

EFACTE PARAZITARE ALE CIUPERCII *Exobasidium vaccinii* (FUCK.) WORON. NOTA I.

GEORGETA TEODORESCU*, C. TOMA**, C. TĂNASE**

Key words: antomy (leaf), parasitic fungi, *Exobasidium vaccinii* on *Vaccinium vitis-idaea*, mycoecidia.

Abstract: Our observations concerning the influence of the *Exobasidium vaccinii* parasite fungus on the leaf of *Vaccinium vitis-idaea* include aspects of comparative morphology and anatomy (normal and parasited leaves). The deformations of the leaves (they are including into mycoecidies category) can have varied shapes and sized, they are able to attack all the surface of the leaf or only some portions of it. In this work are studing six types of attack, differents like place and manifestation on the leaf.

Observațiile noastre privind influența ciupericii parazite *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron. asupra organelor aeriene (frunza și tulpina) ale speciei *Vaccinium vitis-idaea* L. includ aspecte de morfologie și anatomie comparată, cu accent pe modificările histo-anatomice.

Numeroase tratate de sinteză [2, 4, 5, 11, 12] în abordarea fitoecidiilor includ și deformarea frunzelor și/sau tulpinii de *Vaccinium vitis-idaea* L.; totodată, date referitoare la modificările de ordin morfologic și anatomic, induse de ciuperca *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron, găsim începând cu anul 1867 [16] în diverse lucrări de specialitate și, mai recent, în valoroase sinteze privind anatomia galeilor și inductorii acestora. [7, 8].

În literatura românească de specialitate găsim sumare menționări referitoare la influența hipertrofică parazitara a unor specii ale genului, identificări în cadrul unor cercetări micofloristice și recent, alături de corologia genului *Exobasidium*, semnalări de noi specii [10] pentru România; cercetările noastre [13, 14, 15] vin, astfel, să completeze lacunele referitoare la problematica enunțată.

Material și metode de lucru

Materialul luat în studiu aparține speciei *Vaccinium vitis-idaea* L. — merișor de munte, provine de la Poiana Stampei, jud. Suceava și a fost recoltat la două date diferite (15.07.1993 și 7.07.1994). Au fost studiate 6 probe de atac diferențiat ca localizare și manifestare pe limbul foliar al ciupericii *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron.

Probele (frunze normale sau parazitare) au fost fixate și conservate în alcool etilic sau AFE (alcool-formol-acetic); prelucrarea materialului s-a făcut după procedee utilizate

*Grădina Botanică a Universității „Al. I. Cuza” Iași

**Universitatea „Al. I. Cuza” Iași

în mod curent în cercetările de anatomie vegetală și/sau folosind tehnici specifice pentru identificarea ciupercii parazite în diferite țesuturi ale plantei gazdă; secțiunile efectuate au fost împărțite în 3 categorii: nejavelizate (NJ) și necolorate; - javelizate și colorate (DC) prin metoda dublei colorări; - incluse în lactofenol (LF) și colorate cu albastru de anilină (AA). Preparatele au fost analizate la microscopul binocular IOR, Olympus și desenate cu ajutorul oglinzii de proiecție Projektionszeichenspiegel. Desenele (scheme și detalii) au fost grupate în IX planșe. Microfotografiile au fost efectuate la microscopul Reichert.

Rezultatele cercetării și discuții

Biologia ciupercii parazite

Creat de Woronin [16] în 1867, genul *Exobasidium* cuprinde ciuperci parazite pe tulpinile, frunzele sau bobocii florali de la fanerograme determinând pătarea frunzelor sau hipertrofii, infecții locale sau sistemice. Din cele 27 specii cunoscute în Europa [9], patru au fost semnale și în România, cărora, recent, li s-au adăugat altele trei [10], toate fiind parazite pe plante din familia *Ericaceae*; se caracterizează prin holobazidia nespecializată și specializarea strict parazită pentru o anumită specie.

Luată de noi în studiu, în prezenta lucrare, este specia *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron., fam. *Exobasidiaceae*, ord. *Exobasidiales*, subcl. *Holobasidiomycetidae*, cl. *Hymenomycetes*, subîncreng. *Basidiomycotina*; este parazitată pe *Vaccinium vitis-idaea* L. provocând deformări ale frunzelor, tulpinilor și bobocilor florali, îndeosebi pe organele tinere.

Miceliul incolor, se dezvoltă inter- și intracelular; bazidia este o holobazidie cilindrică, până la subclavată, cu 4 sterigme, izolate, putând fi grupată în fascicule sau formând un himeniu continuu la maturitate, la suprafața organelor parazitare. Bazidiosporii sunt unicelulari, hialini, de 8-12 x 2-4 μm și formă cilindric-alungită. Stratul alb prăfos care acoperă porțiunile atacate indică momentul formării bazidiosporilor.

Aspecte ale morfologiei frunzelor

Normale (Pl. I, N) – persistente, eliptice până la obovate, lungime 1-3 cm, pieiloase, rigide, obtuze, rotunjite și adesea emarginate, pețiolate, cu margini întregi sau slab crenate, pe față întunecat verzi, lucitoare, pe dos palid verzi, nelucitoare, cu puncte rare, brune.

Parazitate (Pl. I, P): deformările frunzelor (incluse în categoria micocecidiilor) au forme și dimensiuni variate, pot cuprinde întreaga frunză (Pl. IV, proba 2) sau numai anumite porțiuni ale limbului (marginile - Pl. III, VI, VII, probele 1, 5 și 6, nervura mediană Pl. V, VI, probele 3 și 4). Limbul parazitat prezintă la fața inferioară umflături cărora le corespund adâncituri la fața superioară; galele în număr variabil, au aspect

cărnos, uneori prezertând porțiuni mai consistente (barelet). Culoarea zonelor deformate este mai întâi verde-gălbui, apoi albicioasă.

