

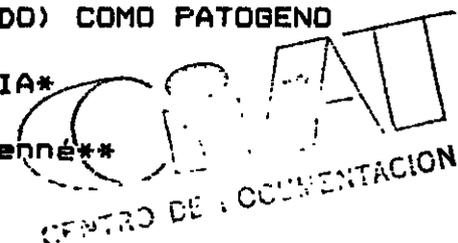
32168

COLECCION HISTORICA

IMPORTANCIA DEL HONGO Rhizoctonia sp. (BINUCLEADO) COMO PATOGENODE Centrosema spp. EN COLOMBIA\*

Gilberto Olaya H. y Jillian M. Lenné\*\*

## RESUMEN



El añublo foliar causado por Rhizoctonia spp. es la enfermedad más común y mas seria del género Centrosema, que comprende leguminosas forrajeras tropicales. De 25 aislamientos de Rhizoctonia tomados de hojas de este género se detectaron solamente 44% del multinucleado Rhizoctonia 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 tanto, un complejo de R. solani y R. sp. que causa añublo foliar en Centrosema spp. en Colombia. R. sp. también causa añublo foliar en otras leguminosas forrajeras en Colombia como Stylosanthes macrocephala. De una colección de 51 aislamientos de Rhizoctonia de diferentes leguminosas, 39% se han identificado como R. sp. En su mayoría los aislamientos se han obtenido de varios sitios en los Llanos Orientales de Colombia; también se han obtenido en Macagual (Caquetá), Santander de Quilichao (Cauca) y Palmira (Valle). Por consiguiente R. sp. está ampliamente distribuido en Colombia. En ensayos de patogenicidad en el invernadero se han registrado altos niveles de virulencia hasta 4.0 en una escala de 0 a 5 en los binucleados.

## SUMMARY

Foliar blight caused by Rhizoctonia spp. is the most common and serious disease of the genus of tropical forage legume Centrosema. Of a total of 25 isolates of Rhizoctonia taken from leaves of this genus, only 44% were detected pertaining to the multinucleate Rhizoctonia 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 R. sp. is presenting foliar blight of Centrosema spp. in Colombia. R. 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 R. sp. Most of the isolates have been obtained from various sites in the Eastern plains of Colombia, also from Macagual (Caqueta), Santander de Quilichao (Cauca) and Palmira (Valle). Therefore, R. sp. is widely distributed in Colombia. In pathogenicity trials in the glasshouse, high levels of virulence have been registered by the binucleate, up to 4.0 on a scale of 0 to 5.

\* Trabajo presentado en el VII Congreso de ASCOLFI. Paipa, Boyacá, Colombia, Junio 9-13, 1986.

\*\* Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT  
Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia.

## INTRODUCCION

Uno de los géneros forrajeros más importantes de los trópicos es Centrosema, una leguminosa de alto contenido proteínico, mayor del 20% (4), que supera al de especies conocidas del género Stylosanthes. Las especies de Centrosema son muy utilizadas debido a su amplia capacidad de adaptación (crecen bien en un amplio rango de suelos), sus rendimientos aceptables (sobre todo cuando se está asociada), su amplio margen de compatibilidad con especies de la familia de las gramíneas (9), y su competitividad frente a las malas hierbas (11).

