



IMPORTANCIA DE Rhizoctonia sp. (BINUCLEADO) COMO PATOGENO DE
Centrosema spp. EN COLOMBIA

Gilberto Olaya H. y Jillian M. Lenné

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)

Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia 1986

Resumen

El añublo foliar causado por Rhizoctonia spp. es la enfermedad más común y seria del género de leguminosas forrajeras tropicales Centrosema. De un total de 25 aislamientos de Rhizoctonia hechos de hojas de este género, se ha detectado solamente 44%, pertenecientes al multinucleado R. solani (Thanatephorus cucumeris) y 56% de los aislamientos con células hifales binucleadas. Estos aislamientos están fuera de la especie R. solani y tienen su estado sexual dentro del género Ceratobasidium. Se está presentando por lo tanto un complejo de R. solani y Rhizoctonia sp. causando añublo foliar en Centrosema spp. en Colombia. Rhizoctonia sp. también causa añublo foliar en otras leguminosas forrajeras en Colombia incluyendo Stylosanthes macrocephala. De una colección de 51 aislamientos de Rhizoctonia de diferentes leguminosas, 39% se han identificado como Rhizoctonia sp. En su mayoría los aislamientos se han obtenido de varios sitios en los Llanos de Colombia, también se tienen en Macagual, Caquetá y Santander de Quilichao, Cauca. Entonces, Rhizoctonia sp. está ampliamente distribuido en Colombia. En ensayos de patogenicidad en invernadero, se han registrado altos niveles de virulencia por los binucleados hasta 4.0 en una escala de 0 a 5.

Summary

Foliar blight caused by Rhizoctonia spp. is the most common and serious disease of the genus of tropical forage legumes Centrosema. Of a total of 25 isolates of Rhizoctonia taken from leaves of this genus, only 44% were

detected pertaining to the multinucleate R. solani (Thanatephorus cucumeris) and 56% of the isolates had binucleate hyphal cells. These isolates are outside of the species R. solani and have their sexual state within the genus Ceratobasidium. Of great importance, a complex of R. solani and Rhizoctonia sp. is presenting foliar blight of Centrosema spp. in Colombia. Rhizoctonia sp. also causes foliar blight of other forage legumes in Colombia including Stylosanthes macrocephala. Of a collection of 51 isolates of Rhizoctonia from different legumes, 39% have been identified as Rhizoctonia sp. In their majority, the isolates have been obtained from various sites in the llanos of Colombia, also from Macagual, Caqueta and Santander de Quilichao, Cauca. Therefore, Rhizoctonia sp. is widely distributed in Colombia. In pathogenicity trials in the glasshouse, high levels of virulence have been registered by the binucleates up to 4.0 on a scale of 0 to 5.0.

INTRODUCCION

Uno de los géneros forrajeros más importantes de los trópicos es Centrosema. Esta es una leguminosa de alto contenido proteínico, mayor del 20% (4); valor que supera al de especies conocidas del género Stylosanthes. Las especies de este género, son muy utilizadas debido a su amplia capacidad adaptativa (crece bien sobre un amplio rango de suelos); rendimientos aceptables, ante todo cuando se encuentra asociada; amplio margen de compatibilidad con especies de la familia de las gramíneas (9), además de competir con las malas hierbas (11).

El añublo foliar por Rhizoctonia spp. es la enfermedad más común y seria

del género Centrosema (5). Inicialmente los síntomas son manchas acuosas que van aumentando de tamaño, toman luego un color crema o marrón y forman manchas o parches de forma irregular que puede afectar a todo el folíolo. Cuando el ataque es severo ocurre abundante defoliación; sin embargo, los tallos de las hojas son raramente afectados. El desarrollo de la enfermedad es favorecido por la alta humedad relativa y las temperaturas de moderadas a altas. El inóculo primario está constituido por los esclerocios del patógeno que germinan rápidamente al inicio de la época lluviosa (8).

En los llanos de Colombia, el ataque alcanza la mayor severidad durante los primeros meses lluviosos, luego su incidencia disminuye hasta llegar a niveles muy bajos en la estación seca. Las pérdidas de materia seca han estado por entre el 20 y 30% en la época húmeda (7).

Se ha observado que el añublo foliar se presenta con mayor severidad en C. brasilianum y en menos grado en C. macrocarpum, C. pubescens y Centrosema sp. (8). El problema está siendo causado por el patógeno en su estado imperfecto, situación difícil ya que Rhizoctonia solani posee características miceliales muy similares a otros hongos del suelo (2). La diferenciación ha sido posible mediante la tinción nuclear de células hifales e inducción del estado perfecto (13). R. solani presenta hifas multinucleadas y tienen como estado perfecto a Thanatephorus cucumeris. Rhizoctonia sp. posee dos núcleos por célula hifal y producen el estado de Ceratobasidium (13, 1). Durante los últimos 10 años se ha encontrado a Rhizoctonia sp. binucleado, como un patógeno común, a veces en complejo con R. solani o a veces solo,

pero en ambos casos causando enfermedad en muchos hospedantes. Ante tal situación, esta investigación trata de clarificar un poco el problema del añublo foliar en los llanos de Colombia, por tal motivo se hizo el estudio de un grupo de aislamientos para clasificarlos y compararlos y obtener así un mayor conocimiento de este patógeno, hasta el momento poco estudiado.

