

Aparición en Badajoz, de *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr. cf. sobre alfalfa

J. DEL MORAL, D. CASADO y V. CHICA

En la primavera de 1992 aparecieron, en una parcela de alfalfa situada en Badajoz (España), unas hojas con síntomas de «Leaf spot» de las cuales se obtuvieron en laboratorio estromas fértiles conferibles a *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr., hongo no citado hasta ahora en Extremadura. En este trabajo se hace una síntesis de las últimas publicaciones referentes a dicha cuestión y se reflexiona sobre las medidas a tomar, a partir de ahora, en esta región.

J. DEL MORAL, D. CASADO y V. CHICA. Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Junta de Extremadura. Apdo. 22. 06080 Badajoz

Palabras clave: *Leptosphaerulina trifolii*, alfalfa, Badajoz (España).

INTRODUCCION

En la 2.^a quincena del mes de abril de 1992 llegó a nuestro laboratorio de patología vegetal una muestra consistente en plantas de alfalfa con manchas y necrosis en foliolos. La descripción que hizo el agricultor, respecto a la distribución de plantas enfermas en la parcela y a su intensidad, nos movió a inspeccionar el campo en cuestión y a muestrearlo personalmente.

Del procesado de las plantas seleccionadas obtuvimos unos estromas cuya morfología correspondía a ascocarpos con ascas y ascosporas atribuibles a *Leptosphaerulina* spp. Este hongo no figuraba en ningún archivo bibliográfico referente a Extremadura, y la repentina y grave distribución de síntomas nos desconcertaba al no poder preveer, con un mínimo de confianza, la peligrosidad de la enfermedad.

El temor a la probable expansión del patosistema estaba justificado por nuestra ignorancia de la misma, pero ¿qué importancia

tiene el cultivo de alfalfa en España y Extremadura? En España este cultivo se ha incrementado considerablemente desde 1960 hasta mediados de los años setenta, momento a partir del cual la superficie y producción se estabilizan. En 1989 se cultivaban en España 283.000 ha que producían 50.000 millones de pesetas en heno; en Badajoz, en el mismo año, se cultivaban 7.500 ha que producían más de 1.600 millones de pesetas (Figura 1)

Constatado el valor relativo del cultivo de alfalfa en Badajoz decidimos conocer qué importancia tenía este parásito en España y otros países, cuál era el conocimiento sobre su ecología y epidemiología, qué se sabía de terapéutica frente al mismo...

Este tipo de trabajo fitopatológico: apreciar un fenómeno local desconocido, describirlo, comprobar el nivel de conocimiento existente sobre el mismo en los fondos bibliográficos, discutir sobre lo observado y leído, resumirlo y publicarlo; este tipo de trabajo, creemos que es realmente útil a la agricultura española.



Fig. 1.—Campo de alfalfa donde puede apreciarse la extraordinaria cantidad de forraje que es capaz de producir esta especie vegetal mejorada.

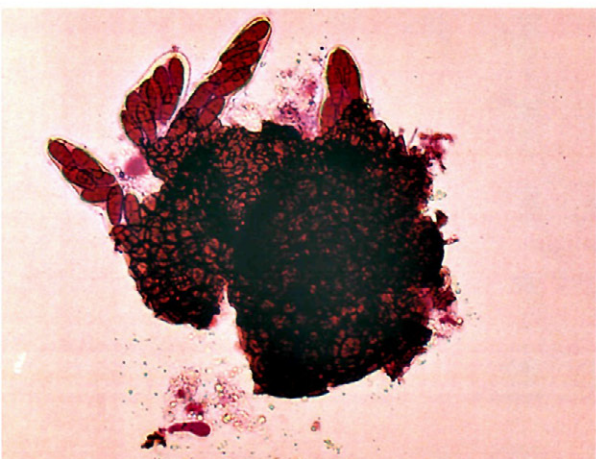


Fig. 2.—Hoja de alfalfa moteada.

Antecedentes respecto a *Leptosphaerulina* spp. sobre alfalfa

Síntomas originados por el hongo en el vegetal

La enfermedad desarrollada en la alfalfa es conocida en lengua inglesa como «PEPPER-SPOT» o «LEAF-SPOT» y en lengua francesa como «TACHES DE POIVRE». En español no tiene una denominación específica, o al menos nosotros no la hemos encontrado (Figura 2).

