

CARACTERISTICAS DE AISLAMIENTOS DE *Rhizoctonia solani* Huhn
Y SU IMPORTANCIA COMO PATOGENOS DE *Stylosanthes guianensis*
(Aubl.) Sw.

Gilberto Olaya H.*
Jilliam M. Lenne.**

COMPENDIO

Se encontró considerable variación en el crecimiento, color, zonificación, esclerocios, textura del micelio y en la virulencia de siete aislamientos de *R. solani*. Como seis aislamientos fueron multinucleados y uno binucleado, se demostró que es indispensable determinar ésta característica en ensayos con *R. solani*. Los aislamientos se ubicaron en los grupos de anastomosis AG-1, AG-2, AG-4; pero en los ensayos con electroforesis de isoenzimas los modelos de bandas para los aislamientos probadores de los AG y los probados en éste estudio fueron diferentes, lo que llevó a cuestionar la importancia de los AG. Los ecotipos de *Centrosema* spp y *P. phaseoloides* fueron más afectados que los de *S. guianensis*, *D. ovalifolium* y *S. capitata*. La reacción al daño de *R. solani* fue diferencial en los ecotipos CIAT 1283 (tardío) y 184 (común) y tuvo mucha relación con la edad; en general, la enfermedad se incrementó con la edad en el ecotipo tardío y disminuyó con ésta o fue independiente en el ecotipo común; el ecotipo más afectado fue el tardío; las pérdidas de forraje no fueron considerables, pero el efecto en la digestibilidad fue notorio; la capacidad de rebrote fue buena en 184. Se observó un estímulo en el crecimiento de las plantas de *S. guianensis* y *D. ovalifolium*.

ABSTRACT

Considerable variation was found in the growth, color, zonation, sclerotia, mycelial texture and virulence of seven isolates of *R. solani*. Six multinuclease and one binuclease isolates were determined, demonstrating that it is indispensable to determine this characteristic in trials with this pathogen. The isolates were placed in three anastomosis group AG-1, AG-2 and AG-4; but with electrophoresis of isoenzymes it was found that the band models were different for the known rest AG isolates and those isolates proven in this study, which questions the importance of anastomosis groups. Ecotypes of *Centrosema* spp. and *P. phaseoloides* were more affected than those of *S. guianensis*, *D. ovalifolium* and *S. capitata*. The reaction on damage by *R. solani* was differential for ecotypes CIAT 1283 (tardío) and 184 (common) and was related to age. In general, the disease increased with age in the tardio and decreased or was independent of age in the common; the tardio was more affected; forage losses were not considerable but the effect on the digestibility was noted; the regrowth capacity was good in the common. A stimulus in the growth of plants of *S. guianensis* and *D. ovalifolium* was observed.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. A. A. 6713, Cali, Colombia.

1. INTRODUCCION

Las leguminosas son componentes importantes en las praderas tropicales, el ganado las consume preferiblemente en el verano, mejorando la calidad de la dieta y reduciendo las pérdidas de peso que son normales en ésta época si se alimenta con gramíneas solas (ICA, 11). El género *Stylosanthes* contiene algunas especies de importancia forrajera que podrían utilizarse para mejorar la producción ganadera del trópico, por su alto rendimiento en verde por corte, su alto valor proteínico, buen crecimiento en suelos relativamente pobres, tolerancia a la acidez, resistencia a la sequía y fácil propagación y mantenimiento por su incorporación de nitrógeno al suelo debido a su simbiosis con *Rhizobium* spp (CIAT, 5; Hutton, 10).

Stylosanthes guianensis, es una leguminosa promisoría, especialmente las del grupo "tardío"; algunas de ellas tienen muy buena resistencia a la antracnosis producida por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, la enfermedad más importante del género *Stylosanthes*. Sin embargo, en sitios de los ecosistemas de bosque lluvioso tropical y bosque semi-siempreverde (Cochrane, 6), el añublo foliar causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn produce pudrición de las hojas y terminales de los tallos, especialmente en las épocas más lluviosas y en los ecotipos tardíos (Lenné et al, 13).

