

Pie negro o Necrosis del cuello (*Phoma lingam* (Tode: Fr.) Desmaz.) en cultivos de colza canola en la Argentina

SILVIA GAETÁN, MARTA MADIA, ANA RODRÍGUEZ

Este trabajo tiene por objeto identificar la etiología de una enfermedad detectada en un cultivo de colza canola de primavera, llevados a cabo en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires y en la localidad de Bragado, Provincia de Buenos Aires, Argentina. La misma se presentó en la etapa de fructificación (G_1 - G_2) y se caracterizó por la presencia de una necrosis de la región basal de los tallos asociada a un cancro de bordes irregulares y tamaño variable. Las plantas evidenciaron un desecamiento prematuro y las silicuas no presentaron semillas. Se detectaron también síntomas en hojas. Sobre los tejidos desintegrados se observaron, bajo lupa, picnidios globosos ostiolados. Los análisis de laboratorio y las pruebas de patogenicidad, efectuadas sobre plántulas de tres variedades y un híbrido, indicaron que se trataba de la enfermedad conocida como Pie Negro o Necrosis del cuello de la colza causada por el anamorfo (*Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desmaz.). Se reporta por primera vez, en Argentina, la presencia de este patógeno fúngico en ejemplares de canola, en condiciones de campo y se describe la sintomatología observada.

S. GAETÁN, A. RODRIGUEZ Y M. MADIA. Cátedra de Fitopatología. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Avda. San Martín 4453 (1417). Capital Federal. Argentina. sgaetan@mail.agro.uba.ar

Palabras clave: colza, *Phoma lingam*, pie negro, necrosis del cuello, síntomas foliares.

INTRODUCCIÓN

La colza, especie anual *Brassicaceae* es un cultivo oleaginoso del cual se cultivan dos especies: *Brassica napus* L. var. *oleifera* y *B. campestris* L... A partir de 1974, con la mejora en la calidad de aceite y harina, ocupa el tercer lugar en producción de oleaginosos en el mundo. En la Argentina este cultivo resulta una alternativa interesante ya que posee un ciclo vegetativo de invierno y primavera, de manera que es factible lograr buenos resultados en un área similar a la triguera, enriqueciendo los esquemas de rotación agrícola. (MURPHY Y PASCALE, 1991).

En un cultivo de colza de primavera del híbrido Iciola 41 conducido por la Cátedra de Cultivos Industriales, en parcelas del campo de experimentación de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, se detectó, hacia fines de noviembre de 1994, una enfermedad caracterizada por la necrosis de tejidos corticales asociados a lesiones deprimidas en la base del tallo (Figura 1). Los síntomas fueron observados en la etapa fenológica correspondiente a fructificación (G_1 - G_2). Se observó que los canchales, cóncavos, de bordes irregulares y tamaño variable, presentaban una coloración pardo oscura; cuando éstos anillaban el tallo, al descalzar las plantas,



Fig. 1.—Síntoma en la base del tallo en el híbrido Iciola 41 producidos por *P. lingam* en condiciones de campo: tejidos corticales necrosados asociados a lesiones deprimidas.



Fig. 2.—Síntoma foliar en condiciones de campo: lesiones necróticas de color grisáceo, halo clorótico y con desarrollo de picnidios.

las raíces quedaban en el suelo. El patrón de distribución de las plantas enfermas en el lote fue al azar y en todos los casos, se observó muerte de los ejemplares afectados. Se evidenció un desecamiento prematuro y silicuas más reducidas con una menor cantidad de granos. Sobre los tejidos con síntomas se encontraron estructuras globosas de color negruzco, visibles bajo lupa, que correspondieron a picnidios ostiolados. En posteriores seguimientos efectuados a este cultivo, en una línea experimental de colza de primavera, en la localidad de Bragado (provincia de Buenos

Aires), fue observado, en el estadio B₈ (roseta) síntomas foliares consistente en lesiones necróticas más o menos circulares de color grisáceo, rodeadas por un halo clorótico y con desarrollo de picnidios negros visibles a simple vista (Figura 2). En ambos casos, las características de las estructuras fúngicas observadas resultaron compatibles con *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desmaz.