RAYNAL *et al.*, (1989) describen los síntomas situados sobre las hojas, afirmando

que son raros sobre los tallos y las inflorescencias. Estos se caracterizan, principalmente, por pequeñas puntuaciones negras que pueden estar diseminadas sobre el limbo y, si son numerosas, pueden provocar la caída prematura de los foliolos. HARVEY, en 1979 afirma que las manchas pueden ser negras o marrón oscuro, pero su principal característica es que tienen los márgenes bien definidos.

Distribución e importancia de la enfermedad en el mundo

BOOTH y PIROZYNSKY (1967) afirman que su distribución geográfica es extremadamente ancha. Ciertamente, en una prospección realizada en diversos fondos bibliográficos, respecto a los últimos diez años, hemos encontrado publicaciones de la misma en numerosos países.

MASSENOT (1978) afirma que en la mitad norte de Francia el parasitismo de *Leptosphaerulina briosiana* produce, principalmente en primavera, pérdidas esporádicas, pero su potencialidad patogénica les preocupa y les induce a incluirla en los programas de selección de la alfalfa.

GRAHAM *et al.*, (1979) afirman que esta enfermedad estaba considerada como poco importante hasta 1956, situación que cambió a partir de entonces.

ROBERTS (1988) constata que desde 1980 es la enfermedad foliar de la alfalfa más importante en el norte de Florida (EE.UU.).

Según BILLAR (1989) en Arabia es observada en más de 40 zonas de cultivo a lo largo de los años 1980-86.

Realmente hemos encontrado publicaciones sobre la enfermedad en aquellas áreas donde las praderas son ampliamente cultivadas. THAL y CAMBELL (1987) y CHONG y CAMBELL (1988), la estudian en Carolina del Norte (EE.UU.); BANIHASHEMI (1985) en el Sur de Irán; THOMSON y WESTMIZEN (1985) en Sudáfrica; DOUVILLE (1990) en Canadá; GAU *et al.*, (1989) en Japón, LOWE *et al.*, (1987) en Australia...

En nuestro país, concretamente en Galicia, MAINAR y TORRES (1977) consiguen aislar *Leptosphaerulina briosiana* de alfalfa «Du Puits», aislados que provocan enfermedades en plantas inoculadas. Los mismos autores, en 1979, denuncian también, en la misma comunidad, *Leptosphaerulina trifolii* sobre trébol blanco y violeta. COLLAR URQUIJO (1992), en un trabajo inédito respecto a *L. trifolii* en Galicia, afirma que este incitante, sobre trébol violeta y junto al oidio, parece tener alguna importancia, pero donde se desarrolla la enfermedad más intensamente es sobre trébol blanco.

Patógeno desencadenante de la enfermedad

Desde que esta enfermedad, por las pérdidas que empezó a ocasionar, atrajo la atención de los fitopatólogos (principios de los años sesenta), la dialéctica originada respecto a la taxonomía del incitante ha llegado hasta nuestros días. Con objeto de presentar el estado actual de la cuestión hemos creído oportuno hacer un desarrollo pormenorizado de la misma.

GRAHAM y LUTRELL (1961) escriben que el género *Leptosphaerulina* incluye varios hongos asociados con enfermedades de las hojas de plantas forrajeras. Puesto que la taxonomía de estos hongos estaba confusa deciden desarrollar un estudio sobre diversos aspectos morfológicos, fisiológicos y patológicos de los respectivos hongos aislados del género *Leptosphaerulina* sobre alfalfa, trébol y otras especies forrajeras.

Atendiendo a diversos caracteres, los citados autores diferencian las siguientes especies: *Leptosphaerulina australis*; *L. arachidicola*; *L. trifolii*; *L. americana*, *L. Briosiana* y *L. argentinensis*. *L. briosiana*, con 4 tabiques generalmente y ascosporas muriformes difiere de *L. australis* y *L. arachidicola* en sus ascosporas y ascas, más grandes las de aquella, así como en la regular ocurrencia en hojas enfermas de *Medicago*. Afirman que no es usual la presencia de *L. briosiana* sobre *Trifolium* spp., aunque ellos la han encontrado en dos ocasiones.

En la publicación de dichos autores figura que *L. trifolii* tiene ascocarpos y ascas más grandes que las de *L. briosiana*, sobre todo cuando se desarrollan en buenas condiciones de cultivo. Las ascosporas de *L. trifolii* tienden a tener 3 tabiques con un pequeño número de septos longitudinales (0-2), así como un pequeño porcentaje de esporas muriformes, mientras que *L. briosiana* tiende a 4 tabiques con mayor número de septos longitudinales (0-4) y casi todas son muriformes (88-96%). Por otra parte aseguran que *L. trifolii* está restringida a *Trifolium* spp. y *L. briosiana* a *Medicago* spp., con solo trazas de infecciones cruzadas.