MATERIALES Y METODOS

Origen y obtención de los aislamientos

En la estación ICA-CIAT Carimagua, Llanos Orientales, Colombia, se hicieron la mayoría de los aislamientos. Se aisló el patógeno de partes aéreas de diferentes leguminosas forrajeras, también se aisló de raíces de suelo. En Santander de Quilichao, Cauca y Macagual, Caquetá se lograron algunos en menor número. Para la obtención de Rhizoctonia de partes aéreas se practicó el método tradicional de aislamiento (bicloruro de mercurio al 1 x 1000, alcohol del 70% y agua, para la desinfestación de la muestra y posterior siembra en PDA) y un método de aislamiento, el cual consistió en pegar en la tapa de una caja petri con medio PDA, la muestra tomada con la ayuda de una cinta y al cabo de dos o tres días fue muy fácil purificar la colonia por el rápido crecimiento del hongo en el medio. Para las muestras de raíces e hipocotilo se empleó el método tradicional y para el aislamiento del hongo en el suelo se utilizaron trampas de tallos de Centrosema estériles envueltos en una gasa y dejados bajo suelo.

Tinción de núcleos en células hifales

Discos de inóculo de 1 cm de diámetro, fueron sacados de colonias jóvenes crecidas en Agar-agua al 2%. Inicialmente los discos se fijaron con ácido

acético glacial y etanol y posteriormente se hidrolizaron con ácido clorhídrico 2L 1N. Los núcleos de las hifas en pleno crecimiento se tiñeron con una solución colorante de Giemsa (12).

Características culturales

Se lograron sembrando los hongos en medio PDA. Cinco cajas por cada aislamiento fueron sembradas para determinar su rata de crecimiento a las 48 horas, el color del micelo a los 4 y 8 días de edad del cultivo, la textura y producción de micelio aéreo a los 8 días y la presencia y descripción de los esclerocios a los 14 días. Para la zonación cinco cajas fueron sembradas y mantenidas bajo plena oscuridad envueltas en papel de aluminio y a 28°C, la evaluación se hizo a las dos semanas (6, 12).

Grupos de Anastomosis

Los aislamientos sometidos a esta prueba fueron todos aquellos que resultaron ser Rhizoctonia solani, debido a que solo se tiene hasta el momento los probadores de los grupos de anastomosis para esta especie, estos fueron suministrados por el Dr. Butler, Departamento de Patología de Plantas, Universidad de California, Davis, EE.UU. Se utilizaron cajas petri con medio Agar-agua al 2% y sobre este medio y repartidos en forma lineal 5 trozos de papel celofán de 1.0 x 0.5 cm. El micelio del aislamiento desconocido fue colocado al lado izquierdo y el del aislamiento conocido al lado derecho. La distancia al papel celofán estuvo sujeta a la rata de crecimiento de cada aislamiento. Cuando las colonias encontraron en contacto y mostraron ligera superposición del micelio sobre el papel celofán, este fue removido y colocado sobre un porta objetos, inmediatamente fue teñido con azul de algodón o tripan azul (14, 12).

Patogenicidad de los aislamientos

Para esta prueba se escogieron 10 aislamientos, 5 multinucleados y 5 binucleados; esta selección se hizo en base a ensayos anteriores. Los binucleados fueron el I 5247C, I 5247 F, I 5247 G, I 5234 aislados de Centrosema y I 10435 aislado de S. macrocephala. Los multinucleados fueron el I 5369, I 5178, I 5372 aislados de Centrosema, I Brachiaria, aislado de la gramínea B. decumbens y I 5564 aislado de frijol. Las plantas probadas fueron ecotipos de la leguminosa Centrosema brasilianum, CIAT 5671, 5657, 5234, 5810, 5514, 5178 y 5365. El ensayo se hizo bajo condiciones de invernadero (HR max. 96% y min. de 40%; T max. 34°C y min. de 20°C). El diseño fue completamente al azar y en total se hicieron 3 repeticiones.

Siembra

Las plantas fueron sembradas en bandejas de 54 x 27 x 6 cm de dimensión que contenían una mezcla 3:1 de suelo de Santander de Quilichao y arena. Se sembraron 5 plantas por ecotipo en cada repetición. Las semillas de cada ecotipo, inicialmente se hicieron germinar en cajas petri con papel filtro humedecido, habiéndose hecho con anterioridad una escarificación, la cual consiste en un pequeño corte hecho con un escalpelo en la semilla.

