

Nota técnica:

Método para la cuantificación del inóculo de *Tilletia ayresii* Berk. en *Panicum maximum* Jacq.

Technical note:

Method for the quantification of *Tilletia ayresii* Berk. inoculum in *Panicum maximum* Jacq.

J.A. Borges¹ y O. Camacaro²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Estado Yaracuy, Venezuela.

²Fundación CIEPE, Venezuela

Resumen

El carbón en inflorescencias de *Panicum maximum* Jacq. es causado por el hongo *Tilletia ayresii*, el cual inhabilita la producción de semillas al formar agallas en los ovarios de las espículas. El objetivo del presente trabajo fue establecer un método para cuantificar la producción de inóculo de *T. ayresii* en inflorescencias de *P. maximum*. Se recolectaron espículas afectadas, a las cuales se les determinó la longitud, peso total, peso vacío y peso del inóculo contenido. Para la cuantificación del inóculo total (IT) se uniformizó una metodología empleando una cámara McMaster para el conteo diferencial de las estructuras fúngicas (ef) que conforman el IT: teliosporas (TE), células estériles (CE) y conidias (CO). Los datos fueron sometidos a pruebas estadísticas para evaluar su normalidad y significancia. Los resultados muestran una longitud promedio de 4,2 mm para espículas afectadas con un peso total y del inóculo de 26 y 8,9 mg, respectivamente, al igual que se encontró alta correlación ($r=0,97/P<0,0001$) entre el tamaño y peso total de espículas afectadas. Se encontró una alta producción de estructuras reproductivas del hongo *T. ayresii*, cuantificándose cargas de $9,2 \times 10^4$, $2,9 \times 10^6$ y $11,4 \times 10^6$ ef.mg⁻¹ inóculo, distribuidas porcentualmente en 2,52; 11,37 y 86,11% respectivamente para TE, CE y CO, totalizando $20,9 \times 10^7$ ef.espícula⁻¹ afectada. En conclusión, *T. ayresii* posee una alta capacidad de producción de inóculo viable para futuras infestaciones, conformado en su mayoría por conidias, consideradas como la primera fuente de infestación y teliosporas verrugosas que conforman el inóculo latente en el suelo.

Palabras clave: Carbón, espículas, teliosporas, conidias.

Recibido el 28-6-1010 ● Aceptado el 12-9-2011

Autor de correspondencia e-mail: jborges@inia.gob.ve; olgac_1@hotmail.com

Abstract

Inflorescence smut of *Panicum maximum* Jacq. is caused by the fungus *Tilletia ayresii*, which disables the production of seeds to form galls on the ovaries of the spicules. The aim of this study was to establish a method to quantify the production of inoculum of *T. ayresii* in inflorescences of *P. maximum*. Spicules affected were collected, which were determined length, total weight, empty weight and weight of the inoculum content. To quantify the total inoculum (IT) standardizes a methodology for using a McMaster counting chamber differential fungal structures (fs) providing the IT: teliospores (TE), sterile cells (EC) and conidia (CO). The data were subjected to statistical tests to assess normality and significance. The results show an average length of 4.2 mm by spicules affected, with a total weight and inoculums weight of 26 and 8.9 mg, respectively, as found high correlation ($r = 0.97/P < 0.0001$) between the size and weight of spicules affected. There was high production of reproductive structures of the fungus *T. ayresii* and quantified loads of 9.2×10^4 , 2.9×10^6 and 11.4×10^6 mg.ef⁻¹ inoculum with a percentage distribution in 2.52; 11.37 and 86.11% respectively for TE, CE and CO, totaling 20.9×10^7 ef⁻¹.spicule affected. In conclusion, *T. ayresii* has a high capacity to produce viable inoculum for future infestations, consisting mostly of conidia, which are considered the primary source of infestation and warty teliospores that form the dormant inoculum in the soil.

Key words: Smut, spicules, teliospores, conidia.