Aspecte histo-anatomice

Normale (Pl. IV, N): limbul prezintă o structură bifacială heterofacială cu mezofilul diferențiat în țesut palisadic (3-5 straturi de celule) și țesut lacunos ce ocupă 1/2-2/3 din grosimea mezofilului. Celulele epidermei superioare sunt mult mai mari, acoperite de o cuticulă groasă; stomatele sunt prezente doar la fața inferioară. Fasciculele conductoare, cu număr și mărimi variabile, au atât la polul liberian, cât și la cel lacunos arcuri sau calote de sclerenchim. La nivelul nervurii mediane, țesutul conductor este reprezentat printr-un fascicul libero-lacunos mare ce prezintă două arcuri de sclerenchim. Între epiderma inferioară și sclerenchimul periliberian, legătura se realizează prin câteva (3-4) straturi sau un cordon de colenchim. Țesutul lacunos se prelungește și la nivelul nervurii mediane sau este întrerupt de colenchim. Sub epiderma superioară se evidențiază, de asemenea, un colenchim tangențial (1-2 straturi de celule). Doar în dreptul nervurii mediane, în epiderma superioară se constată câțiva peritectori unicelulari, lungi.

La marginea limbului, spre epiderma inferioară se observă existența unor celule de sclerenchim cu pereții puternic îngroșați și lignificați.

Parazitare

Proba 1: (Pl. III, P₁) – deformarea produsă de *Exobasidium vacciniae* este localizată în acest caz la marginea limbului foliar. Se observă hipertrofia limbului foliar în zona afectată (grosime de două ori mai mare) și existența unor porțiuni necrotice și/sau atrofiate.

La nivelul ambelor epiderme și de cele mai multe ori cuprinzând și primul strat de celule se constată formarea unui himeniu continuu, la maturitate. Cu densitate, în epiderma inferioară, celulele sunt mult modificate ca formă și dimensiuni. Mezofilul este reprezentat prin celule hipertrofiate (mult alungite la nivelul țesutului palisadic), străns alipite, cu rare și inegale spații aerifere. Se constată tendința de omogenizare a parenchimurilor mezofiliene și totodată, inhibarea formării lacunelor aerifere. La nivelul țesutului conductor se constată absența celulelor cu rol mecanic (colenchim, sclerenchim). Hifele miceliului parazitat prezente în toată masa mezofilului hipertrofiat, au o puternică dezvoltare, formând rețele (anastomoze) la nivelul liberului și a parenchimului lacunos.

Marginea frunzei este afectată atât ca formă, cât și ca structură. Nu se evidențiază celule epidermice iar mezofilul este puternic afectat de prezența unor adevărate aglomerări de miceli ce determină o intensă pigmentare (brună) a pereților celulari. În zona de puternică concentrare a hifelor se observă atrofierea limbului (compensativ cu regiunea hipertrofiată) și constituirea unei mase rigide, îngroșate, cu aspect de barelet.

Proba 2: (Pl. IV, P₂, m.f. 1) — limbul foliar are dimensiuni reduse (0,5-0,7 cm lung.); întreaga frunză este puternic modificată de miceliul parazit constatându-se hipertrofia părților laterale și necrozarea zonei mediane.

În acest caz modul de reacție al plantei la atacul parazit ar este diferit: în regiunea mediană necrozată se observă că grosimea limbului este mai mică comparativ cu zonele laterale, hipertrofiate.

Structura histo-anatomică este, de asemenea, diferită: la nivelul zonelor laterale hipertrofiate — asemănătoare celei descrise pentru proba 1; în regiunea mediană unde se constată o masivă concentrare a miceliului parazit inter- și intracelular — fenomene de necroză, astrofieri tisulară, modificări de formă și dimensiuni ale celulelor de la toate nivelurile anatomice (epidermă, mezofil, țesut conducător).

Proba 3: (Pl. V, P₃) — zona hipertrofiată a limbului cuprinde o suprafață mai mare, lateral sau incluzând nervura mediană.

O structură aparent normală prezintă limbul din imediată apropiere a zonei hipertrofiate: mezofil diferențiat în țesut palisadic și lacunos, prezența calotelor sclerenchimatice fasciculare, celulele epidermei superioare cu aspect normal; semnalăm totuși pătrunderea miceliului parazit la nivelul epidermei inferioare, în special în dreptul unor stomate — determinând invaginări zonale și modificări ale unor celule epidermice și stomatice (dimensiuni mai mici, forme anormale); se constată prezența hifelor parazite în mezofil și cu deosebire în țesutul lacunos, la nivelul liberului și a parenchimului lemos.

La nivelul zonei hipertrofiate se constată aceleași modificări ale structurii histo-anatomice semnalate pentru proba 1: tendința de parenchimatizare a mezofilului, afectarea până la dispariție a țesutului mecanic și dezvoltarea la nivelul epidermei inferioare a stratului himenial. În epiderma superioară se observă peri tectori unicelulari, lungi, în dreptul nervurii mediane; prezența acestora indică poziția fasciculului conducător median chiar dacă structura anatomică este puternic afectată și nu există altă posibilitate de recunoaștere.

Proba 4: (Pl. VI, P₄) — gala are dimensiuni mici și este localizată la nivelul nervurii mediane; și în această zonă hipertrofiată se constată o tendință de omogenizare a mezofilului: sub epiderma superioară se observă 7-8 straturi de celule, care păstrează dispunerea în palisadă, iar la nivelul țesutului lacunos se constată dispariția spațiilor aerifere și puternica hipertrofie a celulelor. La nivelul epidermei inferioare se constată formarea stratului himenial și numeroase rupturi datorate unor creșteri discontinue (necorelate).

Lateral zonei hipertrofiate se constată manifestări locale ale prezenței miceliului parazit: invaginări ale epidermei inferioare, zone puternic pigmentate în țesutul lacunos, inhibarea dezvoltării unor celule de sclerenchimă (ce apare fragmentat), dezvoltarea masivă a hifelor la nivelul țesutului conducător liberiau și a parenchimului lemos.

La acest tip de gală se evidențiază cu claritate, la nivelul țesutului conducător, modalitățile de acțiune ale miceliului parazit și gradul de reactivitate al plantei gazdă. Se

constată că celulele tecii parenchimatice sunt hipertrofiate, iar pe locul țesutului mecanic, reprezentat prin celule de sclerenchim cu pereții lignificați (în structură normală), se evidențiază celule de forme și orientări diferite, cu pereții subțiri, celulozici; țesutul liberian este, de asemenea, modificat, constantându-se hipertrofiile ale celulelor componente. Țesutul lemnos format din vase de lemn și celule de parenchim lemnos prezintă, de asemenea, modificări structurale ale ambelor categorii; vasele de lemn au orientări diferite datorită creșterii dezordonate (hiperplaziei și hipertrofiei mezofilului); pot fi întâlnite în cadrul aceluiași fascicul conducător, vase lemnoase sectionate transversal și alăturat secțiuni longitudinale prin aceste celule prozenchimatice, constatându-se lungimi diferite și orientări „în unghi” ale acestora. Celulele parenchimului lemnos sunt, de asemenea, invadate de miceliul parazit și prin hipertrofierea lor determină îndepărtarea și orientarea vaselor de lemn. Se mai observă poziția excentrică a fasciculelor conducătoare care, pe lângă modificările structurale ale elementelor componente, suferă o deplasare spre epiderma inferioară, astfel încât, la anumite fascicule conducătoare, teaca parenchimatică perifasciculară, hipertrofiată vine direct în contact cu stratul bazidial al epidermei inferioare.