El añublo foliar causado por R. spp. es la enfermedad más común y seria del género Centrosema (5). Inicialmente los síntomas son manchas acuosas que aumentan de tamaño, toman luego un color crema o marrón y forman al final manchas o parches de forma irregular que pueden afectar 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 por temperaturas que fluctúen de moderadas a altas. El inóculo primario está constituido por los esclerocios del patógeno que germinan rápidamente al comienzo de la época lluviosa (8). En los Llanos Orientales de Colombia, el ataque alcanza su mayor severidad durante los primeros meses lluviosos, luego su incidencia disminuye, y llega a niveles muy bajos en la estación seca. Las pérdidas de materia seca han estado 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 menor grado en C. macrocarpum, C. pubescens y Centrosema sp. (8). La enfermedad es causada por el patógeno en su estado imperfecto, lo que dificulta su identificación ya que R. solani posee características miceliales muy similares a las de otros hongos del suelo (2). La diferenciación ha sido posible mediante la tinción nuclear de células hifales y la inducción del estado perfecto (13). R. solani presenta hifas multinucleadas y tiene como estado perfecto a I. cucumeris. R. sp. posee dos núcleos por célula hifal y produce el estado de Ceratobasidium (13, 1). Durante los últimos 10 años se ha encontrado a R. sp. binucleado como un patógeno común, a veces en complejo con R. solani o a veces solo; en ambos casos causa enfermedad en muchos hospedantes. Esta investigación trata por tanto de clarificar un poco el problema del añublo foliar en los Llanos Orientales de Colombia. Por tal motivo se estudió un grupo de aislamientos para clasificarlos y compararlos y obtener así un mayor conocimiento de este patógeno, poco estudiado hasta el momento.

## MATERIALES Y METODOS

### Origen y obtención de los aislamientos

En la estación ICA-CIAT Carimagua, Llanos Orientales, Colombia se hizo la mayoría de los aislamientos. Se aisló el patógeno de partes aéreas de diferentes leguminosas forrajeras, también de sus raíces y

del suelo. En Santander de Quilichao, Cauca y en Macagual, Caquetá se lograron algunos aislamientos, en menor número. Para las partes aéreas de las plantas se practicó tanto el método tradicional de aislamiento (bicloruro de mercurio al 1 x 1000, alcohol de 70% y agua para la desinfestación de la muestra y su posterior siembra en PDA) y un nuevo método de aislamiento que consistió en pegar en la tapa de una caja petri que contenía el medio PDA, la muestra tomada con la ayuda de una cinta; al cabo de dos o tres días fue muy fácil purificar la colonia por el rápido crecimiento del hongo en ese 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 el suelo.

#### Tinción de núcleos en células hifales

Discos de inóculo de 1 cm de diámetro, se sacaron 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 1N. Los núcleos de las hifas en pleno crecimiento se tiñeron con una solución colorante de Giemsa (12).

#### Características culturales

Se registraron sembrando los hongos en el medio PDA. Se sembraron cinco cajas por cada aislamiento para determinar su tasa de crecimiento a las 48 horas, el color del micelio 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 a 28 C, en plena oscuridad y envueltas en papel de aluminio. La evaluación se hizo a las dos semanas (6, 12).

#### Grupos de anastomosis

Los aislamientos sometidos a esta prueba fueron todos los que resultaron ser R. solani porque solo se dispone hasta el momento de los hongos tipo 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, repartidos en forma lineal, cinco trozos de papel celofán de 1.0 x 0.5 cm. El micelio del aislamiento desconocido se coloca al lado izquierdo y el del aislamiento conocido al lado derecho. La distancia del papel celofán al medio estaba sujeta a la tasa de crecimiento de cada aislamiento. Cuando las colonias entraron en contacto con el papel celofán y mostraron una ligera superposición del micelio sobre el papel, este fue removido, colocado sobre un portaobjetos, y teñido inmediatamente 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 teniendo en cuenta ensayos anteriores. Los binucleados fueron I 5247C, I 5247F, I 5247G, e I 5234 aislados de Centrosema, y el I 10435 aislado de S. macrocephala. Los multinucleados fueron I 5369, I 5178, I 5372 aislados de Centrosema, I Brachiaria aislado de la gramínea B.

decumbens e I 5564 aislado de frijol. Las plantas probadas fueron los ecotipos de la leguminosa C. brasilianum CIAT 5671, 5657, 5234, 5810, 5514, 5178 y 5365. El ensayo se hizo bajo condiciones de invernadero (HR max. 96% y min. 40%, T max. 34 C y min 20 C). Se aplicó un diseño completamente al azar y se hicieron 3 repeticiones.