Introducción

El género *Tilletia* Tul. & C. Tul. consta de aproximadamente 140 especies de distribución restringida a plantas pertenecientes a la familia de las gramíneas (Poaceae) y es el género más grande dentro del Orden Tilletiales [Basidiomycota, Ustilaginomycetes, Exobasidiomycetidae] (Vánky, 2002). *Tilletia* se caracteriza por la formación de teliosporas pigmentadas y células estériles hialinas. En la mayoría de las especies, las teliosporas se forman en los ovarios de la planta huésped.

La especie *T. ayresii* fue reportada en el año 1899 por Masee y luego corroborada por Vánky y Bauer (1992) como causante del carbón verdadero del ovario en inflorescencias de *Panicum*

Introduction

The genre *Tilletia* Tul. & C. Tul. has approximately 140 distribution species restricted to plants belonging to the gramineae family (Poaceae), and is the biggest genre of the Tilletiales order [Basidiomycota, Ustilaginomycetes, Exobasidiomycetidae] (Vánky, 2002). *Tilletia* characterizes by the formation of pigmented teliospores and hyaline sterile cells. In most of the species, teliospores form in the ovaries of the host plants.

T. ayresii specie was reported in 1899 by Masee and corroborated by Vánky and Bauer (1992) as a cause of the truly smut of the ovary in inflorescence of *Panicum maximum*, which symptoms characterize by

maximum, cuya sintomatología se caracteriza por presentar soros en ovarios de varias flores de la inflorescencia formando agallas en forma de sacos, donde la masa olivácea de esporas está conformada por conidias frágilmente unidas y teliosporas verrugosas (Pérez-Martínez y Luís, 2005). Esta patología compromete seriamente la producción de semilla de *P. maximum* ya que ocasiona la destrucción total del ovario y en consecuencia inhabilita la producción de semillas viables (Delgado *et al.*, 1990; Verzignassi y Dornelas, 2001). *T. ayresii* también afecta varias especies de *Hyparhenia*, *Panicum*, *Setaria* y *Urochloa* (Poaceae), pero su principal hospedero es *P. maximum* (Pérez y Minter, 2005).

Dada la importancia de esta patología y su efecto negativo en los planes de producción de semilla de *P. maximum*, se hacen necesarias las investigaciones que permitan aportar herramientas y soluciones a tal problema, sin embargo, son pocos los trabajos dedicados al conocimiento de *T. ayresii* mientras que existen mayores avances en aquellas especies de *Tilletia* que afectan cultivos de importancia económica como el trigo (*T. indica*, *T. controversa*) y el arroz (*T. horrida*).

Se ha reportado la presencia de *T. ayresii* afectando inflorescencias de *P. maximum* en países como Brasil (Verzignassi y Dornelas, 2001), Colombia (Piepenbring, 2002), Costa Rica (Piepenbring, 1996), Cuba (Pérez-Martínez y Luís, 2005), Panamá (Piepenbring, 2001), así como en países del continente Africano.

Debido a la relevancia que este patógeno representa para la producción sostenible de semillas en cultivares de

having soros in ovaries of different flowers of the inflorescence forming galls in sack shapes, where the olivacea mass of spores is formed by conidia fragile joined and warty teliospore (Pérez-Martínez and Luís, 2005). This pathology involves seriously the production of seeds of *P. maximum* since causes the total destruction of the ovary, therefore, disables the production of viable seeds (Delgado *et al.*, 1990; Verzignassi y Dornelas, 2001). *T. ayresii* also affects some species of *Hyparhenia*, *Panicum*, *Setaria* and *Urochloa* (Poaceae), but the main host is *P. maximum* (Pérez and Minter, 2005).

Due to the importance of this pathology and its negative effect in the production plans of *P. maximum* seeds, it is necessary to carry research that allow contributing with tools and solutions for such problems, however, there is little research committed to the knowledge of *T. ayresii* while there are huge advances in those *Tilletia* species that affect crops of economical importance such as wheat (*T. indica*, *T. controversa*) and rice (*T. horrida*).

It has been reported the presence of *T. ayresii* affecting inflorescence of *P. maximum* in countries like Brazil (Verzignassi and Dornelas, 2001), Colombia (Piepenbring, 2002), Costa Rica (Piepenbring, 1996), Cuba (Pérez-Martínez and Luís, 2005), Panamá (Piepenbring, 2001), as well as countries of the African continent.