Proba 5: (Pl. VII, VIII, P₅, m.f. 2) — hipertrofia produsă de *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron. este localizată la marginea frunzei; forma secțiunilor transversale prin această zonă este diferită: alungit ovală, aplatizată la nivelul epidermei superioare și bombată la fața inferioară, sau cu o strangulare a zonei hipertrofiate.

În porțiunea hipertrofiată se constată aceleași modificări anatomice semnalate la proba 1; se remarcă și în acest caz formarea stratului himenial atât la nivelul epidermei superioare (rar), dar cu deosebire, la fața inferioară a limbului; pe acest fundament se formează bazidiile, care poartă terminal bazidiosporii; miceliul parazit formează o rețea de hife atât la nivelul celulelor epidermice cât și în primele două straturi ale mezofilului, fenomen ce antrenează dezorganizarea epidermei și a celulelor din imediata apropiere.

Proba 6: (Pl. VI, IX, P₆, m.f. 3) — frunza parazitată prezintă gale localizate lateral nervurii mediane, cuprinzând marginea limbului (asemănătoare probei 1 însă cu un burelet întărit, ce ocupă o suprafață mai mare). Modificările histo-anatomice ale limbului parazitat menționate anterior (Probele 1, 3, 5), evidente în zonele hipertrofiate, se regăsesc și-n acest caz.

În zona buretelului, unde limbul nu prezintă o structură hipertrofiată se constată invazia puternică a miceliului parazit, care formează adevărate cordoane și anastomozări ale hifelor, determinând dereglări ale structurii histo-anatomice, modificări de formă, poziție, dimensiuni ale celulelor tuturor categoriilor de țesut (asemănătoare celor întâlnite la proba 2, zona mediană).

Concluzii

Ciuperca endoparazită *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron. determină formarea unor gale sau deformări, pe frunzele merisorului de munte (*Vaccinium vitis-idaea* L.);

micocecidiiile pot avea forme și dimensiuni variate, pot cuprinde întreaga frunză sau numai anumite porțiuni ale limbului (Probele 1-6).



Studiul comparativ realizat între structura normală și cea afectată arată inclusiv modificări de ordin histo-anatomic și care se referă, în principal, la următoarele aspecte:

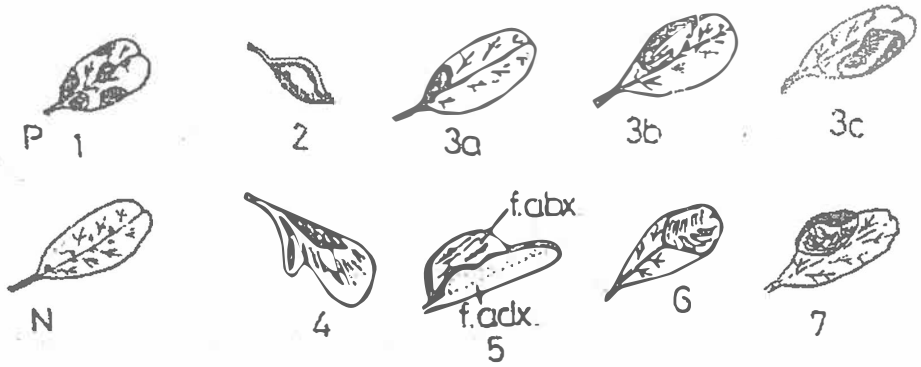
- la nivelul micocecidiei, o grosime de 2 ori mai mare a limbului parazitat;
- hiperplazia și hipertrofia celulelor parenchimarelor mezofiliene în zona afectată (gall) și tendința lor de omogenizare; omogenizarea nu este absolută deoarece se recunoaște prin forma lor alungită, celulele de origine palisadică (Probele 1, 3, 4, 5, 6);
- formarea stratului himenial, la nivelul epidermei inferioare (rar și la nivelul celei superioare), prin modificări (formă, dimensiuni, poziție) ale celulelor țesutului protector;
- la diverse niveluri, sub stratul himenial se constată concentrări pigmentare galben-brune;
- regresia până la dispariție a elementelor țesutului mecanic (colenchim, sclerenchim);
- modificări hipertrofice, hiperplazice și de poziție (orientare) a celulelor țesutului conductor lemnos și liberian; poziția excentrică a fasciculelor conductoare (care suferă o deplasare spre epiderma inferioară);
- constituirea unei structuri cu formă specifică (burelet), la marginea galei (Probele 1 și 6);
- diferențe structurale între două zone adiacente: zonă hipertrofiată și cea a bureletului (Probele 1 și 6);
- puternica dezvoltare a miceliului (inter- și intracelular) la toate nivelurile anatomice odată cu concentrarea unor produși de secreție, determină inhibarea dezvoltării hipertrofice, hiperplazice și dereglări structurale zonale (Probele 1 și 6 - zona bureletului, Proba 2 - regiunea mediană);
- alături de micocecidie, limbul are o structură aparent normală, bifacială, heterofacială deși se constată, și aici, prezența hifelor parazitului);
- în zona de trecere de la structura normală la cea hipertrofiată se observă, la nivelul epidermei inferioare, invaginări datorate pătrunderii miceliului parazit și modificări locale ale celulelor țesutului protector.