Inoculación:

El inóculo se hizo en forma de suspensión micelial, esta tuvo una concentración de 2 gramos de micelio por 100 ml de agua destilada estéril. Para la obtención del micelio puro, cada aislamiento se hizo crecer en frascos erlenmeyer de 250 ml que contenían 150 ml del siguiente medio: Peptona 10 gr

Glucosa o Dextrosa 15 gr, K_2HPO_4 0.5 gr, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 gr y agua destilada 1000 ml. La suspensión se preparó en una licuadora, con ayuda de trozos de hielo para evitar sobrecalentamientos de la misma. Las bandejas con las plantas de 3 semanas de edad, se embolsaron en chuspas plásticas, previamente humedecidas y se procedió a la aplicación del inóculo con la ayuda de un compresor y aspersores a una presión de 1.4 kg/cm². Después de la inoculación las bolsas se sellaron y fueron dejadas en un cuarto de crecimiento por 4 días, bajo una humedad relativa del 100% y una temperatura de 28°C.

Evaluación de Síntomas

Se realizó a los 4 y 11 días, después de haber hecho la inoculación. Se uso una escala de 0 a 5 (0 = plantas sanas, 5 = plantas muertas).

RESULTADOS

Origen y obtención de los aislamientos

De la colección de 51 aislamientos de Rhizoctonia, 32 provinieron de los Llanos de Colombia; de estos 21 fueron obtenidos de Centrosema spp., 4 de suelo, 3 de semillas de Brachiaria dictyoneura, uno de cada una de las siguientes leguminosas, Desmodium ovalifolium, Pueraria phaseoloides, Stylosanthes macrocephala y uno de la gramínea Brachiaria decumbens. De Santander de Quilichao se lograron 3 aislamientos de S. macrocephala, de Palmira se aislaron 2 de C. brasilianum. De Macagual se consiguió un aislamiento de S. macrocephala. Es de anotar que ya se tenían 3 aislamientos de S. guianensis del Brasil; 5 del Perú, 4 de S. guianensis y uno de Aeschynomene paniculata y 5 aislamientos de frijol, suministrados por el programa de Patología de Frijol, CIAT. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Origen y número de núcleos por célula hifal de 51 aislamientos de Rhizoctonia spp.

Aislamiento	Origen	Nº de Nucleos
5211	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	8
5372	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	7
5369	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	9
5178	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	10
P-2/2	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	8
P-2/7	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	8
Acuario-2	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	7
Agronomía-4	Follaje <u>C. macrocarpum</u> . Llanos	8
Torre-5	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	7
P-1/2	Follaje. <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
Acuario-5	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
Yopare-1	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
Yopare-3	Follaje <u>Centrosema</u> sp. Llanos	2
P-1/6	Follaje <u>Centrosema</u> sp. Llanos	2
Alegría 3	Follaje <u>Centrosema</u> sp. Llanos	2
5247 B	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	8
5247 C	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
5247 D	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
5247E	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
5247 F	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
5247 G	Follaje <u>C. brasilianum</u> . Llanos	2
5913 A	Cuello-raices <u>C. brasilianum</u> . Palmira	2
5913 B	Cuello-raices <u>C. brasilianum</u> . Palmira	5
5234	Cuello-raices <u>C. brasilianum</u> . Macagual	2
10136	Follaje. <u>S. guianensis</u> . Pucallpa, Perú	6
1280	Follaje <u>S. guianensis</u> . Pucallpa, Perú	9
1283	Follaje <u>S. guianensis</u> . Paragominas, Brasil	10
1177	Follaje <u>S. guianensis</u> . Yurimaguas, Perú	9
5583	Follaje <u>S. guianensis</u> . Pucallpa, Perú	21
Café	Follaje <u>S. guianensis</u> . Brasil	7
Brasil	Follaje <u>S. guianensis</u> . Brasil	5
1643	Raices <u>S. macrocephala</u> . Quilichao	2
10433	Raices <u>S. macrocephala</u> . Quilichao	2
10435	Raices <u>S. macrocephala</u> . Quilichao	2
1281	Raices <u>S. macrocephala</u> . Llanos	2
350	Follaje <u>D. ovalifolium</u> . Llanos	8
Pueraria	Follaje <u>P. phaseoloides</u> . Llanos	8
Brachiaria	Follaje <u>B. decumbens</u> . Llanos	9
016	Semillas <u>B. dictyoneura</u> . Llanos	2
017	Semillas <u>B. dictyoneura</u> . Llanos	5
021	Semillas <u>B. dictyoneura</u> . Llanos	2
9665	Follaje <u>A. paniculata</u> . Pucallpa, Perú	7
5247 A	Suelo. Llanos	6
5173	Suelo. Llanos	6
P-1/suelo	Suelo. Llanos	2
P-1	Suelo. Llanos	6
5563	Raices. <u>P. vulgaris</u>	9
5564	Raices. <u>P. vulgaris</u>	6
Montería-2	Follaje. <u>P. vulgaris</u>	9
Consaca	Follaje. <u>P. vulgaris</u>	14
5565	Raices. <u>P. vulgaris</u>	7

a: es el promedio de 15 observaciones.

De follaje fueron obtenidos 34 de los 51 aislamientos, 10 se lograron de cuello-raíces, 4 de suelo y 3 de semillas. El método simple, el de pegar la muestra en la tapa de la caja petri, dio muy buenos resultados, aunque no se probó con todas las muestras. Las colonias crecieron fácil y rápidamente, lo que nos da seguridad para el empleo de este método en posteriores aislamientos.