### Siembra

Las plantas se sembraron en bandejas de 54 x 27 x 6 cm 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 se hicieron germinar inicialmente en cajas Petri en papel filtro humedecido, habiéndose hecho con anterioridad una escarificación, que consistía en un pequeño corte hecho con un escalpelo en la semilla.

### Inoculación

El inóculo se preparó en forma de suspensión micelial con una concentración de 2 g 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 g; glucosa o dextrosa, 15 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.25 g y agua destilada, 1000 ml. La suspensión se preparó en una licuadora añadiendo trozos de hielo para evitar el recalentamiento de la ésta. Las bandejas con las plantas de tres semanas de edad se introdujeron en bolsas plásticas previamente humedecidas y se procedió a aplicar el inóculo con la ayuda de un compresor y de aspersores, a una presión de 1.4 kg/cm<sup>2</sup>. Después de la inoculación las bolsas se sellaron y se colocaron en un cuarto de crecimiento durante cuatro días, con 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 usó 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 Orientales de Colombia; de estos, 21 fueron obtenidos de Centrosema sp., 4 del suelo, 3 de semillas de B. dictyoneura y uno de cada una de las siguientes leguminosas: D. ovalifolium, P. phaseoloides, S. macrocephala y uno de la gramínea B. decumbens. En Santander de Quilichao se lograron 3 aislamientos de S. macrocephala y en Palmira 2 de C. brasilianum. De Macagual se consiguió un aislamiento de S. macrocephala. Anteriormente se habían obtenido 3 aislamientos de S. guianensis del Brasil, 5 del Perú (4 de S. guianensis y 1 de Aeschynomene paniculata) y 5 aislamientos de frijol suministrados por la sección de Patología del Programa de Frijol del CIAT (Cuadro 1).

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

Aislamiento No.	Origen	Procedencia	Nucleos <sup>a</sup> . No.
5211	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	8
5372	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	7
5369	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	9
5178	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	10
P-2/2	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	8
P-2/7	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	8
Acuario-2	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	7
Agronom-2	Follaje <u>C. macrocarpum</u>	Llanos O., Colombia	8
Torre-5	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	7
P-1/2	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
Acuario-5	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
Yopare-1	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
Yopare-3	Follaje <u>Centrosema</u> sp.	Llanos O., Colombia	2
P-1/6	Follaje <u>Centrosema</u> sp.	Llanos O., Colombia	2
Alegria 3	Follaje <u>Centrosema</u> sp.	Llanos O., Colombia	2
5247 B	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	8
5247 C	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
5247 D	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
5247 E	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
5247 F	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
5247 G	Follaje <u>C. brasilianum</u>	Llanos O., Colombia	2
5913 A	Cuello-raiz <u>C. brasilianum</u>	Palmira, Colombia	2
5913 B	Cuello-raiz <u>C. brasilianum</u>	Palmira, Colombia	5
5234	Cuello-raiz <u>C. brasilianum</u>	Macagual, Colombia	2
10136	Follaje <u>S. guianensis</u>	Pucallpa, Peru	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, Colombia	2
10433	Raices <u>S. macrocephala</u>	Quilichao, Colombia	2
10435	Raices <u>S. macrocephala</u>	Quilichao, Colombia	2
1281	Raices <u>S. macrocephala</u>	Llanos O., Colombia	2
350	Follaje <u>D. ovalifolium</u>	Llanos O., Colombia	8
Pueraria	Follaje <u>P. phaseoloides</u>	Llanos O., Colombia	8
Brachiaria	Follaje <u>B. decumbens</u>	Llanos O., Colombia	9
016	Semillas <u>B. dictyoneura</u>	Llanos O., Colombia	2
017	Semillas <u>B. dictyoneura</u>	Llanos O., Colombia	5
021	Semillas <u>B. dictyoneura</u>	Llanos O., Colombia	2
9665	Follaje <u>A. paniculata</u>	Pucallpa, Perú	7
5247 A	Suelo	Llanos O., Colombia	6
5173	Suelo	Llanos O., Colombia	6
P-1/suelo	Suelo	Llanos O., Colombia	2
P-1	Suelo	Llanos O., Colombia	6
5563	Raices <u>P. vulgaris</u>	Llanos O., Colombia	9

Tabla 1. (Continuación).