Due to the relevance that this pathogen represents for the sustainable production of seeds on cultivars of *P. maximum* in producer countries, it is posed the necessity of going deeper on its knowledge with the aim of offering

P. maximum en los países productores, se plantea la necesidad de profundizar más en su conocimiento, a fin de brindar un punto de partida para futuras investigaciones que permitan desarrollar métodos para su control y manejo, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo establecer un método para cuantificar la producción de inóculo de *T. ayresii* en inflorescencias de *P. maximum*.

Materiales y métodos

Las muestras fueron recolectadas en el Campo Experimental del INIA Yaracuy, zona caracterizada como Bosque Seco Tropical (BsT), de acuerdo a la clasificación de Holdridge (1967). Se diagnosticaron todas aquellas plantas de Pasto Guinea (*P. maximum*) que en sus inflorescencias presentaban aumento en el tamaño y deformación de las espículas. Se recolectaron cuidadosamente espículas afectadas y aún cerradas, contentivas de las esporas del hongo en cuestión.

Medición y pesaje de espículas: Se tomaron un total de 20 espículas que presentaban engrosamiento característico de esta patología, las cuales fueron medidas longitudinalmente empleando un vernier y posteriormente pesadas en una balanza analítica de precisión 0,001 g. Las esporas (inoculo) fue retirado cuidadosamente de cada espícula con la ayuda de una aguja de disección y pinza, bajo una lupa estereoscópica y pesado en la misma balanza. Los datos obtenidos de este proceso fueron analizados mediante estadística descriptiva y correlación, empleando el programa InfoStat.

literature for future research that allow developing methods for its control and handle, therefore, the current research had as objective establishing a method to quantify the inoculums production of *T. ayresii* in inflorescences of *P. maximum*.

Materials and methods

Samples were recollected in the Experimental Field of INIA, Yaracuy, area characterized as Tropical Dry Forest (BsT), according to the Holdridge classification (1967). All plants of Guinea pasture (*P. maximum*) were diagnosed which inflorescences had increased in sized and presented deformation of the spicules. The affected and closed spicules, with spores of the studies funfus were carefully recollected.

Measurement and weight of spicules: a total of 20 spicules that presented characteristics thickness of this pathology were taken, which were measured longitudinally employing a vernier, then, were weighted in an analytical balance of precision 0.001 g. The spores (inoculum) were carefully removed from each spicule using a needle of dissection and a clamp under a stereoscope magnifying glass and weighted in the same balance. The data obtained from this process were analyzed through the descriptive and correlation statistics, employing the InfoStat program.

Preparation of samples: to divide and do the differential quantification of the total inoculum (IT) was proceeded to prepare a suspension of the spores in distilled water in proportion 1:400, equal to 10 mg of inoculum suspended

Preparación de las muestras: Para realizar la separación y cuantificación diferencial del inóculo total (IT), se procedió a preparar una suspensión de las esporas en agua destilada en proporción 1:400, esto equivale a 10 mg de inóculo suspendido en 4 mL de agua destilada, a la que se adicionó 50 μ L de Tween 20 y se colocó durante un minuto sobre un mezclador Vortex Mixer (VM-2000 Digisistem) a fin de desprender y homogeneizar la masa de esporas en la suspensión. Se colocó el líquido en un tubo de vidrio (12 x 75mm) y se sometió a centrifugación (IEC-CL-10 Thermo) durante 5 minutos a 2000 rpm para separar las estructuras fúngicas presentes dentro del IT. Del sobrenadante se tomó una alícuota (600 μ L) que fue colocada en una cámara McMaster para realizar el recuento de cada una de las estructuras confortantes de inóculo, dejándose reposar durante 3 min a fin de que se estabilizara la suspensión dentro de la cámara.