En el año 1967, BOOTH y PIROZYNSKI revisan la cuestión taxonómica y concluyen que *L. trifolii* (Rost.) Petr. es igual a *L. briosiana* (Poll.) Graham, Luttrell 1961; igual a *L. arachidicola* Yen, Chen-Huang 1956; igual a *L. australis* McAlp, 1902 y a *L. argentinensis* (Speg.) Graham, Luttrell 1961. Para BOOTH y PIROZYNSKI dicha sinonimia se ha producido porque el micromiceto en cuestión muestra una amplia variación morfológica de esporas según el hospedador en el que se instale; pero cuando las ascosporas son aisladas de los distintos hospedadores donde aparece espontáneamente (leguminosas, gramíneas y papilionáceas) y estas esporas se cultivan en PDA bajo condiciones uniformes y controladas, entonces se puede comprobar que las ascosporas producidas son uniformes entre sí y por tanto en todos los casos se trata de la misma especie: *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr.

BOOTH y PIROZYNSKI (1967) determinan que las ascas de *L. trifolii* encierran 8 ascosporas ovales, clavadas o elipsoides, con 3-4 tabiques transversales y 0-2 verticales, hialinas al principio y oscureciéndose ligeramente a medida que van madurando y con unas dimensiones de 25-50 × 10-20 μ (Figura 3).

GRAHAM *et al.*, (1979) vuelven a describir a *Leptosphaerulina briosiana* (Poll.) Graham, Luttrell como la especie causante de la enfermedad llamada «leaf spot» de la alfalfa.



Fig. 3.—Ascas y ascosporas de *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr. cf.

OLANYA y CAMPBELL (1990) publican dos artículos en el mismo número de *Phytopathology* donde describen un minucioso trabajo desarrollado para zanjar el problema en cuestión. Ellos aíslan *Leptosphaerulina* de alfalfa y trébol, los cultivan en idénticas condiciones y los comparan entre sí. Las colonias eran ligeramente diferentes según el origen (alfalfa o trébol) del micromiceto, pero la producción de pseudotecios, ascosporas características y patogenicidad entre ambas era similar.

En experimentos de campo, los referidos autores comprueban, al utilizar como focos primarios plantas de alfalfa y trébol, que la enfermedad se desarrollaba más rápidamente cuando era la alfalfa el hospedador que cuando era el trébol, independientemente de la especie empleada como foco primario, por lo que concluyen que las características del desarrollo de la enfermedad están determinadas fundamentalmente por el hospedador infectado más que por el foco primario infectivo, por lo que para ellos existe una «cumespecificidad» entre *Leptosphaerulina trifolii* y *L. briosiana*.

Las técnicas empleadas para la multiplicación del ascomiceto no presentan ninguna complejidad. RAYNAL *et al.*, (1989) afirman que las peritecas del hongo se obtienen con relativa facilidad mediante cámara húmeda de hojas enfermas. Las peritecas formadas proyectan en 24-28 horas ascosporas que si

caen en un medio como PDA producen numerosas colomas negras.

LAMPRECHT (1985) trabaja con 18 aislados de *L. briosiana* que presentan distinta patogenicidad y comprueba que los aislados esporulan en patata-zanahoria agar si son mantenidos a 12 horas iluminados con UV y 12 horas en oscuridad, constatando que en los cultivos con total oscuridad no se forma ninguna ascospora.

Hasta ahora no se conoce la forma conidial de *Leptosphaerulina* spp.

Epidemiología y conocimiento actual del patosistema

BOOTH y PIROZYNSKI (1967) dicen que son las ascosporas las que, germinando en las hojas del hospedador, atraviesan directamente la cutícula y se establecen en el parénquima foliar; también han podido comprobar el transporte del micelio por medio de las semillas, cuestión ésta de una gran peligrosidad para el desarrollo del patosistema.

RAYNAL *et al.*, (1989) afirman que el micelio de *Leptosphaerulina* spp. sobrevive sobre los restos vegetales en el suelo y fructifica muy rápidamente cuando las temperaturas son dulces y hay una fuerte humedad; las ascosporas son entonces proyectadas fuera de las peritecas, contaminando así las hojas jóvenes. Comprueban dichos autores que con temperaturas próximas a 18 °C la incubación no necesita más de 4-5 días, emitiéndose ascosporas tan sólo 1 ó 2 días después.