Aislamiento No.	Origen	Procedencia	Nucleos <sup>a</sup> . No.
5564	Raices <u>P. vulgaris</u>		6
Montería 2	Follaje <u>P. vulgaris</u>		9
Consacá	Follaje <u>P. vulgaris</u>		14
5565	Raices <u>P. vulgaris</u>		7

a. Es un promedio de 15 observaciones.

En el follaje se obtuvieron 34 de los 51 aislamientos, 10 en la zona cuello-raíz, 4 en el suelo y 3 en la semilla. El método simple 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 emplear este método en nuevos aislamientos.

#### Número de núcleos

En 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*. En 24 aislamientos obtenidos de varias especies de *Centrosema*, la leguminosa más afectada por el añublo foliar, se determinó que el 44% son multinucleados y el 56% presenta células hifales binucleadas.

#### Características culturales

##### Tasa de crecimiento

A las 48 horas de incubación se midieron las colonias de los aislamientos crecidos sobre PDA. Se encontró mucha variación en la tasa de crecimiento, tanto de los multinucleados como de los binucleados (Cuadro 2); en promedio, crecieron más aquellos, (6.17 cm) que estos (5.8 cm). Hubo aislamientos entre los multinucleados que llenaron la caja Petri en este tiempo (9.0 cm) como I 1280 e I 10136; también de los multinucleados fue el aislamiento más lento, I 9665, con 1.3 cm. En los binucleados el promedio más alto fue 7.7 cm en el aislamiento I 1281 y el más bajo 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 presentaron. En los 35 aislamientos en que se observó la zonación, se estableció que esta ocurrió por cambios periódicos en el crecimiento del micelio aéreo en 29 aislamientos y por la adición 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 en 2 aislamientos binucleados (Cuadro 2). La mayoría de los aislamientos presentó colores que variaron del café muy pálido al café muy oscuro. Una característica notable de los binucleados es que casi siempre la colonia tenía, además del color predominante, sectores más claros o más oscuros.

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

Aislamiento	Crecimiento 48 h <sup>b</sup>	Color micelio 8 días <sup>b</sup>	Textura <sup>b</sup>	Micelio Aéreo <sup>b</sup>	Zonación <sup>c</sup>	Grupo de Anastomosis
5564	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 oscuro	Felposa	Muy poco	++ a	4
5247	7.20	Blanco rosado	Algodonosa	Abundante	-	-
017	7.00	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	-	-
016	5.30	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	++ a	-
021	6.50	Blanco rosado	Felposa	Muy poco	++ a	-
Brachiaria	7.30	Blanco amarillento	Algodonosa	Moderada	-	-
Acuario-2	4.00	Blanco amarillento	Algodonosa	Moderada	-	-
Agronomía-4	3.60	Blanco amarillento	Algodonosa	Moderada	-	-
P-2/2	3.60	Blanco amarillento	Lanosa	Moderada	-	-
350	9.00	Blanco amarillento	Lanosa	Abundante	-	-
Pueraria	8.50	Blanco amarillento	Lanosa	Abundante	-	-
P-2/7	3.30	Blanco amarillento	Lanosa	Moderada	-	-
Torre 5	4.00	Blanco amarillento	Lanosa	Moderada	-	-
10435	7.00	Café pálido (sectorizado)*	Felposa	Muy poco	++ a	-
5173	5.50	Café pálido	Felposa	Muy poco	++ a	4
5913 A	6.70	Café pálido	Abundante		++ a	-
5247 B	4.00	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	-	-
5211	5.50	Café pálido	Felposa	Muy poco	++ a	4
5563	7.90	Café pálido	Felposa	Muy poco	++ a	-
5369	6.17	Café pálido	Felposa	Moderada	++ a	1
5564	6.70	Café pálido	Felposa	Moderada	++ a	-
9665	1.30	Café pálido	Algodonosa	Abundante	-	-
Yopare-1	5.60	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ a	-
Alegria-3	7.20	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ a	-
1281	7.70	Café muy pálido (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ a	-
1643	5.30	Café muy pálido (sectorizado)	Felposa	Muy poco	++ a	-
5913 B	8.10	Café muy pálido	Felposa	Moderada	+ a	-
5178	5.90	Café muy pálido	Felposa	Abundante	+ a	2
10433	6.00	Café muy pálido	Algodonosa	Abundante	+ a E	-
P-1/2	3.80	Café pálido (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ a	-
5247 D	5.00	Café grisáceo (sectorizado)	Algodonosa	Muy poco	++ a	-