Uniformización del método de conteo: Debido a la gran cantidad de estructuras presentes en el inóculo, se hizo necesaria la uniformización del método de conteo a través de la cámara McMaster, para lo cual se tomó una alícuota de la suspensión centrifugada y se colocó en los retículos de la cámara. Se realizaron lecturas tanto del líquido sobrenadante como del fondo decantado poscentrifugación. Los datos obtenidos fueron multiplicados por un factor (0,4) y procesados estadísticamente mediante la prueba T para diferenciar los valores más significativos, siendo estos la referencia para realizar los contajes diferenciales.

in 4 mL of distilled water, which was added 50 μ L of Tween 20 and was put for a minute on a mixer Vortex Mixer (VM-2000 Digisistem) with the aim of pulling away and homogenize the mass of spores in the suspension. The liquid was put in a glass tube (12 x 75 mm) and was submitted to centrifugation (IEC-CL-10 Thermo) for 5 minutes at 2000 rpm to divide the fungi structures presented inside the IT. From the supernatant was taken an aliquot (600 μ L) that was put in a chamber McMaster to do the recount of each of the structures of the inoculum, leaving it set for 3 min with the aim of stabilizing the suspension inside the chamber.

Uniformity of the counting method: due to the huge quantity of structures present in the inoculum, was necessary the uniformity of the counting method through the McMaster chamber, for this was taken an aliquot from the centrifuged suspension and put in the reticulum of the chamber. Readings of both the liquid and the end of the post-centrifuged were done. The data obtained were multiplied by a factor (0.4) and processed statistically using the T test to differentiate the most significant values, being these the reference to do differential counting.

Differential counts of structures: for the quantification was employed an adaptation of the quantitative method of counting McMaster for eggs of gastro intestinal parasites, where were taken into consideration each of the following structures: teliospores (TE), sterile cells (CE) and conidia (CO) present in a counting area of 0.15 mL with the help of an optical microscope (10X), in order

Contaje diferencial de las estructuras: Para la cuantificación se empleó una adaptación del método cuantitativo de contaje McMaster para huevos de parásitos gastrointestinales, en el cual se tomaron en cuenta cada una de las siguientes estructuras: teliosporas (TE), células estériles (CE) y conidias (CO) presentes en un área de conteo de 0,15 mL, con la ayuda de un microscopio óptico (10X), para diferenciar las estructuras, se realizó una tinción con 5 µL de Azul de Algodón por cada mL de suspensión de esporas del hongo.

Una vez cuantificadas las estructuras conformantes del IT, se procedió a transformar los resultados con un factor de corrección (FC):

FC = Dilución de la suspensión/
Volumen contado en el retículo

$$FC = 400/0,15$$

$$FC = 2.666$$

Una vez obtenido el FC para la cámara de McMaster se procedió a calcular el número diferencial de estructuras contadas, empleando la fórmula:

$$NDE = NEC \times FC$$

Donde:

NDE: número diferencial de estructuras contadas

NEC: número de estructuras contadas por retículo

FC: Factor de corrección de la cámara McMaster

Y luego se calcula el inóculo total contenido en cada flósculo mediante la fórmula:

$$IT = \sum(TE + CE + CO)$$

Donde:

IT: Inóculo total

TE: Teliosporas

CE: Células estériles

CO: Conidias

to differentiate the structures was tinted with 5 µL cotton blue for each mL of spore suspension of the fungi.

Once quantified the structures forming the IT, was proceeded to transform the results with a correlation factor (FC):

FC: dilution of the suspension/
counted volume in the reticulum

$$FC = 400/0.15$$

$$FC = 2.666$$

Once obtained the FC for the chamber of McMaster, it was proceeded to calculate the differential number of counted structures, employing the formula:

$$NDE = NEC \times FC$$

Where:

NDE: differential number of counted structures

NEC: number of structures counted by the reticulum

FC: correlation factor of the McMaster chamber

Consequently, is calculated the total inoculum content on each floret with the formula:

$$IT = \sum(TE + CE + CO)$$

Where:

IT: Total inoculum

TE: teliospores

CE: sterile cells

CO: conidia

These calculi are close to the real number of differential structures present in the charge of inoculums concentrated inside the ovary of the plant affected by *T. ayresii*.