Número de núcleos

De las hifas jóvenes de los 51 aislamientos, se determinaron 19 aislamientos binucleados y 31 multinucleados (Cuadro 1), o sea que dentro de esta colección, el 39% de los aislamientos son binucleados, con características muy similares a R. solani. De 24 aislamientos obtenidos de varias especies de Centrosema, que es la leguminosa mas afectada por el añublo foliar, se determinó que el 44% son aislamientos multinucleados y el 56% presenta células hifales binucleadas.

Características culturales

Rata de crecimiento:

A las 48 horas de incubación las colonias de los aislamientos crecidos sobre PDA fueron medidas. Se encontró mucha variación en la tasa de crecimiento, tanto de los multinucleados como de los binucleados (Cuadro 2). En promedio crecieron más los multinucleados, 6.17 cm, contra 5.8 cm de los binucleados. Hubo aislamientos dentro de los multinucleados que llenaron la caja en este tiempo (9.0 cm) como I 1280 e I 10136; también aquí se presentó el aislamiento más lento, I 9665 con 1.3 cm. En los binucleados el más alto promedio fue 7.7 cm en el aislamiento I 1281 y el más bajo,

Cuadro 2. Características culturales de aislamientos de *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia* sp. (binucleado) y *Rhizoctonia zeae* y algunos grupos de anastomosis.

Aislamiento	Crecimiento 48 h ^a	Color micelio 8 días ^b	Textura ^b	Micelio Aéreo ^b	Zonación ^c	Grupo de ^d Anastomosis
5565	2.30	Blanco	Lanosa	Muy poco	-	4
Brasil	5.90	Blanco	Algodonosa	Abundante	-	-
P-1	7.40	Blanco	Felposa	Muy poco	-	-
5372	6.25	Blanco mármol	Felposa	Muy poco	++ m	4
5247 A	7.20	Blanco rosado	Algodonosa	Abundante	-	-
017	7.0	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	-	-
016	5.30	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	++ m	-
021	6.50	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	++ m	-
Brachiaría	7.30	Blanco amarillen.	Algodonosa	Moderada	-	-
Acuario-2	4.0	Blanco amarillen.	Algodonosa	Moderada	-	-
Agronomía-4	3.60	Blanco amarillen.	Algodonosa	Moderada	-	-
P-2/2	3.60	Blanco amarillen.	Lanosa	Moderada	-	-
350	9.0	Blanco amarillen.	Lanosa	Abundante	-	-
Pueraria	8.50	Blanco amarillen.	Lanosa	Abundante	-	-
P-2/7	3.30	Blanco amarillen.	Lanosa	Moderada	-	-
Torre-5	4.0	Blanco amarillen.	Lanosa	Moderada	-	-
10435	7.0	Café pálido (sectorizado) ^e	Felposa	Muy poco	++ m	-
5173	5.50	Café pálido	Felposa	Muy poco	++ m	4
5913 A	6.70	Café pálido	Algodonosa	Abundante	++ m	-
5247 G	4.0	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	-	-
5211	5.50	Café pálido	Felposa	Muy poco	++ m	4
5563	7.90	Café pálido	Felposa	Escasa	++ m	-
5369	6.17	Café pálido	Felposa	Moderada	++ m	1
5564	6.70	Café pálido	Felposa	Moderada	++ m	-
9665	1.30	Café pálido	Algodonosa	Abundante	-	-
Yopare-1	5.60	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ m	-
Alegria-3	7.20	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ m	-
1281	7.70	Café muy pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ m	-
1643	5.30	Café muy pálido (sectorizado)	Felposa	Muy poco	++ m	-
5913 B	8.10	Café muy pálido	Felposa	Moderada	+ m	-
5178	5.90	Café muy pálido	Felposa	Abundante	+ m	2
10433	6.0	Café muy pálido	Algodonosa	Abundante	+ mE	-
P-1/2	3.80	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ m	-
5247 D	5.0	Café grisáceo (sectorizado)	Algodonosa	Muy poco	++ m	-
5247 B	8.10	Café grisáceo	Felposa	Muy poco	+ m	-
5247 E	5.50	Café grisáceo	Felposa	Muy poco	++ m	-
P-1/suelo	6.40	Café (sectoriz.)	Felposa	Muy poco	++ m	-
5247 C	4.0	Café (sectoriz.)	Algodonosa	Moderada	++ m	-
5234	5.0	Café (sectoriz.)	Algodonosa	Moderada	++ m	-
1282	5.30	Café	Felposa	Moderada	++ m	1
5247 F	5.0	Café	Algodonosa	Muy poco	++ m	-
P-1/6	6.80	Café (sectoriz.)	Algodonosa	Abundante	++ m	-
Acuario-5	6.60	Café (sectoriz.)	Algodonosa	Abundante	++ m	-
Yopare-3	6.90	Café (sectoriz.)	Algodonosa	Abundante	++ E	-
10136	9.0	Café oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	1
Montería	8.0	Café oscuro	Algodonosa	Moderada	-	-
Consaca	5.20	Café oscuro	Algodonosa	Moderada	++ m	-
5583	5.30	Café oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	1
Café	9.0	Café muy oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	-
1280	9.0	Café muy oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	-
1177	4.8	Café muy oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	1

a: medida sobre PDA, a 48 horas de incubación y en centímetros

b: promedio de 5 observaciones

c: marcada = ++; no muy marcada = +; por micelio = m; por esclerocios = E.

d: promedio de 10 observaciones.

e: sectorizado: la colonia presenta un color predominante, pero a la vez sectores más claros o más oscuros.