OLANYA y CAMPBELL (1990 b) determinan, en condiciones ambientales controladas, que la severidad de los síntomas es menor a 30 °C que a 22 ó 15 °C.

BARBETTI (1991), en un estudio para conocer las condiciones de humedad y temperatura más favorables al desarrollo de la enfermedad, y después de haber inoculado *Leptosphaerulina trifolii*, observa que el más severo moteado de las hojas de alfalfa se producía cuando la temperatura del día/noche era 18/13 °C respectivamente, pero

respecto al peciolo esos valores idóneos eran 21/16 °C, siendo más severos los síntomas cuando la incubación se producía con altos valores de humedad relativa durante 168 horas.

DUTHIE y CAMPBELL publican en 1991 unos experimentos para comprobar la importancia del rastrojo en el patosistema en cuestión, afirmando que la frecuencia de síntomas en foliolos de alfalfa se incrementaba significativamente por adición de restos vegetales enfermos, pero no encontraban correlación entre niveles de rastrojo con niveles de síntomas, hallando mucha más influencia de los factores medioambientales (humedad y temperatura) que de la cantidad de rastrojo con micelio del hongo.

Terapéutica

Las medidas para restituir o preservar la salud de las plantas de alfalfa, respecto a la enfermedad que estamos considerando, se agrupan de la siguiente forma: técnicas de cultivo, selección de cvs. o variedades resistentes y aplicación de fitosanitarios.

La técnica de cultivo que se ha recomendado ha sido adelantar la siega de los campos con síntomas de la enfermedad para así evitar la caída al suelo de los foliolos enfermos e impedir el establecimiento de focos de dispersión de ascosporas; no obstante, DUTHIE y CAMPBELL (1991) desautorizan la excelencia de tal medida al desarrollar los experimentos ya descritos respecto a la importancia de la cantidad de rastrojo en la dispersión de la enfermedad.

Se ha propugnado el uso de cvs. resistentes como un poderoso método para evitar la enfermedad. LOWE *et al.*, (1987); GAU *et al.*, (1989) y HILL *et al.*, (1989) afirman que, aún cuando se ha podido obtener germoplasma de alfalfa con resistencia al incitante, todavía no hay variedades resistentes.

La aplicación de fitosanitarios es estudiada por LOWE y LANGDON (1987) y LOWE *et al.*, (1987), quienes determinan que Iprodione y Propineb, de una colección de 8 específicos,

RESULTADOS Y DISCUSION

Los síntomas que presentaban las hojas de las plantas afectadas en la parcela de Badajoz coincidían con las descripciones dadas por RAYNAL *et al.*, (1989) y HARVEY (1979) para la enfermedad de la alfalfa conocida como «Taches de poivre» o «Leaf spot» y cuyo agente patógeno es *Leptosphaerulina* spp.

Las ascosporas obtenidas de las lesiones de hojas enfermas y observadas microscópicamente se presentaban en número de 8 por asca y eran muriformes. Las morfometrías realizadas de las mismas daban los siguientes valores:

Longitud: 28,9 - 34,2 μm

Anchura: 11,1 - 13,9 μm

Tabiques: con 3 el 2,5 %, con 4 el 95 % y con 5 el 2,5 % de las ascosporas

Septos longitudinales: con 0 el 22 %, con 1 el 51 % y con 2 el 27 % de las ascosporas.

La morfología observada de ascocarpos, ascas y ascosporas, según BOOTH y PIROZYNSKI (1967) y OLANYA y CAMPBELL (1990 b) es conferible al hongo ascomiceto *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr. (Figura 4).

La intensidad de los síntomas presentes en la parcela afectada, valorados con la escala y procedimientos descritos en la metodología es como sigue:

	Escala A	Escala B
Valor 4.	63 % de las estaciones	26 % con valor 2 74 % con valor 1
Valor 3	17 % de las estaciones	20 % con valor 2 80 % con valor 1
Valor 2	7 % de las estaciones	100 % con valor 1
Valor 1	13 % de las estaciones	100 % sanas

Estos resultados definen, matemáticamente, la apreciación visual que teníamos en el campo del patosistema desarrollado y que en síntesis es: el mayor porcentaje de las plantas estaban enfermas en toda su altura, aunque la mayoría de ellas presentaban síntomas ligeros.