Results and discussion

The measurement results of the affected spicules are presented in table 1. It is observed an average in the

Estos cálculos nos aproximan al número real de estructuras diferenciales presentes en la carga de inóculo concentrada dentro del ovario de la planta afectada por *T. ayresii*.

Resultados y discusión

Los resultados de las mediciones de las espículas afectadas se presentan en el cuadro 1. Se observa un promedio en la longitud de espículas afectadas de 4,2 mm, con un tamaño máximo registrado de 6 mm. Para el peso total y vacío de las espículas se encontraron promedios de 26 y 17,1 mg respectivamente, mientras que el peso del inóculo se ubico en 8,9 mg, variando entre un mínimo y máximo de 5 mg y 13 mg respectivamente. Ambas variables mostraron un coeficiente de correlación altamente significativo entre la longitud y peso total de las espículas ($r=0,97/P<0,0001$), más no entre éstas y el contenido de inóculo por espícula.

En el cuadro 2 se presentan la comparación de valores obtenidos du-

longitude of the affected spicules of 4.2 mm with a maximum size registered of 6 mm. For the total and empty weight of the spicules, were found averages of 26 and 17.1 mg respectively, while the weight of the inoculums located in 8.9 mg varying from minimum and maximum, from 5 mg to 13 mg respectively. Both variables showed a correlation coefficient highly significant between the longitude and the total weight of spicules ($r=0.97/P<0.0001$), but not in between and the inoculum content per spicule.

In table 2 are presented the values comparisons obtained during the uniformity process of counting, appreciating differences ($P=0.0016$) between the Reading of both samples and being more significant in the total values of those done after the supernatant suspension post-centrifugation. Regarding the structures present, it was higher the presence of TE and CE in the supernatant, while the number of

Cuadro 1. Estadística descriptiva de las variables evaluadas en las espículas de *P. maximum* afectadas por *T. ayresii*.

Table 1. Descriptive statistics of the evaluated variables in spicules of *P. maximum* affected by *T. ayresii*.

	Longitud de la espícula (mm)	Peso total de espícula (mg)	Peso vacío de espícula (mg)	Peso inóculo (mg)
Media	4,2	26,0	17,1	8,9
D.E.	1,0	8,3	7,3	2,0
C.V.	24,6	31,8	42,6	22,7
Mín	3,0	15,0	7,0	5,0
Máx	6,0	40,0	31,0	13,0

N: 20; Intervalo de confianza: 90%. D.E: desviación estándar. C.V: Coeficiente de variación.

Cuadro 2. Separación de medias y estadístico T aplicado para la uniformización del método de conteo de estructuras fúngicas reproductivas de *T. ayresii*.

Table 2. Mean separation and T statistical applied for the uniformity of the counting method of reproductive fungi structures of *T. ayresii*.

	Estructuras fúngicas”mL ⁻¹ de suspensión			
	Teliosporas	Células estériles	Conidias	Total
Sobrenadante	346±39 ^a	1088±198 ^a	4284±327 ^a	5718±499 ^a
Decante	234±24 ^b	774±52 ^b	4521±326 ^a	5529±405 ^b
	Nivel de significancia estadística según Prueba de T			
Valor de p	0,0007	0,0003	0,1269	0,0016

Letras distintas indican diferencias significativas (P≤0,05). Intervalo de confianza: 95%

rante el proceso de uniformización del conteo, apreciándose diferencias (P=0,0016) entre las lecturas de ambas muestras y siendo más significativas en los valores totales de aquellas realizadas a partir de la suspensión sobrenadante post-centrifugación. En lo que respecta a las estructuras presentes, fue mayor la presencia de TE y CE en el sobrenadante, mientras que el número de conidias “Y” presentes en ambas muestras no mostró diferencias. Este procedimiento se realizó a fin de uniformizar una lectura que permitiera obtener un valor real en un campo de fácil observación y conteo, ya que al emplear la suspensión sin centrifugar se hace difícil la diferenciación de las estructuras debido a la alta concentración de las mismas.