R. solani está dentro de los hongos que en cultivo no producen un estado conidial sexual ó asexual, formas que con frecuencia se clasifican como *Mycelia Sterilia* (Barron, 1), es más común en su estado imperfecto y posee características similares a otros hongos del suelo (Cedeño, 4). La diferenciación se ha establecido mediante la tinción nuclear de las células hifales e inducción del estado perfecto. Los aislamientos clasificados como *R. solani* se pueden dividir en dos grupos, uno con células hifales multinucleadas que desarrollan el estado perfecto de *Thanatephorus cucumeris* y otro con dos núcleos por célula que producen el estado perfecto de *Ceratobasidium* (Parmeter, 16). En la naturaleza *R. solani* comprende muchas razas que difieren en morfología, fisiología y patogenicidad; éstas se pueden cultivar y correlacionar con la actividad patogénica, el habitat de origen, el hospedante y con los grupos de anastomosis que se consideran como un criterio seguro para la clasificación de los aislamientos (Galindo, 8; Sherwood, 20).

El trabajo tiene como objetivos identificar siete aislamientos de *R. solani*, comparar su patogenicidad sobre leguminosas forrajeras promisorias y determinar el efecto de la edad de ecotipos de *Stylosanthes guianensis* sobre el ataque de *R. solani*.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En el ensayo, realizado en el Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, se utilizaron ecotipos de *Stylosanthes guianensis* (tres comunes y tres tardíos), *Centrosema* spp. (siete) *Pueraria phaseoloides* (uno) *Desmodium ovalifolium* (uno) y *S. capitata* (uno). Los aislamientos de *Rhizoctonia solani* fueron el I-1283 (Brasil) I-1177 e I-5583 (Perú) provenientes de *S. guianensis*; se utilizaron además tres aislamientos de *C. brasilianum* (5178, 5247 y 5369) y uno obtenido de hipocotilos de fríjol (I-5565).

2.1. Determinación del número de núcleos.

Se cultivaron los aislamientos de *R. solani* en una delgada capa de agar-aga a 2 o/o y se cortaron discos de 1 cm de diámetro de las márgenes más jóvenes de la colonia, los núcleos en las células hifales se tiñeron con una solución colorante de Giemsa, tras haber seguido la metodología de Herr (9) y del Commonwealth Mycological Institute (7).

2.2. Características culturales.

Discos de 5 mm de diámetro de las zonas más jóvenes de la colonia se sembraron en PDA y se incubaron a 28°C. Se sembraron cinco cajas por aislamiento para determinar la tasa de crecimiento (cm) a las 24 y 48 horas; el color del micelio a los 4 y 8 días (Mounsell, 15); la textura y la producción de micelio aéreo a los 8 días y la presencia y la descripción de los esclerocios a los 14 días. Para caracterizar la zonificación cinco cajas se sembraron y mantuvieron en plena oscuridad a 28°C, la evaluación se hizo a las dos semanas (Galindo, 8).

2.3. Identificación de los grupos de anastomosis.

Para determinar los grupos de anastomosis se utilizaron cinco aislamientos probadores, suministrados por el Dr. E. E. Butler de la Universidad de California, Davis, Estados Unidos, y se siguió la metodología de Parmeter, Sherwood y Platt (17).

2.4. Determinación de los grupos de anastomosis por electroforesis de isoenzimas.

Los estudios de electroforesis de isoenzimas se realizaron con la colaboración de la Dra. Helen Stace, SCIRO división of Tropical Crops and Pastures, Queensland, Australia. Para extraer las isoenzimas se molió el micelio en presencia de arena de cuarzo y un buffer de extracción (Lenné, 12). La electroforesis se condujo sobre gel de almidón de 13 o/o de concentra-

ción, utilizando un buffer de corrida y una corriente de 50 mA por 4 horas y 30 minutos (Ramirez, 19); luego el gel se cortó en cuatro franjas, c a d a una de las cuales se tiñó para una determinada enzima.