Bibliografie

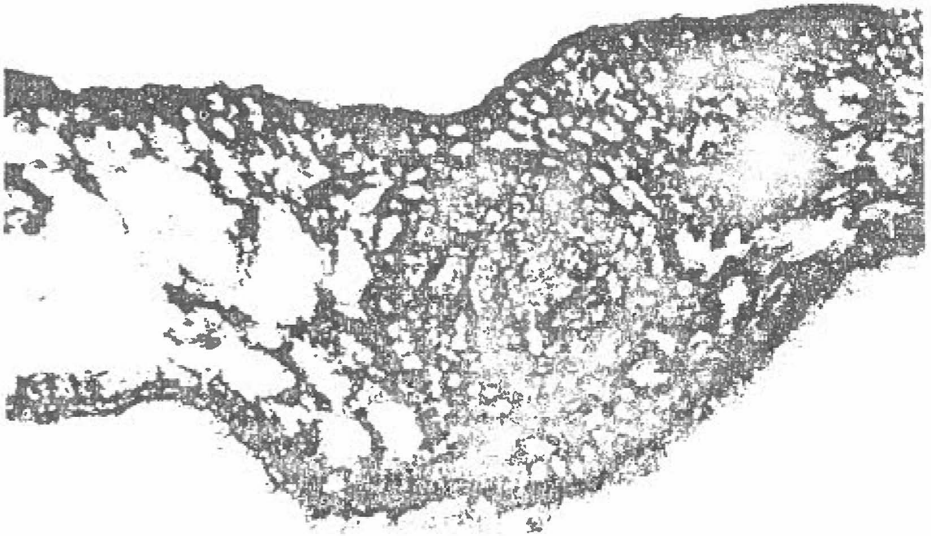
1. Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S., 1973 - *The Fungi*, Acad. Press, New York, San Francisco, London, T. IV/B: 318
2. Buhr, H., 1964-1965 - *Bestimmungstabellen der Gallen (Zoo- und Phytozellen) an Pflanzen Mittele- und Nordeuropas*, Jena, Bd. I-II
3. Chevaugeon, J., 1979 - *Les relations hôte-parasite*, Paris, in: *Public. Soc. Bot. France*
4. Küster, E., 1930 - *Anatomie der Gallen*, *Handbuch der Pflanzenanatomie*, Berlin, V/1
5. Masri, M.S., 1964 - *The Ecology of Plant Galls*, W. Junk, Publishers - The Hague
6. Metcalfe, C.R., Chalk, L., 1950 - *Anatomy of the Dicotyledons*, Clarendon Press, Oxford, T. I-II
7. Meyer, J., 1987 - *Plant Galls and Gall Inducers*, OGB-Verlag, Berlin, Stuttgart: 19-51

8. Meyer, J., Maresquellé, H.J., 1983 - *Anatomie des Galle*, *Encyclopaedia of Plant Anatomy*, Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart, Bd. XIII, T. 1
9. Nannfeldt, J.A., 1981 - *Exobasidium, a Taxonomic Reassessment Applied to the European Species*. Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala, 23 (2): 1-72
10. Negrean, G., 1993 - *Gemul Exobasidium din România*, St. cerc. biol., seria biol. veget., București, 45 (2): 137-143
11. Penzig, O., 1920, 1921, 1922 - *Pflanzen-Teratologie (sycomorchen-Gallen)*, Verh. Gebühd. Bornträger, Berlin, T. I-III
12. Roas, H., 1932 - *Praktikum der Gallenkunde (Cecidologie), Entstehung, Entwicklung, Bau der durch Tiere und Pflanzen hervorgerufenen Gallbildungen sowie Ökologie der Gallenvege.* J. Springer, Berlin
13. Teodorescu, Georgeta, 1994 - *Aspecte privind influența parazitată a ciupercii Exobasidium vaccinii (Fuck.) Woron. Conf. St. Bot., Chișinău: 168-169*
14. Teodorescu, Georgeta, Toms, C., 1993 - *Modificări morfo-anatomice la plante sub influență parazitică. I Tipuri de gale*, Bul. Grăd. Bot. Iași, 4: 23-36
15. Teodorescu, Georgeta, Toms, C., 1994 - *Modificări morfo-anatomice la plante sub influență parazitică. II Micocecidii*, Conf. St. Bot., Chișinău: 167-168
16. Woronin, M., 1867 - *Exobasidium vaccinii* Verh. Naturf. Ges. Freiburg, 4(4): 397-416

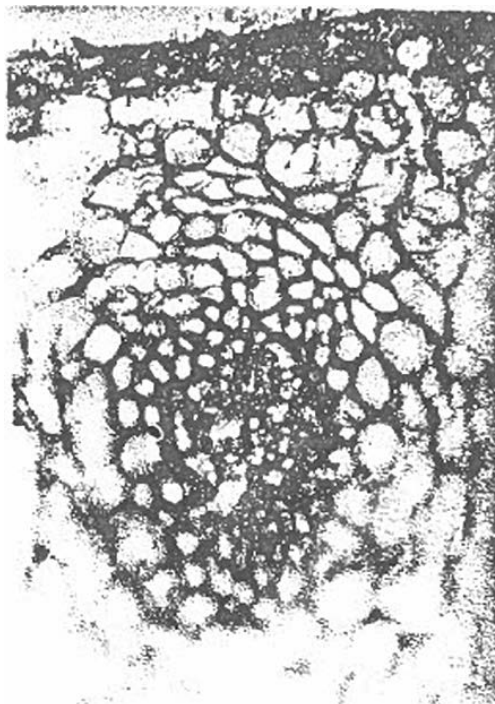
Abrevieri: N - Frunză (structură) normală; P - Frunză (structură) parazitată; cel - colechim; ct - cuticulă; ep - epidermă (i - inferioară; s - superioară); f - față (abx - abaxială; adx - adaxială); f.c. - fascicul conductor (Mđ - median; m - mic); hf - hife (micelii); i - invaginări; lag - îngroșări (bureci); lb - liber; lb.hptr - liber hipertrofiat; lm - lemn; lm.hptr - lemn hipertrofiat; mezf - mezofil; p - peri (t - tectori; t.hptr - tectori hipertrofiat); par - parenchim (ch - celulozic; dez - dezorganizat; hptr - hipertrofiat); r - ruptură; scl - sclerenchim; sp.a - spații aerifere; str.h - strat hîmencial; t.p - teacă parenchimatice; t.p.hptr - teacă parenchimatice hipertrofiată; ț.le - țesut lacunos; ț.pal - țesut palisadic; ț.psd.hptr - țesut palisadic hipertrofiat; v.lm - vase de lemn
 ← - diviziuni anticline; †† - diviziuni pericline;  - concentrații de hife;  - concentrații de hife la nivelul unui fascicul conductor



Morfologia frunzei de *Vaccinium vitis-idaea* L.: N - frunză normală; P_{1,7} - frunze parazitare de *Exobasidium vaccinii* (Fuck.) Woron.