Los resultados de la cuantificación diferencial y total del IT de *T. ayresii* se presentan en el cuadro

conidia “Y” present in both samples did not show differences. This procedure was done with the purpose of standardize a reading that would allow obtaining a real value in a field easy to observe and count, since when employing the suspension without centrifuge is more difficult to differentiate the structures due to the high concentration of these.

The results of the differential and total quantification of IT of *T. ayresii* are presented in table 3. Ripened teliospores were found over 9.2×10^4 ef.mg⁻¹ of the inoculum along to a higher number of sterile cells (2.9×10^6 ef.mg⁻¹ of inoculum). In a higher quantity were presented conidia which are characteristics of this specie by their “Y” shape in the rest of the inoculum. These conidia or secondary spores constitute the primary source of infection and are the one found in

Cuadro 3. Inoculo total, diferencial y distribución porcentual de *T. ayresii* en espículas de *P. máximum* afectadas.**Table 3. Total and differential inoculum, percentage distribution of *T. ayresii* in spicules of affected *P. maximum*.**

	Teliosporas	Células estériles	Conidias	Total
Estructuras fúngicas/mg inoculo	9,2x10 ⁴	2,9x10 ⁶	11,4x10 ⁶	15,2x10 ⁶
Inoculo por espícula afectada (±8,9 mg)	8,2x10 ⁶	2,5x10 ⁷	10,2x10 ⁷	20,9x10 ⁷
Distribución porcentual del inoculo (%)	2,52	11,37	86,11	100

3. Se encontraron teliosporas maduras por encima de $9,2 \times 10^4$ ef.mg⁻¹ de inoculo en conjunto a un número mayor de células estériles ($2,9 \times 10^6$ ef.mg⁻¹ de inóculo). En mayor cantidad se presentaron las conidias características de esta especie por su forma de “Y” en el resto del inóculo. Estas conidias o esporas secundarias constituyen la fuente primaria de infección y son las que se encuentran en mayor porcentaje conformando el IT (86,11%) dentro del soro. Estas se caracterizaron por poseer paredes delgadas, en su mayoría en forma de “Y”, translucidas y dispuestas más o menos como un balón suelto, al germinar forman hifas, de las cuales se pueden generar tanto blastoconidias como balistosporas (Vánky y Bauer, 1992). Sin embargo, a pesar de que estas estructuras se encontraron en mayor proporción dentro del IT, su longevidad es muy efímera (Smilanick *et al.*, 1989), lo que justifica la formación de teliosporas en todas las especies del orden Tilletiales para garantizar la perpetuación del inoculo a través del tiempo.

higher percentage forming IT (86.11%) inside soro. These were characterized by having thin walls, most of them in “Y” shape, clear like a balloon, when germinating these form hyfas, out of which can generate blasto-conidia and balistosporas (Vánky and Bauer, 1992). However, in spite of these structures were found in a higher proportion inside the IT, their longevity is ephemeral (Smilanick *et al.*, 1989), which justifies the formation of teliospores in all the species of the Tilletiales order to guarantee the perpetuation of the inoculums through the time.

It is known that teliospores are resistant structures that might remain viable for a long time. Babadoost *et al.* (2004) mentioned that 13.3% survival and 16.5% of germination in teliospores of *T. indica* after 32 months in the soil. This reference shows the resistance that have these structures to stay for longer time in the soil until are presented the necessary conditions to initiate the infestation, which is generally

Es conocido que las teliosporas son estructuras de resistencia que pueden permanecer viables durante largo tiempo. Babadoost *et al.* (2004) señalaron un 13,3% de supervivencia y un 16,5% de germinación en teliosporas de *T. indica* luego de 32 meses en el suelo. Esta referencia demuestra la resistencia que poseen estas estructuras para permanecer por largo tiempo en el suelo hasta que se presenten las condiciones necesarias para iniciar la infestación, lo cual generalmente se observa durante la etapa de floración del pasto Guinea, siendo esto un inconveniente al momento de decidir qué medidas aplicar para controlar el patógeno en suelos altamente infectados. Al respecto, es importante señalar que la mayoría de cultivares y clones de *P. maximum* poseen una alta susceptibilidad a este patógeno (Delgado *et al.*, 1990), con grados de incidencia variables entre 40 y 47%, e índices de dispersión altos en diferentes meses del año.