2.5. Patogenicidad de los aislamientos de R. solani sobre leguminosas forrajeras promisorias.

El ensayo se llevó a cabo en un invernadero (la temperatura osciló entre 20 y 34°C y la humedad relativa entre 40 a 96 o/o), utilizando un diseño completamente al azar; las leguminosas se dividieron en dos grupos de ocho, teniendo en cuenta la rapidez ó lentitud de su crecimiento, sembrando los ecotipos de Stylosanthes y el de Desmodium dos semanas antes que los de Centrosema y el de Pueraria. Se utilizaron bandejas (54 x 27 x 6 cm) c o n suelo de Santander de Quilichao y arena (3: 1), y 10 plantas por leguminosa y por familia. Los tratamientos fueron siete inoculaciones con aislamientos de R. solani y uno con agua destilada estéril; el número de repeticiones fue de tres. El inóculo se preparó raspando el micelio de 4 días de edad de cinco cajas por cada aislamiento (Castaño, 3). La suspensión se homogenizó y se completó a 25 ml. La inoculación se hizo cuando las plantas de crecimiento lento tuvieron cinco semanas a una presión de 1.4 kg/cm². Las bandejas se mantuvieron en el cuarto de crecimiento (28°C y H.R. 100 o/o) durante cuatro días. La evaluación se realizó a los 8, 11 y 12 días utilizando una escala de 0 (plantas sanas) a 5 (plantas muertas). Al observar que las plantas inoculadas eran más altas que el testigo, se midieron 20 plantas al azar por cada ecotipo y por cada tratamiento.

2.6. Influencia de la edad de Stylosanthes guianensis sobre el daño por Rhizoctonia.

Dos de los aislamientos más patogénicos (I-1283 e I-5583) se inocularon sobre los ecotipos más susceptibles (S. guianensis CIAT 184 común y 1283 tardío) a las 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 y 32 semanas. El ensayo incluyó además una aplicación con agua estéril (testigo), se hizo con tres repeticiones y se sembraron 30 cajas por cada aislamiento. El diseño de los tratamientos fue un factorial de 8 x 3 x 2 (ocho edades de planta, tres inóculos y dos ecotipos) y los tratamientos se asignaron a las unidades experimentales completamente al azar; la evaluación se realizó a los 8 y 11 días.

Las plantas se cortaron a la mitad de ésta altura para evaluar el peso seco, la digestibilidad y el contenido de nitrógeno, como indicadores del efecto del patógeno en la producción y calidad de la pastura. La capacidad de rebrote se evaluó en la parte restante de las plantas, cortando a las cuatro semanas y a la misma altura del primer corte las ramas y hojas nuevas.

Para determinar la presencia de algún efecto estimulante del patógeno en el crecimiento de las plantas, se comparó la ganancia de altura con la de las plantas testigos.

Se estimó un índice de defoliación ($A \times B/C$) considerando el número de folíolos que fueron cayendo por efecto de la enfermedad (A), el peso de 100 folíolos (B) y el peso seco de la parte superior de la planta (C).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Número de núcleos.

Se hallaron seis aislamientos multinucleados y uno binucleado; el número de núcleos por célula en los aislamientos multinucleados varió de 7 a 21 (Cuadro 1). La presencia del aislamiento binucleado (I-5247) enfatiza en lo indispensable de la determinación del número de núcleos al iniciar ensayos con hongos como *R. solani*, pues de recordar que todo aislamiento binucleado se considera como una especie de *Ceratobasidium* (Parmeter, Whitney y Platt, 16).