Tabla 2. (Continuación).

Aislamiento	Crecimiento 48 h <sup>b</sup>	Color micelio 8 días <sup>b</sup>	Textura <sup>b</sup>	Micelio Aereo <sup>b</sup>	Zonación <sup>c</sup>	Grupo de Anastomosis
5247 B	8.10	Café grisáceo	Felposa	Muy poco	+ a	-
5247 E	5.50	Café grisáceo	Felposa	Muy poco	++ a	-
P-1/suelo	6.40	Café (sectorizado)	Felposa	Muy poco	++ a	-
5247	4.00	Café (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ a	-
5234	5.00	Café (sectorizado)	Algodonosa	Moderada	++ a	-
1283	5.30	Café	Felposa	Moderada	++ a	1
5247 F	5.00	Café	Algodonosa	Muy poco	++ a	-
P-1/6	6.80	Café (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ a	-
Acuario-5	6.60	Café (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ a	-
Yopare-3	6.90	Café (sectorizado)	Algodonosa	Abundante	++ E	-
10136	9.00	Café oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	1
Montería	8.00	Café oscuro	Algodonosa	Moderada	-	-
Consacá	5.20	Café oscuro	Algodonosa	Moderada	++ a	-
5583	5.30	Café oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	1
Café	9.00	Café muy oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	-
1280	9.00	Café muy oscuro	Costrosa	Muy poco	++ E	-
1177	4.80	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 = a, 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.

### Textura y micelio aéreo

La textura algodonosa o costrosa fue la más típica, sin distinción de especie en estos aislamientos, aunque se observó una textura lanosa o costrosa en algunos aislamientos multinucleados. La textura costrosa fue exhibida principalmente por los aislamientos provenientes de S. guianensis. La producción de micelio aéreo 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 aislamientos, de los cuales 5 eran multinucleados y 2 binucleados (Cuadro 3). Los esclerocios se presentaron comunmente en forma aislada y agregada en la colonia; en los multinucleados esta forma se dió 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, 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 las de sus esclerocios, se determinaron tres aislamientos de la especie R. zeae; estos fueron I 5247 A e I P-1, aislados de suelo e 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 S. guianensis; y el I 5369, aislado de C. brasilianum). Cuatro en el grupo 4 (I 5372 e I 5211, aislados de C. brasilianum; I 5173, aislado del suelo; e I 5565, de frijol). 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 cuatro 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 e I Brachiararia fueron los más virulentos (4.61 y 4.52) respectivamente, en promedio de los siete ecotipos. I 5369 presentó también alta patogenicidad (4.0), lo que no se dió en I 5178 (2.1) e 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 5247 G presentó baja virulencia. Debemos observar que ante los aislamientos más patogénicos de cada grupo, ningún ecotipo se libró de la infección.

