Dry liberation of fungus spores by raindrops. *Jour. Gen. Microbiology* 33: 335-344.
- Mackie, W.W., 1929. Inheritance of resistance to barley scald. *Phytopathology* 19: 1141.
- Oudemans, C.A.J.A., 1897. Observations Mycologiques. *K. Akad. Wetensch. Amsterdam, Verslag. Wissen. Naturk. Afd.* 6: 86-92.
- Peresykin, V.F. y N.A. Drapatyi, 1977. Features of some physiological bio-

chemical processes in barley leaves infected by *Rhynchosporium graminicola* Heins. **Fiziol. i Biokhimiya Kul't. Rast.**, 9: 377-380.

Polley, R.W., 1971. Barley leaf blotch epidemics in relation to weather conditions with observations on the overwintering of the disease on barley debris *Rhynchosporium secalis*. **Plant Pathol.** 20: 184-190.

Ryan, C.C. y C. J. Grivell, 1974. An electron microscope study of the outer layers of barley leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. **Aust. J. Plant Physiol.** 1: 313-317.