3.2. Características culturales.

Se presentaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento de los aislamientos el más rápido fue I-5369 (6.17 cm) y el más lento el proveniente de frijol (2.32 cm). Los aislamientos de *C. brasilianum* exhibieron mayor tasa que los *S. guianensis* (Cuadro 1). La virulencia se puede explicar por la tasa de crecimiento, ya que está correlacionada con esta característica (Galindo, 8).

El aislamiento I-5565 no presentó zonificación (Cuadro 1). Las zonas fueron el producto de cambios periódicos en el crecimiento del micelio aéreo (I-1283, I-5369, I-5178 e I-5247) ó por la agregación de pequeños esclerocios (I-1177 e I-5583).

A los cuatro días de incubación, el color del micelio de los aislamientos fue del blanco al café muy pálido. A los ocho días, I-5565 siguió exhibiendo color blanco, mientras que los demás presentaron tonalidades de café, que fueron desde el muy claro al muy oscuro (Cuadro 1).

Los aislamientos 1177 y 5583 presentaron muy poco micelio, de textura costrosa por la producción temprana de esclerocios. La producción fue de moderada a alta en I-1283, I-5369 e I-5247; felposo en los dos primeros y algodonoso en el último. Abundante y felpudo micelio se observó en I-5178 y casi nulo en I-5565 (Cuadro 1).

Características culturales y virulencia de siete aislamientos de *R. solani*

Característica	Aislamientos						
	<i>S. guianensis</i>		<i>C. brasilianum</i>		Frijol		
	1283	1177	5583	5247	5369	5178	5565
Número de núcleos por célula hifal ^a	10	9	21	2	9	10	7
Tasa de crecimiento cm/24 horas ^b	5.31	4.79	5.25	3.96	6.17	5.90	2.32
Zonificación ^b	X ^c	X ^d	X ^d	X ^c	X ^c	X ^c	...
Color del micelio 4 días ^b	café pálido	blanco	blanco	blanco	blanco	blanco	blanco
Color del micelio 8 días ^b	café	café muy oscuro	café oscuro	café (sectorizado)	café pálido	café muy pálido	blanco
Textura del micelio ^b	felposa	costrosa	costrosa	algodonosa	felposa	felposa	lanosa
Presencia de micelio aéreo ^b	moderado	muy poco	muy poco	moderado	moderado	abundante	muy poco
Esclerocios ^b	X ^e	X ^f	X ^f	X ^g	X ^g
Grupo de anastomosis ^h	AG-1	AG-1	AG-1	...	AG-1	AG-2	AG-4
Virulencia ⁱ	2.24	2.49	2.36	1.86	2.62	1.45	1.37

a: promedio de 15 observaciones

b: promedio de 5 observaciones

c: por micelio

d: por agregación de pequeños esclerocios

e: pocos, aislados, agregados y de gran tamaño

f: muchos, aislados, agregados y de poco tamaño

g: aislados y pequeños

h: promedio de 10 observaciones

i: promedio de la reacción de 16 ecotipos de leguminosas forrajeras tropicales

En los aislamientos 1177 y 5583 se observaron muchos esclerocios de poco tamaño y formando agregados regularmente de gran tamaño, de color café muy oscuro y con una superficie muy irregular. La producción fue moderada en I-1283 e I-5369, el primero presentó los esclerocios aislados (0.38 cm) y agregados (1.32 cm) más grandes. El aislamiento binucleado presentó esclerocios pequeños, aislados y café-oscuros. Los esclerocios juegan papel importante en la supervivencia y diseminación de **R. solani**, ante la no producción de esporas de éste patógeno.

3.3. Grupos de anastomosis.

Cuatro aislamientos pertenecieron al AG-1 (5583, 1177, 1283, 5369), uno al AG-2 (I-5178) y uno al AG-4 (I-5565) (Cuadro 1). Las reacciones de anastomosis fueron: fusión perfecta, que involucra mezcla citoplasmática, en 1177 y 5369; fusión imperfecta, donde no hay mezcla citoplasmática pero sí disolución de pared, en los aislamientos 1283 y 5583, y fusión por contacto en 5178 y 5565 (Parmeter, Sherwood y Platt, 17). El aislamiento binucleado no se sometió a prueba ya que existen grupos de anastomosis especiales para los aislamientos de **R. solani** con ésta condición (Burpee *et al.*, 2).