En cuanto a la presencia de *P. lingam* en la Argentina, la misma fue reportada en 1985, solamente en semillas de colzas de invierno y en la década del 90 pudo detectarse sobre semillas de colzas de primavera procedentes de la región pampeana, comprobándose su transmisión por esta vía (GAETAN *et al.*, 1995; GARBAGNOLI y GAETAN, 1995; GAETAN y MADIA, 1995). Esta es la primera vez que se reporta este microorganismo causando síntomas en diferentes órganos de la planta durante el período del cultivo.

El Pie Negro provocado por *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desmaz es la enfermedad más devastadora que afecta *Brassicas*, entre las que se incluye la colza (*B. napus* L. var. *oleifera*); el teleomorfo es *Leptosphaeria maculans* (Desmaz.) Ces. & De Not (ROUSSEL *et al.*, 1999). Las mayores epidemias han ocurrido en Australia, Alemania, Francia e Inglaterra. La enfermedad está difundida en todas las áreas donde

se cultiva colza, incluso Canadá. El hongo produce lesiones necróticas en cotiledones (de 2 a 3 mm. de diámetro) y en hojas, de 5 a 15 mm. de diámetro (REGNAULT *et al.*, 1987). Luego de invadir el mesófilo de la hoja alcanza el tejido vascular y coloniza toda la planta, a través de pecíolos y tallos. Esta fase sistémica e intercelular se caracteriza por un crecimiento asintomático. Posteriormente, se produce una invasión de las células corticales en la parte basal del tallo, con el consiguiente desarrollo de una necrosis localizada en el cuello de la planta. Esta fase eminentemente necrótrófica culmina con la formación de un cancro que constituye la manifestación más característica de la enfermedad en el cultivo (ROUSSEL *et al.*, 1999). Esta lesión necrótica, semejante a un cancro, puede rodear totalmente el tallo, en la zona de la corona, lo que determina la muerte de la planta y ocasiona serias pérdidas en los rindes (GLADDERS y MUSA, 1979; MCGEE y EMMETT, 1977; ROUSSELL *et al.*, 1999). La presencia de esta lesión tan característica dio origen al nombre de la enfermedad, Pie negro (HAMMOND *et al.*, 1985). En colza, *L. maculans* causa madurez prematura y disminuciones en los rindes de hasta un 60%. Tales daños han sido reportados en cultivos con canchros severos en la base del tallo (SMITH *et al.*, 1988). Además de manchas en hojas y canchros en los tallos, el patógeno puede causar damping-off en plántulas, podredumbre seca de la raíz e infección en semillas. La simiente infectada puede actuar como fuente de inóculo primario y es particularmente importante, como vía de introducción del patógeno en zonas libres de la enfermedad (GABRIELSON, 1983). El microorganismo infecta las silicuas estableciéndose en la semilla (LACOSTE *et al.*, 1969). Ellas pueden presentarse arrugadas y decoloradas, no mostrar síntomas macroscópicos o bien, pueden ser de menor tamaño que las semillas sanas (GARBAGNOLI Y GAETAN, 1995; JACOBSEN y WILLIAMS, 1979;

LLOYD, 1959; WALKER, 1952). El teleomorfo es de gran importancia en la epidemiología de la enfermedad, ya que el inóculo primario está constituido por las ascosporas (BRUNIN y LACOSTE, 1970) que pueden ser dispersadas por el viento a varios kilómetros de distancia (ALABOUVETTE y BRUNIN, 1970). Esta fase sexual se cumple en los restos culturales en donde desarrollan los pseudotecios. Las precipitaciones provocan la dehiscencia de los ascos y la liberación activa de las ascosporas, las cuales pueden vivir hasta 6 semanas. En condiciones favorables, se forman los picnidios (fructificaciones asexuales) sobre las lesiones del año producidas en los órganos aéreos de la planta, de los cuales se desprenden las picnidiosporas que diseminan la enfermedad, constituyendo la fuente de inóculo secundario (PETRIE, 1978). Las diferencias encontradas en la patogenicidad de *L. maculans* ha determinado la aparición de dos grupos: uno, agresivo (Tox +) y otro, no agresivo (Tox °). La aplicación de métodos de caracterización bioquímicos y moleculares han demostrado que ambos tipos podrían considerarse dos especies distintas (BALESDENT *et al.*, 1992; MORALES *et al.*, 1993). La resistencia genética es la medida más económica de control de la Necrosis del cuello. Los cultivares actuales de canola varían de altamente susceptibles a moderadamente resistentes a la enfermedad (CURTIS *et al.*, 1997). La implementación de medidas preventivas, como las rotaciones, parece ser otra estrategia eficiente para combatir la enfermedad, ya que *L. maculans* puede sobrevivir en rastrojos infestados por tres años. Las rotaciones, de al menos 4 años, con cultivos no susceptibles en lotes con antecedentes de la enfermedad, no elimina el riesgo de infección pero reduce la severidad de los síntomas. Plantas y semillas de otras especies de *Brassica* pueden actuar como verdaderos reservorios del inóculo, por lo que resulta importante su control (GUGEL y PETRIE, 1992). La bibliografía extranjera