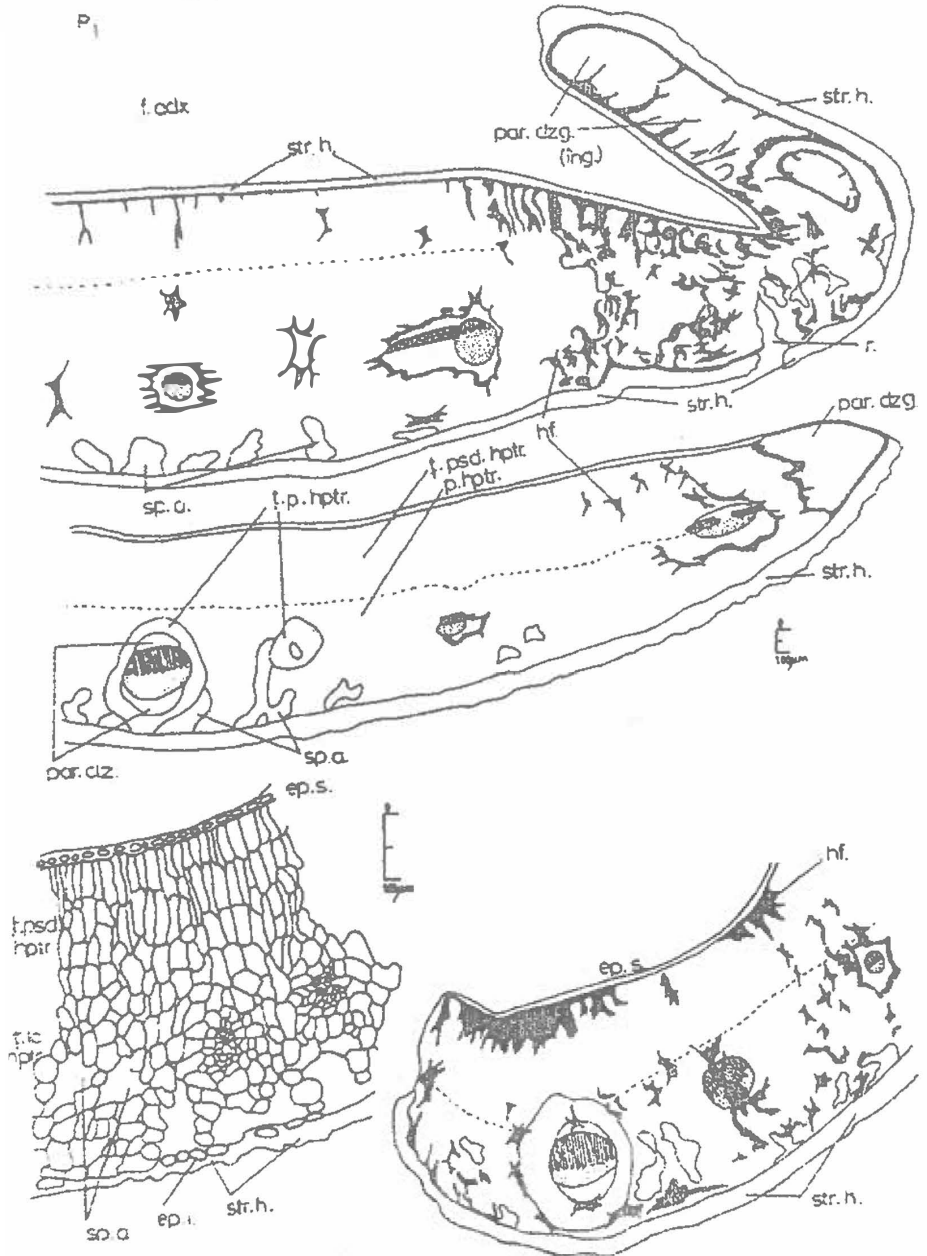
Microfotografie (x100) 1 - proba 2 - nervura mediană - concentrații pigmentare și ale hifelor, AFE, LF; x 83



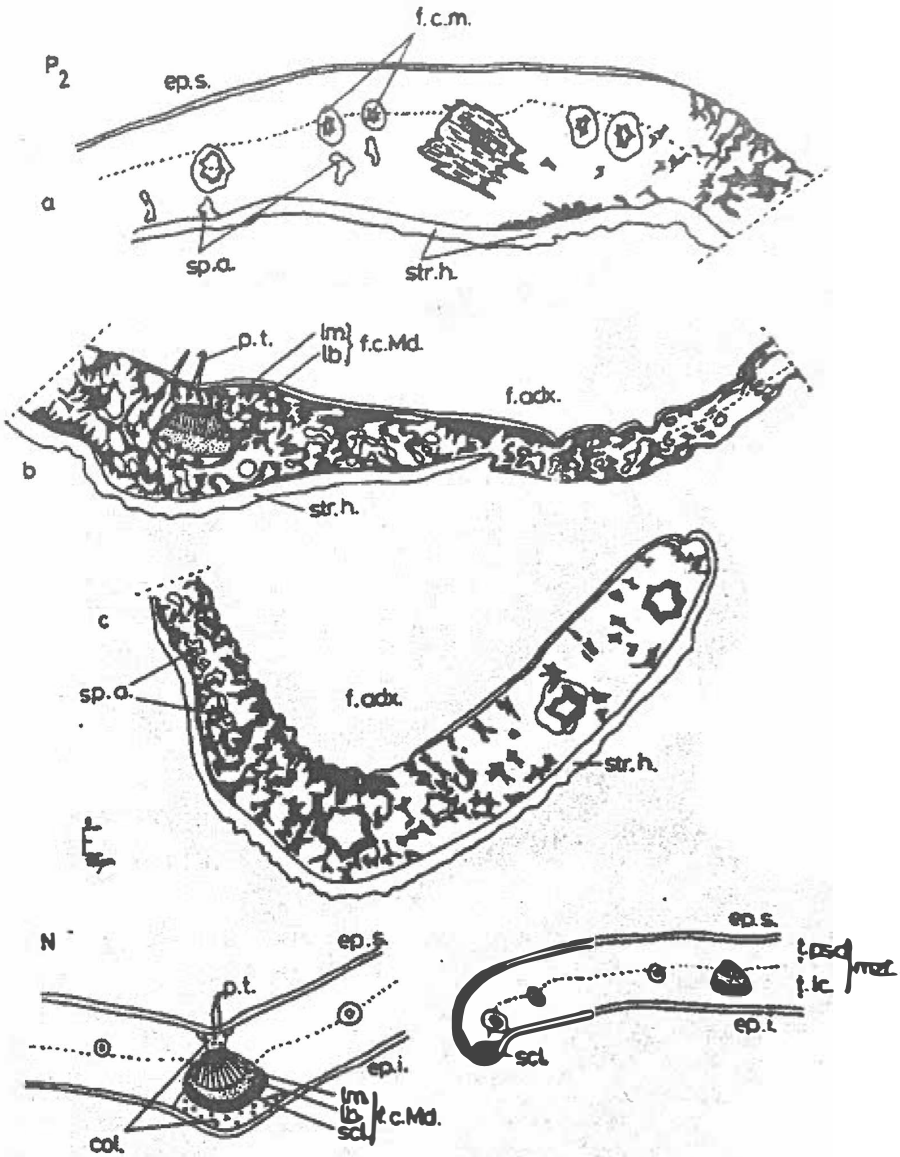
Microfotografie (m.f.) 2 - proba 5 - formarea stratului bazial cu bazidii la nivelul epidermei inferioare; poziția excentrică a unui fascicul conductor; AFE, 1P; x 100