La variación de las características culturales entre los aislamientos de cada grupo fue considerable. La variación en patogenicidad no fue muy grande dentro del AG-1 pero sí lo fue entre los grupos. Se encontró correlación entre los AG y el origen ecológico de los aislamientos, los del AG-1 fueron aislados de follaje y el del AG-4 de hipocotilos y raíces (Parmeter y Whitney, 18).

Al igual que Cedeño (4), los autores consideran que la agrupación por anastomosis es más confiable que por características culturales, al no correr el riesgo de la superposición de caracteres.

3.4. Determinación de los grupos de anastomosis por electroforesis de isoenzimas.

De 16 isoenzimas ensayadas en cuatro sistemas, tres se presentaron como las más efectivas por su alta resolución de bandas (Fig. 1). En el sistema trisitrato EDTA se detectaron bien las bandas de malato deshidrogenasa (MDH) y en el sistema histidina-HCl las de malato deshidrogenasa y fosfatasa ácida (ACP).

3.4.1. Malato deshidrogenasa (MDH). Sistema histidina-HCl.

Se detectaron seis tipos de bandas caracterizadas por una posición de fi-

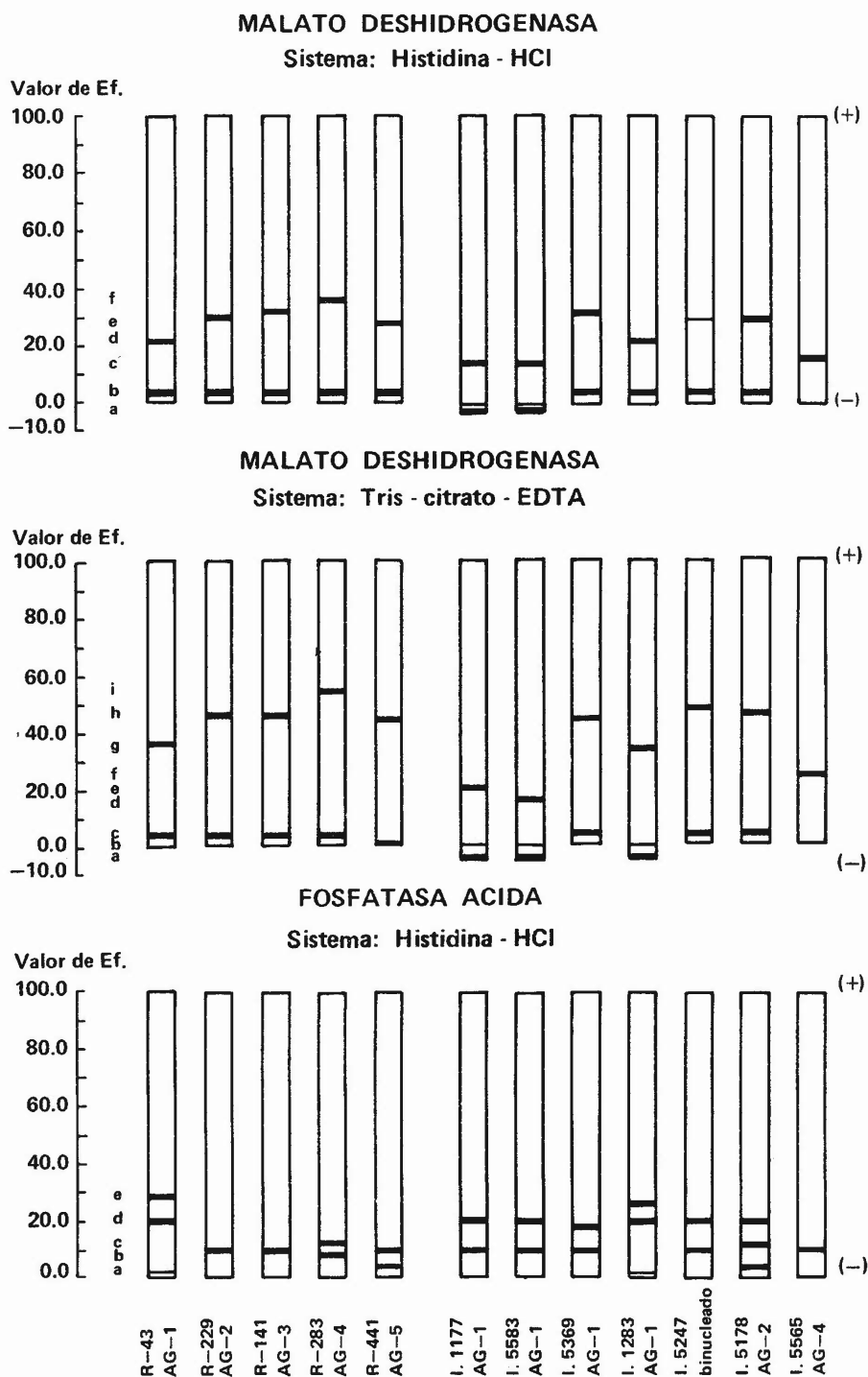


Fig. 1. Patrones isoenzimáticos de aislamientos de *R. solani* con grupo de anastomosis definido.

nida dentro del gel, en los 12 aislamientos de **R. solani**. La intensidad de las bandas fue muy alta y similar en todas, exceptuando la banda de posición (e) (Ef 30) del aislamiento binucleado. La banda de posición (a) (Ef 2) estuvo presente en los aislamientos del AG-1, 1177 y 5583, provenientes respectivamente de **S. guianensis** común de Pucallpa y Yurimaguas, Perú. La banda de posición (b) (Ef 4) fue común a casi todos los aislamientos, se