3.8 cm en P-1/2. Se observa sin embargo, que existe mucha similitud en el crecimiento de estas especies de Rhizoctonia.

Zonación

Solamente 16 aislamientos no presentaron zonación (Cuadro 2). En su mayoría fueron aislamientos multinucleados, 12 en total. Solo un aislamiento binucleado no la presentó, I 5247G. Los aislamientos de R. zeae tampoco la presentaron. En los 35 aislamientos en que se observó la zonación, se estableció que esta fue por cambios periódicos en el crecimiento del micelio aéreo en 29 aislamientos y fue por la agregación de pequeños esclerocios en 6 de ellos. Se estableció además, que en los binucleados siempre se presentó la zonación por micelio y siempre fue muy marcada.

Color del micelio

El color blanco y café muy pálido fueron los más observados a los 4 días de crecimiento de las colonias multinucleadas y binucleadas (Cuadro 2). A los 8 días tonalidades de blanco se observaron en 14 aislamientos multinucleados y 2 aislamientos binucleados (Cuadro 2). La mayoría de los aislamientos presentó colores que fueron del café muy pálido al café muy oscuro. Una característica de tener muy en cuenta es la de que los binucleados casi siempre la colonia tenía además del color predominante, sectores más claros o más oscuros.

Textura y micelio aéreo

La textura algodonosa o costrosa fue la más típica sin distinción de especie

en estos aislamientos, aunque se observó con una textura lanosa o costrosa, algunos aislamientos multinucleados. La textura costrosa fue más exhibida por los aislamientos provenientes de S. guianensis. La producción de micelio aéreo fue muy variable, se presentó de muy escasa a muy abundante tanto en los multinucleados como en los binucleados (Cuadro 2).

Esclerocios

No presentaron esclerocios a los 14 días de incubación 7 aislamiento, 5 multinucleados y 2 binucleados (Cuadro 3). Los esclerocios comunmente se presentaron en forma aislada y agregada en la colonia; en los multinucleados esta forma se dio en un 79% y en los binucleados en un 59%. Los esclerocios pequeños tuvieron un rango de tamaño entre 0.3 y 3.8 mm; los agregados estuvieron entre 2.64 y 13.26 mm. El color de los esclerocios varió entre el café pálido y el café muy oscuro. Entre los multinucleados, por sus características bastante diferentes y en especial la de los esclerocios, se determinaron 3 aislamientos de la especie Rhizoctonia zaeae; estos fueron I 5247 A, I P-1, aislados de suelo y I 017 aislado de semillas de B. dictyoneura. Los esclerocios de estos aislamientos son redondos, más bien pequeños, aislados y de un color rojo-claro que es su principal cualidad (Cuadro 3).

Grupos de anastomosis

De los 32 aislamientos de R. solani, solo se ha logrado hasta el momento agrupar 10 aislamientos bajo anastomosis (Cuadro 2). Cinco aislamientos han sido ubicados en el grupo 1 (I 1283, I 5583, I 1177, I 10136 aislados de

Cuadro 3. Producción y características de esclerocios de aislamientos de *Rhizoctonia* spp. de dos semanas de crecimiento en PDA y a 28°C.