### DISCUSION

Siguiendo la definición establecida por Parmeter (13): todo aislamiento multinucleado está dentro de la especie R. solani y tiene su estado perfecto en Thanatephorus cucumeris y todo

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

Aislamiento	Numero de esclerocios <sup>a</sup>	Forma <sup>b</sup>	Color <sup>a</sup>	Superficie <sup>c</sup>	Tamaño del esclerocio <sup>d</sup>	Tamaño del agregado <sup>d</sup>	Distribución <sup>e</sup>
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	Moderado	AA	Café	I	2.36	5.48	Al azar
Acuario-2	Moderado	AA	Café muy oscuro	BE	2.28	5.14	Al azar
Agronomía 4	Moderado	AA	Café muy oscuro	BE	1.52	6.10	Al azar
P-2/2	Moderado	AA	Café muy oscuro	BE	1.60	4.60	Al azar
350	Moderado	AA	Café oscuro	BE	1.94	6.10	Al azar
Pueraria	Moderado	AA	Café oscuro	BE	1.82	4.48	Al azar
P-2/7	Moderado	AA	Café muy oscuro	BE	1.76	6.00	Al azar
Torre 5	Moderado	AA	Café muy oscuro	BE	2.10	5.60	Al azar
10435	Moderado	A	Café	B	0.3	-	Irregular
5173	-	-	-	-	-	-	-
5913 A	-	-	-	-	-	-	-
5247 B	Moderado	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
Alegría-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 claro	I	0.4	13.26	En anillos
5913 B	Moderado	AA	Café	B	1.8	10.34	Irregular
5178	-	-	-	-	-	-	-
10433	Moderado	AA	Café oscuro	B	0.90	5.67	En anillos
P-1/2	Pocos	AA	Café	B	0.61	4.2	Irregular
5247 D	Moderado	AA	Café	B	0.50	3.20	Irregular
5247 B	Pocos	A	Café oscuro	B	0.44	-	Al azar
5247 E	Moderado	AA	Café	I	0.48	2.64	Al borde
P-1/suelo	Moderado	AA	Café	B	0.46	-	En anillos
5247 C	Moderado	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	Moderado	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

Tabla 3. (Continuación).

Aislamiento	Número de esclerocios <sup>a</sup>	Forma <sup>b</sup>	Color <sup>c</sup>	Superficie <sup>c</sup>	Tamaño del esclerocio <sup>d</sup>	Tamaño del agregado <sup>d</sup>	Distribución <sup>d</sup>
Consacá	Moderado	AA	Café pálido	B	2.00	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.

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

Ecotipo de <i>C. brasilianum</i>	Aislamientos de <i>R. solani</i>						Aislamientos de <i>Rhizoctonia</i> sp.					
	3564	<i>Brachiaria</i>	5369	517B	5372	x	5247F	10435	5234	5247C	5247B	x
5671	4.50 <sup>a-b</sup>	4.50	4.0	1.33	0.33	2.93	4.0	4.00	2.83	4.0	1.0	3.16
5657	4.50	4.50	4.0	1.66	0.50	3.03	4.0	4.00	3.5	4.0	1.33	3.36
5234	4.50	4.50	4.0	2.16	0.16	3.06	4.0	4.00	4.00	3.83	1.66	3.49
5810	4.83	4.66	4.0	1.66	0.66	3.16	4.0	4.00	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
517B	4.83	4.50	4.0	3.16	1.83	3.66	4.0	4.00	3.83	3.5	2.16	3.49
5365	4.66	4.50	4.0	3.00	0.33	3.29	4.0	4.00	3.5	1.5	1.66	2.93
x	4.61	4.52	4.0	2.10	0.59		4.0	3.97	3.52	3.4	1.54	

a. Escala de 0-5 (0 = plantas sanas, 5 plantas muertas).

b. Datos promedio de 3 repeticiones.