presentó en los probadores de los grupos de anastomosis y en los probados I-5369, I-5178, e I-5247 (binucleado) obtenidos de **C. brasilianum** de Colombia y en I-1283 de **S. guianensis** común del Brasil. La banda (c) (Ef 14 y 16) se observó en I-5583, en I-1177 y en el aislamiento de fríjol I-5565 de Colombia. La banda (d) (Ef 22) ocurrió en R-43 y en I-1283. Estos aislamientos concuerdan con el grupo de anastomosis, ya que la banda de posición (b) fue común también a ellos. La banda (e) (Ef 28, 30 y 32) hace ver similitud entre R-229 e I-5178, pertenecientes al AG-2, al observarlos en conjunto con la banda (b), pero también se hacen iguales el I-5247, que es un aislamiento binucleado y por tanto no es **R. solani**, el I-5369 del AG-1, el R-141 patrón del AG-3 y R-441 que es AG-5. La banda de posición (f) (Ef 36) sólo se observó en R-283 del AG-4. La poca similitud de bandas entre los aislamientos probadores y los probados, con la excepción de I-1177 e I-5583, y R-43 e I-1283, hace pensar que el hospedante y el sitio de origen tienen efectos, en adición a los grupos de anastomosis.

3.4.2. Malato deshidrogenasa (MDH). Sistema tris-citrato-EDTA.

En el sistema tris-citrato-EDTA se encontraron nueve tipos de bandas. Las bandas de los aislamientos del AG-1 (1177, 5583, 1283 y 5369), no fueron similares con las del aislamiento patrón R-43; solamente la banda de posición (a) (Ef 4) fue común a todos los aislamientos de **S. guianensis**. En AG-2 (R-229 e I-5178) se detectó similitud, pero otra vez I-5247 (binucleado) y R-141 (AG-3) se hicieron iguales. Las bandas de los aislamientos del AG-4 (R-283 y 5565) fueron diferentes presentando una sólo el I-5565.