menciona la presencia de este patógeno en géneros silvestres y cultivados de *Brassicaceae*: *Brassica* (colinabo, colza, nabo, col, etc.), *Sinapsis alba* (mostaza blanca) y especies de *Raphanus*.

Dada la escasez de antecedentes en la Argentina sobre los patógenos que afectan el cultivo de canola y en particular, ante la ausencia de referencias sobre la aparición de esta enfermedad en condiciones de campo, como es este caso, se planteó como objetivo de la presente investigación corroborar la etiología de la patología observada en tallo y hojas y establecer su sintomatología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis del material vegetal enfermo

Muestras

Plantas de canola correspondientes al híbrido Iciola 41 (*B. napus L. subsp. oleifera*) con síntomas en la base del tallo, procedentes de un ensayo de fechas de siembra y evaluación de rendimientos, llevado a cabo por la Cátedra de Cultivos Industriales en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Plantas de colza canola con síntomas foliares provenientes de un ensayo de evaluación de líneas experimentales provenientes de la localidad de Bragado (Provincia de Buenos Aires).

Se efectuaron pequeñas secciones de los órganos afectados (tallos y hojas) de alrededor de 0.5 a 1 cm. de longitud que fueron sometidas a una desinfección superficial con alcohol 70°, Hipoclorito de Sodio al 2% y reiterados lavados con agua destilada estéril. A continuación, las porciones tratadas fueron colocadas en cámaras húmedas, dentro de cajas de Petri de plástico de 9 cm. de diámetro, e incubadas en estufa a 22-24°C (+/- 3°C) en oscuridad, a fin de promover el desarrollo del microorganismo.

Aislamientos y reaislamientos

Tanto para los aislamientos como para los reaislamientos se usó como medio de cultivo PDA –Potato Dextrosa Agar– al 2% pH: 7 y ligeramente acidulado con gotas de ácido láctico al 25%.

El hongo se aisló a partir de fructificaciones asexuales (picnidios) extraídas del tejido vegetal incubado en cámaras húmedas, con aguja histológica, bajo lupa estereoscópica 12-50X. Las siembras se colocaron en placas de Petri de vidrio de 9 cm. de diámetro y se incubaron en estufa y cámara bioclimática con una alternancia de 12 horas de luz NUV y 12 horas de oscuridad a 22-24°C (+/- 3°C). Posteriormente, las colonias desarrolladas fueron repicadas a tubos de ensayo, con el mismo medio de cultivo en pico de flauta, y se las incubó de igual forma.

Pruebas de patogenicidad

Hospedantes

Los tests de patogenicidad se llevaron a cabo empleando plántulas sanas de colza provenientes de semilla, correspondientes a los estadíos de 3 y 4 hojas verdaderas (B_3 - B_4) y con aproximadamente 20 días de desarrollo. La semilla utilizada fue previamente desinfectada con Hipoclorito de Sodio al 2% durante 10 minutos y luego, lavada con agua destilada estéril. Las plántulas crecieron en macetas de plástico conteniendo una mezcla de tierra y arena en partes iguales (1:1), esterilizada a 1 atmósfera de presión durante 30 minutos en autoclave. Por maceta se sembraron 10 semillas efectuando luego un raleo hasta dejar un número equivalente a 5 plántulas por maceta.

Se incluyeron colzas de primavera correspondientes a las variedades: Global, Maluka y Topas y al híbrido Iciola 41. Para cada cultivar se utilizó un total de 10 macetas, 6 destinadas para las inoculaciones y 4 para los testigos.

Inóculo

El inóculo se obtuvo a partir de colonias fúngicas de 10 días, desarrolladas en PDA y obtenidas a través de las metodología detallada anteriormente.