Aislamiento	Número de esclerocios ^a	Forma ^b	Color ^a	Superficie ^c	Tamaño esclerocio ^d	Tamaño agregado ^d	Distribución ^a
5565	-	-	-	-	-	-	-
Brasil	-	-	-	-	-	-	-
P-1	Muchos	A	Rojo claro	I	0.70	-	Al azar
5372	Pocos	A	Claro	B	0.48	-	Al azar
5247 A	Muchos	A	Rojo claro	I	0.52	-	Al azar
017	Muchos	A	Rojo claro	I	1.22	-	Al azar
016	Pocos	A	Café	I	2.35	-	Al azar
021	Pocos	A	Café	B	0.30	-	En anillos
Brachiaria	Moderada	AA	Café	I	2.36	5.48	Al azar
Acuario-2	Moderada	AA	Café muy oscuro	BE	2.28	5.14	Al azar
Agronomía 4	Moderada	AA	Café muy oscuro	BE	1.52	6.10	Al azar
P-2/2	Moderada	AA	Café muy oscuro	BE	1.60	4.60	Al azar
350	Moderada	AA	Café oscuro	BE	1.94	6.10	Al azar
Pueraria	Moderada	AA	Café oscuro	BE	1.82	4.48	Al azar
P-2/7	Moderada	AA	Café muy oscuro	BE	1.76	6.0	Al azar
Torre. 5	Moderada	AA	Café muy oscuro	BE	2.10	5.6	Al azar
10435	Moderada	A	Café	B	0.3	-	Irregular
5173	-	-	-	-	-	-	-
5913 A	-	-	-	-	-	-	-
5247 G	Moderada	AA	Café oscuro	B	0.4	5.9	En anillos
5211	Pocos	AA	Café	BE	0.56	3.38	Irregular
5563	Pocos	A	Café oscuro	B	0.56	-	Al azar
5369	Moderado	A	Café claro	B	0.39	-	Al azar
5564	Muy pocos	A	Café	B	0.42	-	Al azar
9665	-	-	-	-	-	-	-
Yopare-1	Pocos	AA	Café	B	0.60	4.98	Irregular
Alegria-3	Pocos	AA	Café claro	B	1.76	4.3	Al azar
1281	Pocos	A	Café claro	B	0.4	-	En anillos
1643	Pocos	AA	Café oscuro	I	0.4	13.26	En anillos
5913 B	Moderada	AA	Café	B	1.8	10.34	Irregular
5178	-	-	-	-	-	-	-
10433	Moderada	AA	Café oscuro	B	0.90	5.67	En anillos
P-1/2	Pocos	AA	Café	B	0.61	4.2	Irregular
5247 D	Moderada	AA	Café	B	0.50	3.20	Irregular
5247 B	Pocos	A	Café oscuro	B	0.44	-	Al azar
5247 E	Moderada	AA	Café	I	0.48	2.64	Al borde
P-1/suelo	Moderada	AA	Café	B	0.46	-	En anillos
5247 C	Moderada	A	Café oscuro	I	0.60	-	En anillos
5234	Pocos	A	Café	I	0.40	-	Al borde
1283	Pocos	AA	Café muy pálido	B	3.80	13.24	Irregular
5247 F	-	-	-	-	-	-	-
P-1/6	Pocos	AA	Café	B	1.86	4.52	Al azar
Acuario 5	Muchos	AA	Café oscuro	I	0.48	3.18	Irregular
Yopare 3	Moderada	AA	Café oscuro	I	0.96	3.92	al borde
10136	Muchos	AA	Café oscuro	I	0.50	4.38	Al azar
Montería 2	Pocos	AA	Café pálido	B	3.20	10.55	Irregular
Consaca	Moderada	AA	Café pálido	B	2.0	9.0	En anillos
5583	Muchos	AA	Café muy oscuro	I	0.93	5.89	Al azar
Café	Muchos	AA	Café muy oscuro	I	0.44	2.80	Al azar
1280	Muchos	AA	Café muy oscuro	I	0.40	5.94	Al azar
1177	Muchos	AA	Café muy oscuro	I	0.39	5.30	Al azar

a: Promedio de 5 observaciones.

b: Esclerocios aislados = A; aislados y agregados = AA

c: Textura irregular = I; algodonosa = B; con exudado = E

d: Promedio de 20 medidas en mm.

S. guianensis y el I 5369 aislado de C. brasilianum). Cuatro en el grupo 4 (I 5372, I 5211 aislados de C. brasilianum; I 5173 aislado de suelo y I 5565 de frijol) y un solo aislamiento en el grupo 2 (I 5178, aislado de C. brasilianum).

Patogenicidad de los aislamientos

Los síntomas de la enfermedad fueron muy severos. A los 4 días de haber hecho la inoculación (Cuadro 4), todos los ecotipos de C. brasilianum fueron susceptibles tanto a los aislamientos multinucleados como a los binucleados. Los aislamientos multinucleados I 5564 y I Brachiaria fueron los más virulentos, 4.61 y 4.52 respectivamente, en promedio a los siete ecotipos. I 5369, presentó también alta patogenicidad (4.0), lo que no se dió en I 5178 (2.1) y I 5372 (0.59). Los aislamientos binucleados más virulentos fueron el I 5247 F (4.0) y el I 10435 (4.0); en I 5234 y en I 5247 C la patogenicidad fue de moderada a alta. El aislamiento I 5247G presentó baja virulencia. Debemos observar que, ante los aislamientos más patogénicos de cada grupo, ningún ecotipo estuvo sin infección.

DISCUSION

Al seguir la definición establecida por Parmeter (13), que dice que todo aislamiento multinucleado está dentro de la especie R. solani y tiene su estado perfecto en Thanatephorus cucumeris y de que todo binucleado está fuera de esta especie (Rhizoctonia sp.) y que su estado perfecto está dentro del género Ceratobasidium (13, 1); encontramos al someter esta colección a la tinción nuclear, un gran complejo de aislamientos multinucleados y binucleados que está causando graves daños por añublo foliar en la leguminosa forrajera tropical Centrosema spp. Hace cuatro años, se tenía como evidente

Cuadro 4. Patogenicidad de diferentes aislamientos de Rhizoctonia spp. y reacción de los diferentes ecotipos de Centrosema brasilianum.