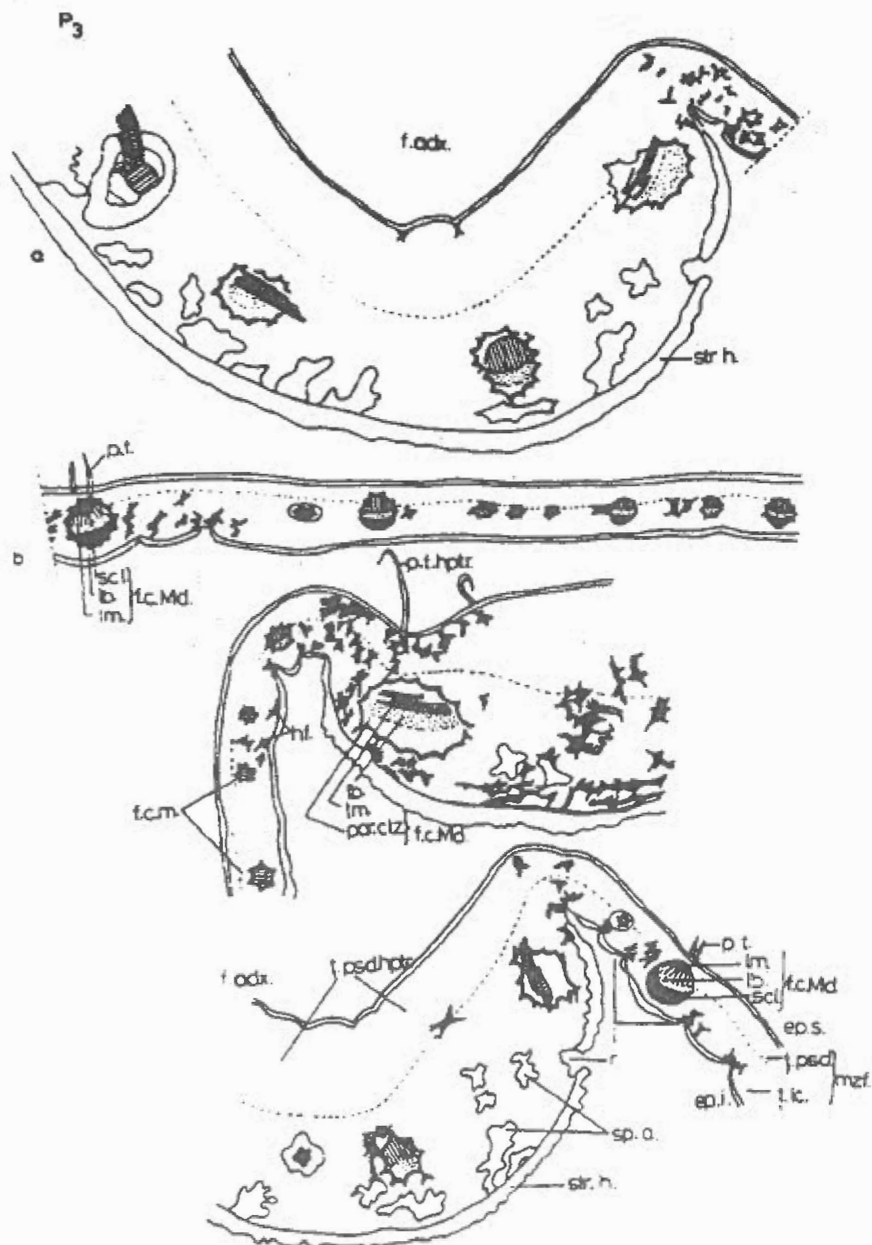
Microfotografie (m.f.) 3 - proba 6 - inhibarea creșterii hipertrofice a mezofilului micococcidic, în zona cu aspect de burețel; AFB, DC; x 63