Técnicas de inoculación

Para cada cultivar se aplicaron las siguientes técnicas:

Técnica 1. Aspersión de una suspensión de esporas sobre los órganos aéreos

Se preparó una suspensión de esporas en agua destilada estéril con una concentración de 2×10^6 propágulos del hongo/ml.

Las plántulas se inocularon pulverizando la suspensión de propágulos utilizando un pulverizador del tipo De Vilbiss. Los testigos se pulverizaron con agua destilada estéril solamente.

Las plántulas permanecieron cubiertas con bolsa de polietileno por un lapso de 72 horas y se colocaron en cámara bioclimática a 22-24°C a 40 cm debajo de 3 tubos Nec Biolux FL40 SBR 40Watt T10 con una separación de 15 cm entre sí que proporcionaban 12 hs de luz y otras 12 hs provenían de un tubo Sylvania F36wts LD54 colocado en el techo de la cámara.

Técnica 2. Discos de PDA con desarrollo fúngico en el cuello de las plántulas

En esta técnica se utilizaron pequeños discos de 0,8 mm de PDA con desarrollo fúngico. La inoculación de las plántulas se llevó a cabo colocando 2 discos de PDA sobre el cuello de las mismas.

Las plántulas así inoculadas se sometieron a iguales condiciones de luz y temperatura que las especificadas para la técnica anterior. En las plantas testigos se aplicaron 2 discos de iguales caracterís-

ticas que carecían del desarrollo del hongo; posteriormente, fueron mantenidas en las condiciones anteriormente mencionadas.

Tanto las plántulas inoculadas artificialmente como sus correspondientes testigos fueron regados, a intervalos regulares de 48-72 horas, con agua corriente.

RESULTADOS

Características del agente causal

Al cabo de 10-12 días de incubación, el hongo desarrolló colonias que se caracterizaron por la presencia de escaso micelio aéreo de color grisáceo y gran producción de picnidios superficiales o semisumergidos, esféricos, globosos, comprimidos, de color castaño oscuro a negro, ostiolados, moderadamente rostrados, de 100 a 250 μ de diámetro, dispuestos en anillos concéntricos. (Figura 3).

La producción de esporas fue abundante. Son unicelulares (conidios), hialinas, gotuladas, de 3,5-4,5 μ x 1,5 μ que emergieron de los picnidios con aspecto de masas cremosas de color beige amarronado.

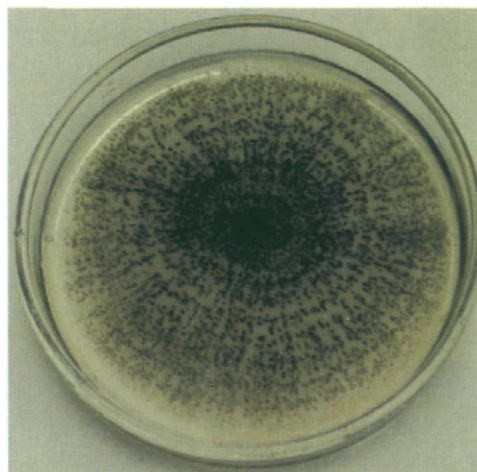


Fig. 3.—Colonia de *Phoma lingam*: (de 10 días) escaso desarrollo de micelio aéreo y abundante producción de fructificaciones asexuales.



Figs. 4 y 5.—Pruebas de patogenicidad (por aspersión de órganos aéreos): lesiones necróticas en hojas y cotiledones, de aspecto irregular de color pardo y situados en los márgenes.

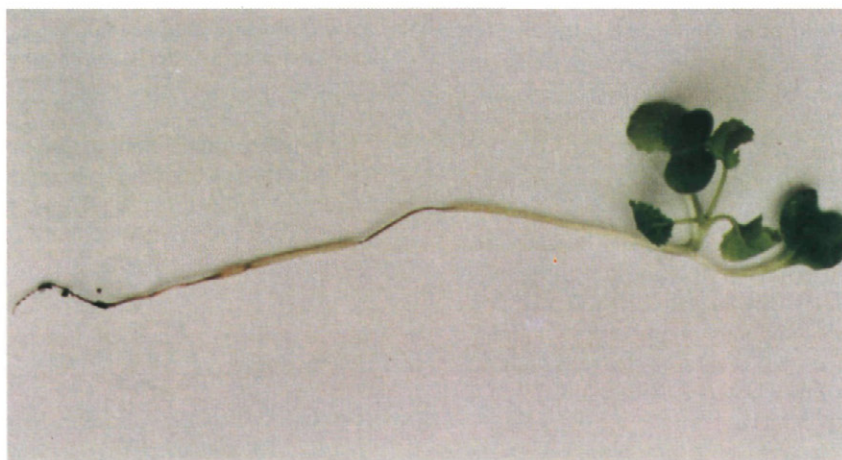


Fig. 6.—Pruebas de Patogenicidad (por aspersión de órganos aéreos): lesiones necróticas que rodearon los vástagos y provocaron su estrangulamiento.