Ecotipo de <u>C. brasilianum</u>	Aislamientos de <u>R. solani</u>					\bar{x}	Aislamientos de <u>Rhizoctonia</u> sp.					\bar{x}
	5564	Brachiaria	5369	5178	5372		5247F	10435	5234	5247C	5247G	
5671	4.50	4.50	4.0	1.33	0.33	2.93	4.0	4.0	2.83	4.0	1.0	3.16
5657	4.50	4.50	4.0	1.66	0.50	3.03	4.0	4.0	3.5	4.0	1.33	3.36
5234	4.50	4.50	4.0	2.16	0.16	3.06	4.0	4.0	4.0	3.83	1.66	3.49
5810	4.83	4.66	4.0	1.66	0.66	3.16	4.0	4.0	3.66	3.5	1.5	3.33
5514	4.50	4.50	4.0	1.66	0.33	2.99	4.0	3.83	3.33	3.5	1.5	3.23
5178	4.83	4.50	4.0	3.16	1.83	3.66	4.0	4.0	3.83	3.5	2.16	3.49
5365	4.66	4.50	4.0	3.0	0.33	3.29	4.0	4.0	3.5	1.5	1.66	2.93
\bar{x}	4.61	4.52	4.0	2.1	0.59		4.0	3.97	3.52	3.4	1.54	

Cuadro 4. Patogenicidad de diferentes aislamientos de Rhizoctonia spp. y reacción de los diferentes ecotipos de Centrosema brasilianum.

Ecotipo de <u>C. brasilianum</u>	Aislamientos de <u>R. solani</u>						Aislamientos de <u>Rhizoctonia</u> sp.					\bar{x}
	5564	Brachiaria	5369	5178	5372	\bar{x}	5247F	10435	5234	5247C	5247G	
5671	4.50	4.50	4.0	1.33	0.33	2.93	4.0	4.0	2.83	4.0	1.0	3.16
5657	4.50	4.50	4.0	1.66	0.50	3.03	4.0	4.0	3.5	4.0	1.33	3.36
5234	4.50	4.50	4.0	2.16	0.16	3.06	4.0	4.0	4.0	3.83	1.66	3.49
5810	4.83	4.66	4.0	1.66	0.66	3.16	4.0	4.0	3.66	3.5	1.5	3.33
5514	4.50	4.50	4.0	1.66	0.33	2.99	4.0	3.83	3.33	3.5	1.5	3.23
5178	4.83	4.50	4.0	3.16	1.83	3.66	4.0	4.0	3.83	3.5	2.16	3.49
5365	4.66	4.50	4.0	3.0	0.33	3.29	4.0	4.0	3.5	1.5	1.66	2.93
\bar{x}	4.61	4.52	4.0	2.1	0.59		4.0	3.97	3.52	3.4	1.54	

que R. solani era el gran causante de esta enfermedad y es que fue muy fácil haber llegado a creerlo así, ya que muchas de las características en cultivo de estos aislamientos binucleados le son muy similares. Esta situación se ha presentado igualmente en Florida, EE. UU., donde inicialmente se identificó al causante del añublo en plántulas de pino de hoja larga como R. solani, posteriormente se reportó a un hongo parecido a R. solani, Rhizoctonia sp. binucleado como el causante del problema (3).

La población de Rhizoctonia sp. es bastante alta y está afectando al género Centrosema más o casi igual que R. solani. Es de recordar que el 56% de los aislamientos obtenidos de Centrosema fueron binucleados y de que fueron el 39% dentro de la colección.

Por los sitios geográficos de origen de estos aislamientos binucleados (Llanos, Macagual, Palmira, Santander de Quilichao) podemos decir que este patógeno se encuentra ampliamente distribuido en Colombia. A nivel mundial se le ha reportado en Australia (16) causando pudrición de las raíces del trébol (Trifolium subterraneum); en Carolina del Norte, EE. UU. causando añublo foliar en pasto de grama (10); así como también en Florida, asociado con el añublo en plántulas de pino (3). Es de resaltar también que no solo está afectando al género Centrosema en Colombia, sino que también se le ha encontrado en la leguminosa forrajera tropical promisorio, Stylosanthes macrocephala.

En esta investigación, las características culturales de estos dos grupos

de aislamientos se confundieron y fue bastante difícil poder llegar a separarlos, en base a la morfología de sus estructuras y a la apariencia de estos hongos en cultivo in vitro. La rata de crecimiento fue muy variable dentro de cada grupo y en general se presenta muy similar entre ellos. Esta característica es muy importante, ya que nos da una idea de la virulencia que puedan tener los aislamientos, pues está muy relacionada con la rata de crecimiento activo del organismo (6). Tal vez una característica de los aislamientos binucleados diferente a los multinucleados y que fue constante, fue la presencia de sectores de diferente color, al predominante en la colonia. Se presentaron características que fueron muy propias de algunos aislamientos multinucleados, como la textura costrosa y la producción en otros de grandes esclerocios aislados; características que no fueron observadas en los binucleados.