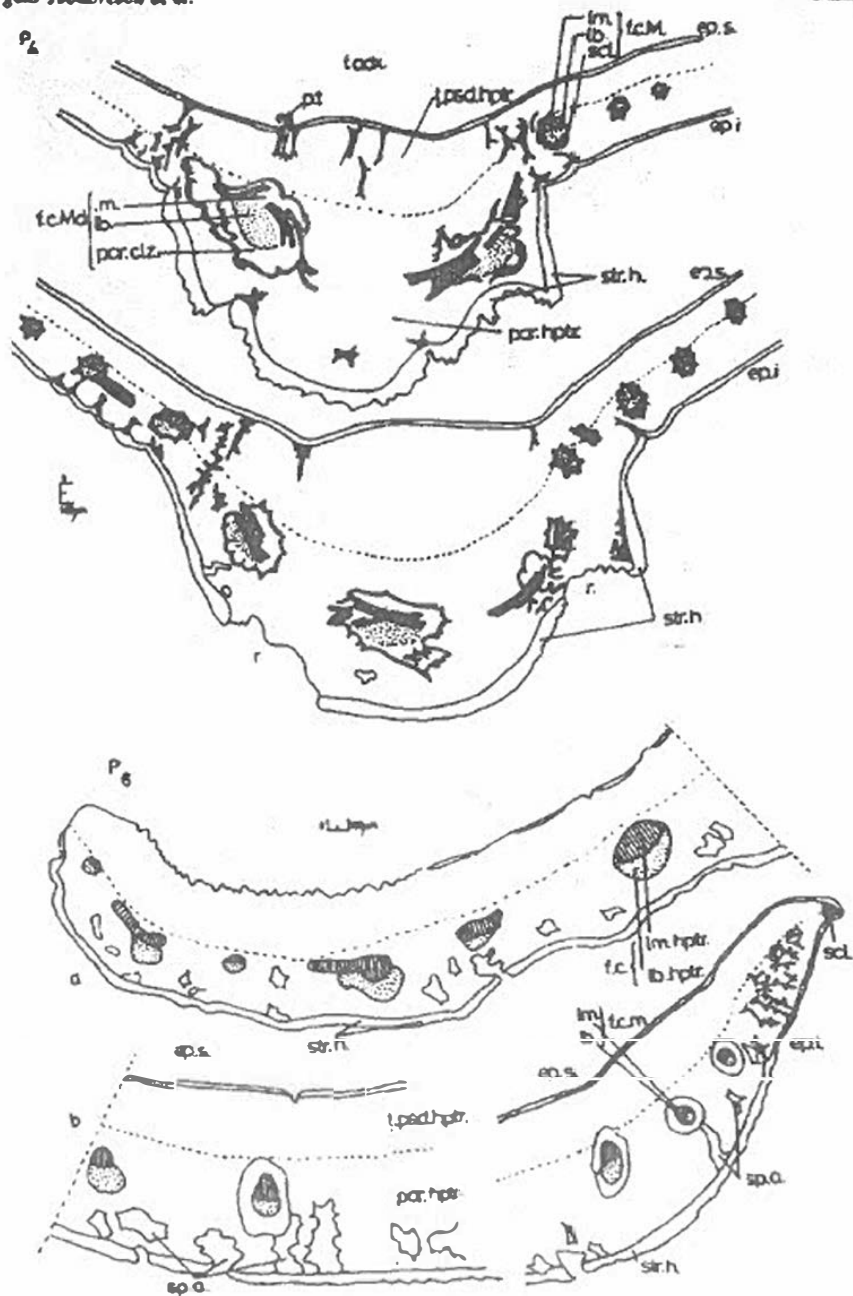
Scheme și detalii ale secțiunilor transversale prin frunza parazitată
 P₁ - proba 1: gată localizată la marginea limbului foliar



Structura normală (N) și parazită (P₂ - proba 2: întreaga frunză puternic modificată: vezi Pl. I, P₂)



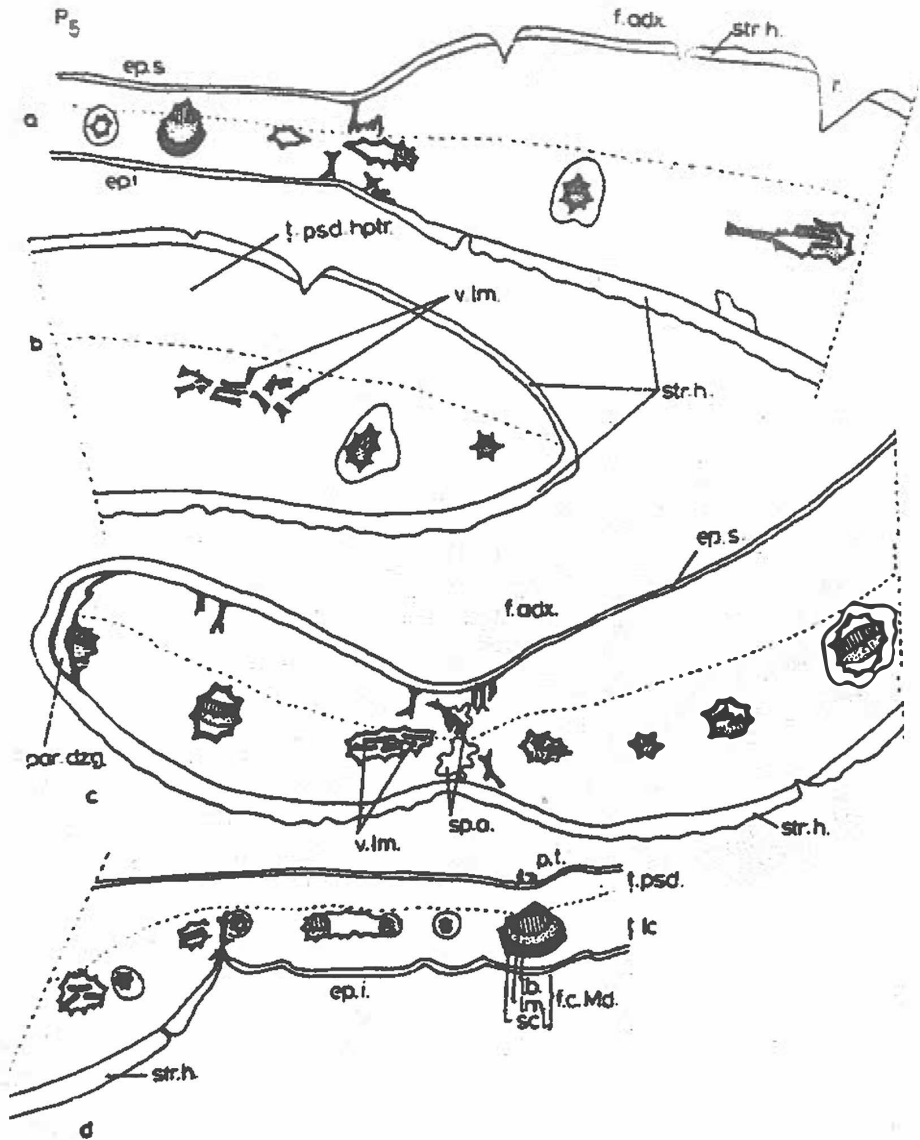
Scheme ale secțiunilor transversale prin frunza parazitată
P₃ - proba 3: gală localizată în regiunea mediană a limbului