Pruebas de patogenicidad

Técnica 1. Aspersión de una suspensión de esporas sobre los órganos aéreos

Mediante la aplicación de esta metodología los primeros síntomas se evidenciaron a los 14 días de la inoculación. Los mismos se manifestaron a través de lesiones necróticas en hojas y cotiledones de 2-3 mm de diáme-

tro, de aspecto irregular, de color pardo y situadas, en especial, en los márgenes. (Figuras 4 y 5). Sobre los tallos se produjeron lesiones necróticas que rodearon los vástagos y determinaron estrangulamiento de los mismos (Figura 6).

Las plántulas evidenciaron un decaimiento general permaneciendo las hojas marchitas adheridas a los tallos. Finalmente se produjo la muerte de todos los ejemplares inoculados.

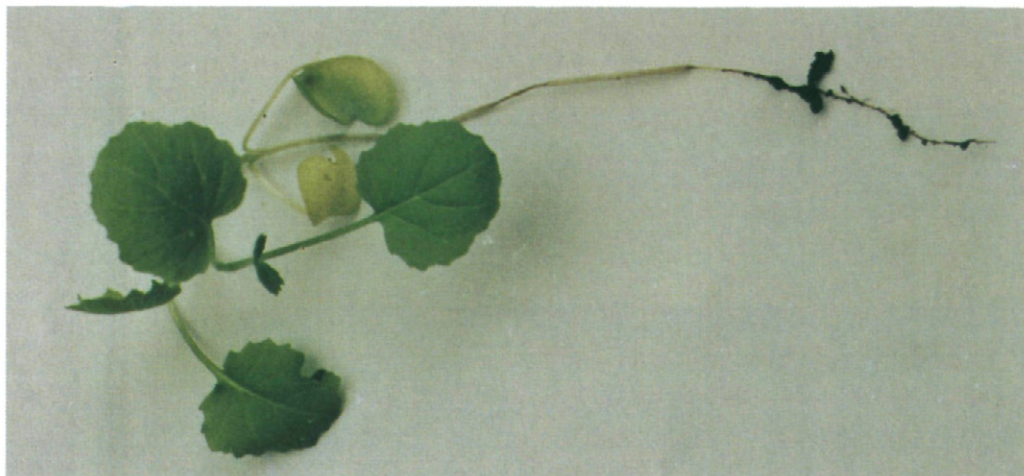


Fig. 7.—Pruebas de Patogenicidad (aplicación de discos de PDA con desarrollo fúngico): sobre la porción basal de los talluelos se presentaron lesiones necróticas causando estrangulamiento y posterior muerte de la plántula.

Esta sintomatología se observó en todos los cultivares de colza que participaron en el ensayo.

Técnica 2. Discos de PDA con desarrollo fúngico en el cuello de las plántulas

A través de la aplicación de esta técnica de inoculación, se produjo una evolución rápida de los síntomas que condujeron, en 8 días, a la muerte de la totalidad de las plántulas de todos los cultivares utilizados.

En todos ellos, los síntomas comenzaron a evidenciarse a los 6 días de efectuadas las inoculaciones. Sobre la porción basal de los talluelos se presentaron lesiones necróticas que rodearon los mismos, provocando estrangulamiento y posterior muerte de las plántulas (Figura 7).

Sobre todas las plántulas empleadas como testigos no se detectó sintomatología alguna (Figura 8).

De todas las lesiones reproducidas en hojas y tallos se efectuaron los reaislamientos correspondientes, obteniéndose colonias de iguales características a las obtenidas en los aislamientos, pudiéndose constatar que el

microorganismo mantuvo los caracteres observados inicialmente.

DISCUSIÓN

Las características morfológicas y culturales del agente causal coinciden con las descritas por SUTTON (1980); SOMDA *et al.* (1998) para el anamorfo (*P. lingam*).