binucleado está fuera de esa especie (Rhizoctonia sp.) y 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 consideraba evidente que R. solani era el gran causante de esta enfermedad y fue muy fácil creerlo así, ya que muchas de las características en cultivo de estos aislamientos binucleados son muy similares a R. solani. Esta situación se ha presentado igualmente en Florida, EE. UU., donde inicialmente se identificó el causante del añublo en plántulas de pino de hoja larga como R. solani y posteriormente se informó de 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 en igual medida, que R. solani. Conviene recordar que el 56% de los aislamientos obtenidos de Centrosema fueron binucleados y que representaban el 39% dentro de la colección.

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

En esta investigación, las características culturales de estos dos grupos de aislamientos se confundieron y fue bastante difícil separarlos, según la morfología de sus estructuras y la apariencia de estos hongos en un cultivo in vitro. La tasa de crecimiento fue muy variable dentro de cada grupo y, en general, es muy similar entre ellos. Esta característica es muy importante, ya que nos da una idea de la virulencia que pueden tener los aislamientos, pues está muy relacionada con la tasa de crecimiento activo del organismo (6). Tal vez una característica de los aislamientos binucleados que los diferencia de los multinucleados y que resultó constante, fue la presencia de sectores de un color diferente al predominante en la colonia. Se presentaron características muy propias de algunos aislamientos multinucleados, como la textura costrosa o la producción de grandes esclerocios aislados; estas características no fueron observadas en los binucleados.

Las características, en cultivo artificial, de los aislamientos de Rhizoctonia encontrados, fueron muy particulares y se puede llegar con ellas a diferenciar culturalmente esta especie. Su rasgo más sobresaliente son los esclerocios rojizos, redondos, aislados y pequeños y el micelio de color blanco rosado. Martin y Lucas (10)

describen las características de las colonias de aislamientos de R. zae obtenidos del pasto de grama; el micelio, como en este trabajo, presentó un color de rosado a naranja y los esclerocios eran pequeños, redondos y anaranjados. Es de vital importancia agrupar los aislamientos según los grupos de anastomosis; ésto no fue posible en esta investigación porque no se dispone en el laboratorio de hongos prototipos.

Burpee et al. (1) han agrupado los aislamientos en siete grupos de anastomosis, CAG (Ceratobasidium Anastomosis Groups). Próximamente 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) han encontrado R. ramicola, R. fragariae, R. muneratii, R. endophytica y R. pini-insignis en los Estados Unidos. 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) trabajó con algunos aislamientos multinucleados y binucleados en plantas de habichuela, frijol lima, y caupí, y concluyó que aunque la patogenicidad fue mayor en los multinucleados, no deja de ser de cuidado en los binucleados; estas afectaron en especial al caupí. Esta situación pone de manifiesto la importancia que esos aislamientos tienen como patógenos de las leguminosas forrajeras tropicales.

El complejo Rhizoctonia sp. y R. solani es de gran riesgo para las plantas del género Centrosema, ya que es mas difícil su control porque debe evaluarse un número grande de aislamientos de patógenos que varían en 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). 1979. Informe Anual 1980. Cali, Colombia.
4. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1984. Informe CIAT 1984. Cali, Colombia. 96p.
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 soil in New York. Cornell University, Ithaca, N.Y. M.Sc. Thesis.
7. Lenné, J. M. 1983. Métodos para el manejo de enfermedades de pastos tropicales en América del Sur. Seminario Interno. CIAT, Cali, Colombia. 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. CIAT, Cali, Colombia. Serie 04SP-03.03.
9. Machado, R. y Alfonso, A. 1981. Centrosema. Estación experimental de pastos y forrajes Indio Hatue, Perico, Matanzas, Cuba. Pastos y Forrajes 4:249.
10. Martin, 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. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. Tesis Ing. Agron.
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 root rots of subterranean clover in Western Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85(1):21-27.