Las características en cultivo artificial de los aislamientos de Rhizoctonia zaeae encontrados, fueron muy particulares y se puede llegar con ellas a diferenciar culturalmente a esta especie. Su rasgo más sobresaliente son los esclerocios rojizos, redondos, aislados y pequeños y el micelio de color blanco-rosado. Martín y Lucas (10), describen las características de las colonias de aislamientos de R. zaeae obtenidos de pasto de grama; el micelio como en nuestro caso presentó un color de rosado a naranja y los esclerocios pequeños, redondos y anaranjados. Es de vital importancia agrupar los aislamientos en base a los grupos de anastomosis; esta no fue posible en esta investigación debido a que no tenemos los probadores. Burpee et al (1), ha agrupado los aislamientos en siete grupos de anastomosis,

CAG (*Ceratobasidium anastomosis* groups). En el futuro se piensa obtener la identidad de las especies que conforman este grupo de aislamientos binucleados (*Rhizoctonia* sp.), que afectan las leguminosas forrajeras tropicales en Colombia. Burpee et al (1) ha encontrado, *R. ramicola*, *R. fragariae*, *R. muneratii*, *R. endophytica*, *R. pini-insignis* en los EE. UU. Con la prueba de patogenicidad, se pudo establecer, aunque con pocos aislamientos, la gran virulencia que tienen los aislamientos binucleados ante los multinucleados. Sumner (15) al trabajar con algunos aislamientos multinucleados y binucleados, en plantas de habichuela, frijol lima y caupi, concluyó que aunque la patogenicidad fue mayor en los multinucleados, esta no deja de ser de cuidado en los binucleados que afectaron en especial al caupi. Esta situación nos pone de manifiesto la importancia que tienen como patógenos de leguminosas forrajeras tropicales.

El complejo *Rhizoctonia* sp. y *R. solani*, en las plantas del género *Centrosema* es de gran cuidado, ya que se hace más difícil el control, porque se tiene que evaluar un número grande de aislamientos de los patógenos que varían en su virulencia, agresividad y posiblemente, también, en su habilidad diferencial para afectar ecotipos de *Centrosema* spp.

BIBLIOGRAFIA

1. Burpee, L., Sanders, P., Cole, H. and Sherwood, R.J. 1980. Anastomosis groups among isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi. *Mycologia* 72: 689-701.

2. Cedeño, L. 1978. Características culturales, condición nuclear y grupos de anastomosis en aislamientos de R. solani. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Venezuela, 28(2): 151-161.
3. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1978. Informe Anual. Cali, Colombia.
4. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1984. Informe Anual. Cali, Colombia.
5. English, J. T., Ploetz, R. C. and Barnard, E. L. 1986. Seedling blight of longleaf pine caused by a binucleate Rhizoctonia solani-like fungus. Plant Disease 70: 148-150.
6. Galindo, J. J. 1979. Morphological variability, virulence and anastomosis of R. solani Kuhn associated with bean roots and soils in New York. M.Sc. Thesis, Cornell University, Ithaca, N.Y.
7. Lenné, J. M. 1983. Métodos para el manejo de enfermedades de pastos tropicales en Sur América. Seminarios internos. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. SE-12-83.
8. Lenné, J. M., Vargas, A. y Torres, C. 1983. Descripción de las enfermedades de las principales leguminosas forrajeras tropicales. Guía de estudio. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Serie 04SP-03.03.
9. Machado, R. y Alfonso, A. 1981. Centrosema. Estación experimental de pastos y forrajes "Indio Hatuey". Perico, Matanzas, Cuba. Pastos y forrajes, 4: 249.
10. Martín, S. B. and Lucas, L. T. 1984. Characterization and pathogenicity of Rhizoctonia spp. and binucleate Rhizoctonia like fungi from turfgrasses in North Carolina. Phytopathology 74(2): 170-175.

11. McIlroy, R. J. 1973. Introducción al cultivo de los pastos tropicales. Editorial Limusa, México.
12. Olaya, G. 1985. Características de aislamientos de R. solani Kuhn y su importancia como patógeno de S. guianensis (Aubl) Sw. Tesis Ing. Agron. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira.
13. Parmeter, J. R., Whitney, H. S. and Platt, W. D. 1967. Affinities of some Rhizoctonia species that resemble mycelium of Thanatephorus cucumeris. Phytopathology 57: 218-223.
14. Parmeter, J. R., Sherwood, R. T. and Platt, W. D. 1969. Anastomosis grouping among isolates of Thanatephorus cucumeris. Phytopathology 59: 1270-1278.
15. Summer, D. R. 1985. Virulence of anastomosis groups of Rhizoctonia solani and Rhizoctonia-like fungi on selected germplasm of snap bean, Lima bean and cowpea. Plant Disease 69(1): 25-27.
16. Wong, D. H. and Sivasithamparam, K. 1985. Rhizoctonia spp. associated with roots of subterranean clover in Western Australia. Trans. Br. Mycol. Soc. 85(1): 21-27.