Los síntomas observados en las plantas de colza provenientes del ensayo realizado por la Cátedra de Cultivos Industriales se corresponden con los observados por SMITH *et al.* (1988), GOIDANICH (1990); MORALES *et al.* (1993); REMPEL *et al.* (1991).

Las plántulas inoculadas en la base del tallo mostraron una sintomatología caracterizada por un debilitamiento y estrangulamiento del mismo, que concuerda con las observaciones de BRUNIN and LACOSTE (1970); HAMMOND *et al.* (1985); GABRIELSON (1983) Y GARBAGNOLI Y GAETAN (1995).

La rápida evolución de los síntomas observados en plántulas inoculadas en la parte basal coincide con las apreciaciones de MCGEE y PETRIE, 1978 quienes observaron

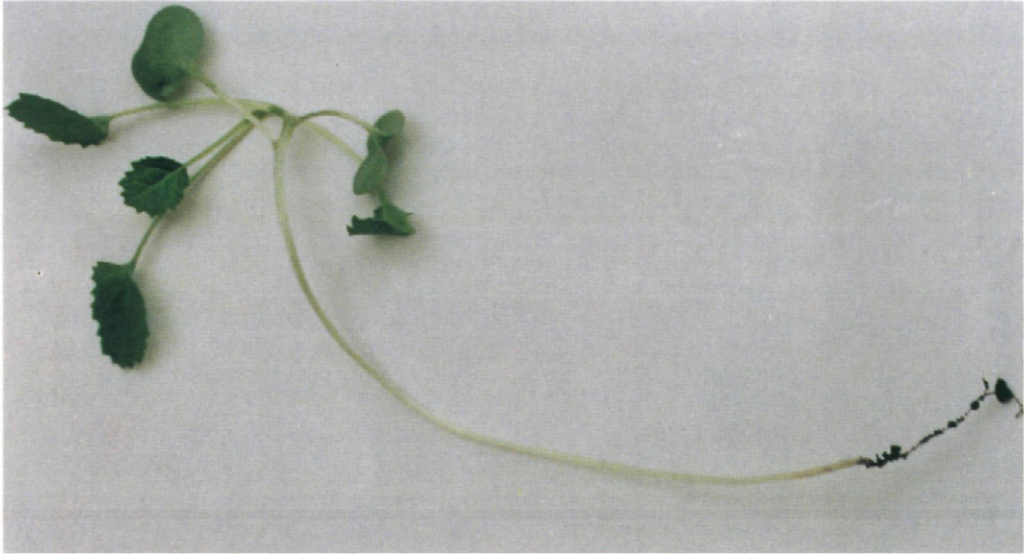


Fig. 8.—Pruebas de Patogenicidad (aplicación de discos de PDA sin desarrollo fúngico): testigo. No se presentaron síntomas.

mayor incidencia de la enfermedad cuando las plántulas eran inoculadas antes del estadio de sexta hoja (B_6).

Los resultados obtenidos en plántulas que fueron asperjadas con la suspensión de propágulos en agua destilada estéril, coinciden con las observaciones de REGNAULT *et al.* (1987); GLADDERS y MUSA (1979); MORALES *et al.* (1993); GARBAGNOLI Y GAETAN (1995) y GAETAN *et al.* (1995).

Las lesiones foliares observadas sobre plántulas, en el estadio B_8 (roseta) en condiciones de campo en la localidad de Bragado (provincia de Buenos Aires), concuerdan con la lesión típica (Tp) que describen BRUN *et al.* (1997). Sin embargo, en este caso, las manchas se hallan rodeadas por un halo clorótico muy notorio.

CONCLUSIONES

Phoma lingam (Tode: Fr) Desmaz. se comporta como patógeno del cultivo de

colza canola, produciendo síntomas en hojas y lesiones necróticas y canchros en la base del tallo que determinan la muerte de las plantas afectadas.

Este microorganismo fúngico demostró una acentuada agresividad sobre los ejemplares inoculados artificialmente ya que sobre las plántulas tratadas, ocasionó estrangulamiento de la región basal de los tallitos y lesiones necróticas en hojas y vástagos. Además produjo una elevada mortandad de alrededor del 95% de los ejemplares inoculados.

Todos los cultivares de colza de primavera incluidos en los ensayos (tres variedades y un híbrido) manifestaron una gran susceptibilidad al patógeno.