Los resultados obtenidos demostraron la alta producción de estructuras reproductivas del hongo *T. ayresii* al formar los soros dentro del ovario de las inflorescencias de *P. maximum*, lo cual contribuye a ser una fuente permanente de inóculo viable en cultivares de pasto Guinea susceptibles y en terrenos altamente infectados por las teliosporas.

Conclusión

El hongo *T. ayresii* posee una alta capacidad de producción de inóculo viable para futuras infestaciones, conformado en su mayoría por conidias que se consideran la primera fuente de infestación y teliosporas verrugosas que

observed during the flowering phase in Guinea pasture, being this an inconvenient at the moment of deciding which measures to apply to control the pathogen in soils highly infected. On this matter, it is important to mention that most of the cultivars and clones of *P. maximum* have a high sensitiveness to this pathogen (Delgado *et al.*, 1990), with incidence degrees that vary from 40 to 47% and high dispersion indexes in different months of the year.

The results obtained showed the high production of reproductive structures of the fungi *T. ayresii* to form soros inside the ovary of the inflorescence of *P. maximum*, which contribute to be a permanent source of the viable inoculums in cultivars of sensitive Guinea pasture and in lands highly infected by the teliospores.

Conclusion

T. ayresii fungus has a high capacity of production of the viable inoculums for future infestations, mostly form by conidia that are considered the first source of infestation and warty teliospores that form the latent inoculums in the environment, waiting the necessary conditions for its germination and infestation of new plants.

End of english version

conforman el inóculo latente en el medio ambiente a la espera de la condiciones necesarias para su germinación e infestación de nuevas plantas.

Literatura citada

- Babadoost M., D. E. Mathre, R. H. Johnston y M. R. Bonde. 2004. Survival of teliospores of *Tilletia indica* in soil. *Plant Disease*. 88: 56-62.
- Delgado A., H. Machado y G. de la Paz. 1990. Evaluación de la resistencia a hongos de las espículas en una colección introducida de *P. maximum* Jacq. *Pastos y Forrajes* 13(1): 59-65.
- Holdridge L.R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center. San José, Costa Rica. 206 p.
- Massee G.E. 1899. Bulletin of Miscellaneous Information, Royal Botanic Gardens, Kew 1899: 146.
- Pérez J. M. y D. W. Minter. 2005. *Tilletia cyresii*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria No. 1636. CABI Bioscience. Disponible en: www.cababstractsplus.org/FTS/Uploads/PDF/20063068113.pdf (30/11/2009)
- Pérez Martínez J. M. y M. H. Luís. 2005. Micobiota del parque nacional Viñales, Pinar del Río, Cuba. I. Carbones (Ustilaginomycetes). *Revista Mexicana de Micología* 20: 71-79.
- Piepenbring M. 1996. Smut Fungi (Ustilaginales and Tilletiales) in Costa Rica. *Beih. Nova Hedwigia* 113: 1-155.
- Piepenbring M. 2001. Smut fungi (Ustilaginomycetes and Microbotryales, Basidiomycota) in Panamá. *Revista de Biología Tropical* 49(2): 411-428.
- Piepenbring M. 2002. Annotated checklist and key for smut fungi in Colombia. *Caldasia* 24(1): 103-119.
- Smilanick J. L., J. M. Prescottb, J. A. Hoffmanna, L. R. Secrestc y K. Weisec. 1989. Environmental effects on survival and growth of secondary sporidia and teliospores of *Tilletia indica*. *Crop Protection* 8(2): 86-90.
- Vánky K. y R. Bauer. 1992. *Conidiosporomyces*, a new genus of Ustilaginales. *Mycotaxon* 43: 427-435.
- Vánky K. 2002. Illustrated genera of smut fungi, 2nd ed. St. Paul, Minnesota: APS Press. 238 p.
- Verzignassi J. R. y C. Dornelas Fernandes. 2001. Doenças em forrageiras. Gado de Corte Divulga N° 50 ISSN 1516-5558. EMBRAPA.