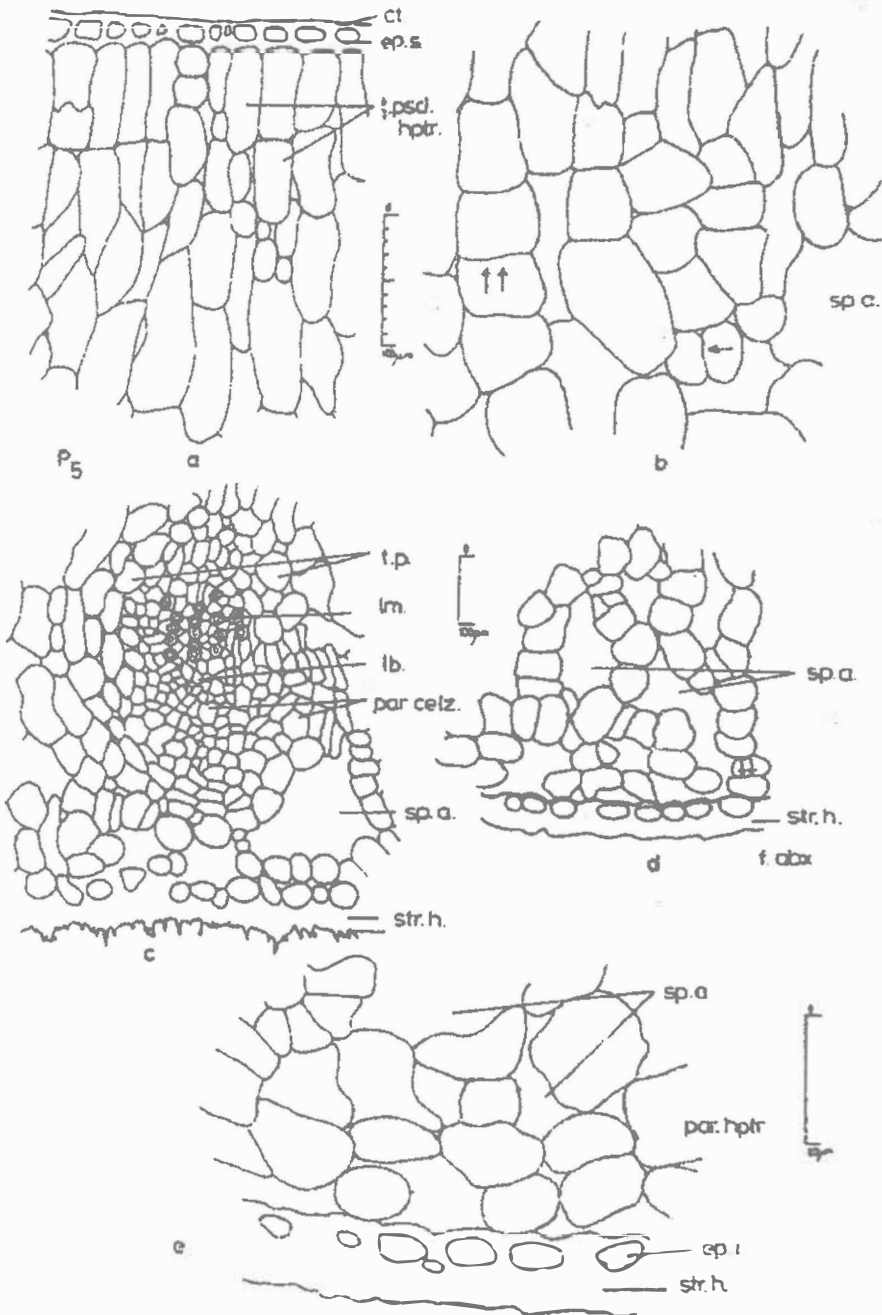
Scheme ale secțiunilor transversale prin fructul parazitar

P₄ - proba 4: gală localizată la nivelul nervurii mediane;

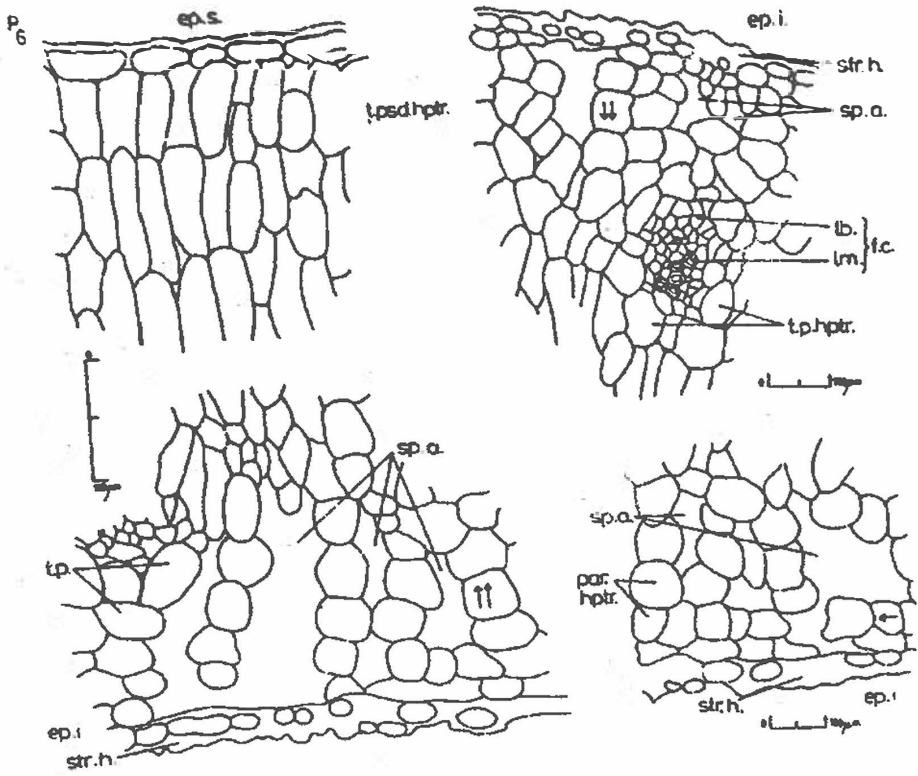
P₆ - proba 6: gală localizată lateral nervurii mediane, formând buretel la marginea limbii



Scheme ale secțiunilor transversale prin frunza parazitată
 P₅ - proba 5: galli localizați la marginea limbului



Detalii de structură (frunze parazitare: P₅ - vezi Pl. VI)



Detalii de structură (frunze parazitare: P₆ - vezi Pl. VI)