Es el primer reporte de *P. lingam* afectando el cultivo de colza canola de primavera en Argentina, no habiéndose detectado por el momento, en el país, la forma teleomórfica del microorganismo (*Lep-tosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.).

ABSTRACT

The objective of this paper was to identify the etiology of a rapeseed disease detected in a spring crop located in experimental field of the Faculty of Agronomía and Bragado in Buenos Aires, Argentina. This disease appeared at the fructifying stage G₁-G₂ and was characterized by the presence of a necrotic area in the basal internode associated with irregular shaped canker.

Plants showed premature wilting and the pods did not have seeds. Globose and ovoid picnides developed on desintegrated tissues.

Tests of pathogenicity on three cultivars and one hybrid indicated the disease was Blackleg of rapeseed and the causal agent was identified as *Phoma lingam* (Tode:Fr.) Desmaz. This is the first report in Argentina about this pathogen in rapeseed's crop. The symptomatology associated was described.

Key words: rapeseed, Blackleg, *Phoma lingam*.

BIBLIOGRAFÍA

- ALABOUVETTE, C., BRUNIN, B. 1970. Reserches sur la maladie du colza due à *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et De Not. I.-Rôle des restes de culture dans la conservation et la dissémination du parasite. Ann. Phytopathol. 2:463-475.
- BALESSENT, M. H., GALL, C., ROBIN, P., ROUXEL, T. 1992. Intra-specific variation in soluble mycelial protein and enterase patterns of *Leptosphaeria maculans* French isolates. Mycol. Res. 96:677-684.
- BRUN, H., LEVIVIER, S., EBER, F., RENARD, M., CHEVRE, A.M.. 1997. Electrophoretic analysis of natural populations of *Leptosphaeria maculans* directly from leaf lesions. Plant Pathology 46: 147-154.
- BRUNIN, B., LACOSTE, L., 1970. Reserches sur la maladie du colza due à *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. II.-Pouvoir pathogène des ascospores. Ann. Phytopathol. 2:477-488.
- CURTIS, B., REMPEL, HALL, R. 1996. Comparison of disease measures for assessing resistance in canola (*Brassica napus*) to blackleg (*Leptosphaeria maculans*). Can.J. of Botany. 74:1930-1936.
- SMITH, Y. M.; DUNEZ, J., LELLIOT, R.A.; PHILLIPS, D.H., S.A. ARCHER. 1988. European Handbook of Plant Diseases. Edited by: Blackwell Scientific Publications.
- GABRIELSON, R. L. 1983. Blackleg disease of Crucifers caused by *Leptosphaeria maculans* (*Phoma lingam*) and its control. Seed Sci. & Technol. 11:749-780.
- GAETÁN, S. 1995. Blackleg (*Phoma lingam*) in the Oilseed Rape Crop in Argentina. Blackleg News. N.º 5. November: 18. Agriculture and Agri-Food Canada.
- GAETÁN, S. A., GARBAGNOLI, C., IRIGOYEN, E. 1995. Microorganismos presentes en semillas de colza (*Brassica napus L. subsp. oleifera* (Metzg.) Sinsk.) en Argentina. Fitopatología Vol. 30 (2): 107-117. Lima, Perú.
- GAETAN, S., MADIA, M. 1995. Rapeseed diseases in Argentina. Blackleg News. N.º 5. November: 17. Agriculture and Agri-Food Canada.
- GARBAGNOLI, C., GAETÁN, S. 1995. *Phoma lingam* (Tode) Desm. en semillas de colza (*Brassica napus L. subsp. oleifera* (Metzg.) Sinsk.) en Argentina. Fitopatología Vol. 30 (2): 85-91. Lima, Perú.
- GLADDERS, P., MUSA, T. M. 1979. The development of *Leptosphaeria maculans* in winter oilseed rape and its implications for disease control. In Proceedings of the 1979 British Crop Protection Conference: Pests and Diseases. Brighton, England, November 1979. British Crop Protection Council Publications, London, U.K. pp. 129-136.
- GOIDANICH, G. 1990. Manuale di Patologia Vegetale. Vol II. Edizioni Agricole Bologna.
- GUGEL, R. K., PETRIE, G. A. 1992. History, occurrence, impact, and control of blackleg of rapeseed. Can. J. Plant Pathol. 14:36-45.
- HAMMOND, K. E., LEWIS, B. G., MUSA, T. M. 1985. A systemic pathway in the infection of oilseed rape plants by *Leptosphaeria maculans*. Plant Pathol. 34:557-565.
- JACOBSEN, B. J., WILLIAMS, P. H. 1971. Histology and control of *Brassica oleracea* seed infection by *P. lingam*. Plant Disease Reporter. 55: 934-938.
- LACOSTE, L.; LOUVET, J.; ANSELME, C.; ALABOUVETTE, C.; BRUNIN, B., PIERRE, J. G. 1969. Role de *Phoma lingam* (Tode) Desm. et de su forme parfaite *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces et de Not. dans les epidemies de nécrose du collet de colza (*Brassica napus L. var. oleifera* Metzger). Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie d'Agriculture de France, 55: 981-989.
- LLOYD, A. B. 1959. The transmission of *P. lingam* (Tode) Desm. in the seeds of swede, turnip, chou motté, rape and kale. New Zeland Journal of Agricultural Research. 2: 649-658.
- MC GEE, D. C., EMMETT, R. W. 1977. Blackleg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of rapeseed in Victoria: Crop losses and factors which affect disease severity. Aust. J. Agric. Res. 28:47-51.
- MC GEE, D. C., PETRIE, G. A. 1978. Variability of *Leptosphaeria maculans* in relation to blackleg of oilseed rape. Phytopathology. 68:625-630.
- MORALES, V. M., PELCHER, L. E., TAYLOR, J. L. 1993. Comparison of 5.8s rDNA and internal transcribed spacer sequences of isolates of *Leptosphaeria maculans* from different pathogenicity groups. Curr. Genet. 23:490-495.
- MURPHY, G. M., PASCALE, N. C. 1991. Cultivation areas of winter and spring rapeseed in Argentina. GCIRG