Fig. 4.-Dibujo realizado con cámara clara y correspondiente a ascas y ascosporas de *Leptosphaerulina trifolii* (Rost) Petr. cf.

Los valores térmicos y pluviométricos de la primera decena del mes de abril de 1992, (Cuadro n.º 1), parecen suficientes para cubrir las necesidades climáticas de este hongo según RAYNAL *et al.*, (1989), OLANYA y CAMPBELL (1990 b) y BARBETTI (1991). Como puede apreciarse, las temperaturas mínimas de la primera decena del mes de abril de 1992 fueron mayores, en más del doble, a la media de las mínimas de dicho período en los últimos veintitrés años. Esas temperaturas mínimas tan excepcionalmente suaves, coincidentes con una ligera precipitación, pueden explicar la aparición de la enfermedad.

La ausencia de citas respecto a esta enfermedad en Extremadura nos impide saber si el hongo *Leptosphaerulina trifolii* se ha implantado recientemente o por el contrario estaba aquí desde hacía tiempo. Tanto en un caso como en otro y a la vista de la biblio-

grafía consultada es probable que esta enfermedad vaya adquiriendo protagonismo a medida que se obtengan nuevas variedades o cvs. de alfalfa más productivos.

El hecho de que en esta enfermedad la fase teleomórfica tenga una gran responsabilidad y de que el inóculo se transmita por medio de la semilla le confieren una relativa peligrosidad; no obstante, los requerimientos climáticos del incitante para su desarrollo en el hospedador, nos hacen suponer que solo en excepcionales primaveras aparecerá este patosistema en Badajoz.

A partir de ahora se deberá vigilar cuidadosamente la sanidad de la semilla a emplear, siendo quizá conveniente la impregnación de ella con alguno de los fungicidas que han demostrado eficacia frente al patógeno (mancoceb, clortalonil, benomilo...).

También sería aconsejable separar lo máximo posible, en el tiempo y la distancia, las parcelas de alfalfa alternantes, así como cuidar la correcta nivelación del terreno antes de la implantación del cultivo.

Por otra parte, y a partir de ahora, los mejoradores extremeños deberán registrar la aparición de la enfermedad en las líneas de alfalfa de sus colecciones.

AGRADECIMIENTOS

A la analista Milagros Arenas Sabariego que, además de participar en los trabajos de laboratorio, ha confeccionado los dibujos del microscopio y mecanografiado el artículo.

ABSTRACT

DEL MORAL, J.; CASADO D. y CHICA, V., 1994: First appearance of *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr. cf. of the lucerne in Badajoz (Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**(4): 871-879.

In spring of 1992, in a crop of Lucerne from Badajoz (Spain), we see for the first time symptoms of «Leaf spot» and fertile stroms, coniferably to *Leptosphaerulina trifolii* (Rost.) Petr. cf. in these diseased leaves. The publication contains the last work about this question and some reflexions for the prevent of the disease.

Key words: *Leptosphaerulina trifolii*, lucerne, Badajoz (Spain).

REFERENCIAS

- BANIHASHEMI, Z., 1985: Reports on some new diseases in the southern provinces of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, **21**(1/4): 21-22; 69-70.
- BARBETTI, M., 1991: Effects of temperature and humidity on diseases caused by *Phoma medicaginis* and *Leptosphaerulina trifolii* in lucerne (*Medicago sativa*). *Plant Pathology*, **40**(2): 296-301.
- BILLAR, M., 1989: Survey of alfalfa diseases in the ghouta of Damascus, Syria (1981-1982-1985-1986). *Arab Journal of Plant Protection*, **7**: 1-7.
- BOOTH, C. &. PIROZYNSKI, A., 1967: *Leptosphaerulina trifolii*. C.M.I. *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, N.º. 146
- BROSCIOUS, S. C. y KIRBY, H. W., 1988: Economic evaluation of fungicides for control of alfalfa foliar diseases. *Phytopathology*, **78**(7): 934-939.
- CAMPBELL, C. L. y DUTHIE, J. A., 1990: Impact of leaf spot diseases on yield and quality of alfalfa in North Carolina. *Plant Disease*, **74**(3): 241-245.
- COLLAR, J.: En prensa: Evaluación de daños en treboles causados por enfermedades foliares en Galicia.
- CHONG, K. V. y CAMPBELL, C. L., 1988: Seasonal occurrence of leaf spot pathogens of alfalfa in North Carolina. *Plant Disease*, **72**(8): 667-672.
- DOUVILLE, Y.; RICHARD, C. y POULEUR, S., 1990: Possibilities of biological control of foliar and stem diseases of lucerne. *Canadian Plant Disease Survey*, **70**(1): 5-9.
- DUTHIE, J. A. y CAMPBELL, C. L., 1991: Effects of plant debris on intensity of leaf spot disease, incidence of pathogens, and growth of alfalfa. *Phytopathology* (USA), **81**(5): 511-517.
- GAU, M.; SAWAI, A.; UEDA, S. y MATSU-URA, M., 1989: Significance of specific combining ability for yield in alfalfa (*Medicago sativa* L.) breeding. *Journal of Japanese Society of Grassland Science*, **34**(4): 292-299.
- GRAHAM, J. H.; FORSHEISER, F. I.; STUTEVILLE, D. L. y ERWIN, D. C., 1979: A compedium of Alfalfa Diseases. Ed. APS. EE.UU.