- Eighth International Rapeseed Congress. Volume 4 of 6. July 9 to 11, 1991. Saskatoon, Saskatchewan, Canadá.
- PASCALE, N.; VILARIÑO, P.; GÓMEZ, N.; WINDAUER, L., DELFINO, S. 1992. Componentes del rendimiento de la colza "doble cero" de primavera (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metz.) Sinsk.f. *annuua*). Rev. Facultad de Agronomía. Tomo 13 N.º 2-3:177-186.
- PEREA MUÑOZ, E. J. 1992. Revista Oleaginosos. Abril de 1992, pp. 20-22.
- PETRIE, G. A. 1978. Occurrence of a highly virulent strain of blackleg (*Leptosphaeria maculans*) on rape in Saskatchewan (1975-1977). Can. Plant Dis. Surv. 58:21-25.
- REGNAULT, Y., LAVILLE, J., PENAUD, A. 1987. Le Phoma (La nécrose du collet) *Phoma lingam* (Tode) Desm., forme imparfaite de *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. Cl. Ascomycètes Fam. Pléosporacées. Cahier Technique Colza Maladies, pp 39.
- ROUSSEL, S.; NICOLE, M.; LÓPEZ, F.; RENARD, M.; CHEVRE, A.M., BRUN, H. 1999. Cytological Investigation of resistance to *Leptosphaeria maculans* conferred to *Brassica napus* by introgressions originating from *B. Juncea* or *B. Nigra* B genome. Phytopathology, Vol 89, 12: 1200-1213.
- REMPEL, C. B., LISIECZKO, Z., HALL, R. 1991. Epidemiological aspects of resistance in rapeseed to blackleg. In Rapeseed in a Changing World: proceedings of the 8th International Rapeseed Congress, Saskatoon, Sask., July 9-11, 1991. Edited by D.I. McGregor. Vol. 2. Group Consultatif International de Rescherche sur le Colza, Paris, France. pp. 460-464.
- SOMDA, I.; RENARD, M., BRUN, H. 1998. Morphology, pathogenicity and isozyme variation amongst French isolates of *Leptosphaeria maculans* recovered from *Brassica juncea* cv. Picra. Plant Pathology 45:1090-1098.
- SUTTON, B. C. 1980. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. Pp 386-388.
- WALKER, J. C. 1952. Diseases of vegetable crops. Mc Graw-Hill, Book Company, INC. New York. pp. 160-164.

(Recepción: 16 noviembre 2000)
(Aceptación: 2 julio 2001)