- GRAHAM, J. H. y LUTTRELL, E. S., 1961: Species of *Leptosphaerulina* on forage plants. *Phytopathology*, **51**: 680-693
- HARVEY, I. C., 1979: Lucerne leaf diseases. Significance, identification and control. MAF. Wellington, Nueva Zelanda.
- HILL, R. R.; LEATH, K. T.; ELGIN, J. H., 1989: Registration of MSA-PL-L alfalfa germplasm. *Cropscience*, **29**: 5.
- LAMPRECHT, S. C., 1985: Infection and disease development of *Leptosphaerulina* leaf spot in lucerne, 1980-83. Agricultural Research, South Africa, **29**. *Dep. of Agriculture and water supply*.
- LOWE, K. F.; LANGDON, P. W. y BOWDLER, T. M., 1987: Combined effects of leaf spot diseases caused by *Stemphyllium vesicarium* (Wallr.). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **27**(1): 59-65.
- LOWE, K. F. y LANGDON, P. W., 1987: Lucerne leaf spot diseases. *Queensland Agricultural Journal*, **113**(2): 69-70, 72.
- LOWE, K. F.; BARTHOLOMEW, B. L. y BOWDLER, T. M., 1988: Hay production of lucerne cultivars in the Lockyer Valley, south-east Queensland. *Tropical Grasslands*, **22**(4): 184-189.
- MAINER, A. y TORRES, J., 1977: Identificación y evaluación de daños causados por enfermedades en las pratenses. CRIDA 01 (Galicia): 48-49.
- MAINER, A. y TORRES, J., 1979: Protección de cultivos. CRIDA 01 (Galicia): 69-71.
- MASSENOT, M., 1978: Données utiles au sélectionneur pour améliorer la résistance des luzernes à l'égard des maladies et ravageurs. Institut National de la Recherche Agronomique: 29-30.
- MUSLERA, E., 1984: Praderas y Forrajes (Producción y Aprovechamiento): 686-687.
- OLANYA, O. M. y CAMPBELL, C. L., 1990a: Analysis of epidemics of *Leptosphaerulina* leaf spots on alfalfa and white clover in time and space. *Phytopathology* (USA), **80**(12): 1341-1347.
- OLANYA, O. M. y CAMPBELL, C. L., 1990b: Isolate characteristics and epidemic components of *Leptosphaerulina* leaf spots on alfalfa and white clover. *Phytopathology* (USA), **80**(12): 1.278-1.282.
- RAYNAL, G.; GONDRAN, J.; BOURNOVILLE, R. y COURTILOTT, M., 1989: Ennemus et maladies prairies. *Institut National de la Recherche Agronomique*: 102-103.
- ROBERTS, D. A., 1988: Important diseases of alfalfa in North Florida. In Report on the thirty-first North American Alfalfa Improvement Conference (edited by Moutray, J. B.; Elgin, J. H., Jr.). Beltsville, Maryland.
- THAL, W. M. y CAMPBELL, C. L., 1987: Sampling procedures for determining severity of alfalfa leaf spot diseases. *Phytopathology*, **77**(2): 157-162.
- THOMSON, A. H.; WESTMIZEN, GCA-VAN-DER, 1985: A survey of the diseases of the pasture crop lucerne. *Agricultural Research, South Africa*: 28-29.

(Aceptado para su publicación: 11 Agosto 1993)