3.4.3. Fosfatasa acida (ACP). Sistema histidina-HCl.

La banda de posición (a) (Ef 2 y 4) en los aislamientos 1283 y R-43 fue muy tenue en comparación con las cuatro bandas de posición restantes. En AG-1 hubo similitud en las bandas de I-1177 e I-5583 de **S. guianensis** común y un poco menos con I-5369 de **C. brasilianum**, pero difirieron mucho de las bandas del patrón R-43 (tres), que coincidió con el I-1283 de **S. guianensis** tardío. Surge aquí la posibilidad de que existan dos grupos dentro del AG-1, pues no se encuentra ninguna relación entre éstos aislamientos fuera de que I-1177 e I-5583 son de un mismo hospedante e I-5369 es de **C. brasilianum**; además el patrón de bandas de los aislamientos R-43 y 1283 habían coincidido con el de la enzima MDH en el sistema histidina-

HCl. Esta suposición puede ser cierta, ya que Matsuyama *et al* (14) encontraron dos patrones de bandas para los aislamientos del AG-1 con la isoenzima esterasa.

En el AG-2, el patrón R-229 sólo presentó una banda de posición (b) (Ef 8) e I-5178 exhibió tres, en las posiciones (a, b, d) (Ef 4, 12 y 20). Una banda de posición (b) igual a R-229 se observó en R-141 (AG-3). El patrón de bandas de I-5247 (binucleado) fue semejante al de los aislamientos del AG-1 (1177, 5583 y 1283).

En general los aislamientos de *R. solani*, que tenían ya un grupo de anastomosis definido, mostraron en casi todos los casos un patrón de bandas de isoenzimas diferente al presentado por los hongos probadores de los AG. Lo cual puede deberse a que la electroforesis analiza la parte del hongo que está relacionada directamente con los genes, por tanto los resultados ponen en duda el valor de los grupos de anastomosis. Por otro lado, la identificación de aislamientos de *R. solani*, con base en la electroforesis de isoenzimas, no implica toda la caracterización que hay que hacer cuando se define por capacidad de anastomosis.

3.5. Patogenicidad de los aislamientos de *R. solani* en leguminosas forrajeras promisorias.

El añublo foliar por *R. solani* fue evidente a los cuatro días de inoculación. A los ocho días, en la primera evaluación, los 16 ecotipos fueron susceptibles; la enfermedad además fue progresiva a través del tiempo en las restantes evaluaciones.

Los ecotipos de *Centrosema* y *Pueraria phaseoloides* fueron los más afectados mostrando una reacción de moderada a severa. El ecotipo de *C. pubescens* 438, fue el más afectado (3.28), siguiéndole el ecotipo de *P. phaseoloides* y los ecotipos de *C. macrocarpum* 5062 y 5065; de *Centrosema* sp 5278 y de *C. brasilianum* 5247. Los ecotipos de *C. brasilianum* 5234 y *Centrosema* sp. 5568 fueron los menos afectados (1.99 y 1.37). El ecotipo 10280 de *S. capitata* y el 350 de *D. ovalifolium*, exhibieron reacción no muy marcada al ataque de *R. solani*. *S. guianensis* exhibió reacción moderada, siendo los ecotipos 1949 (2.09) y 184 (2.04) los más afectados. Entre los ecotipos tardíos el 1283 fue el más afectado (1.52); los ecotipos menos afectados fueron el 136 común (1.42), el 500 y el 10136 tardíos (1.37 y 1.28).

Las respuestas de los ecotipos se deben a la resistencia ó tolerancia de la especie a la cual pertenecen, y a las condiciones físicas ó fisiológicas que ofrezca la planta para el desarrollo del patógeno.

La diferencia de la patogenicidad promedio de los aislamientos sobre los 16 ecotipos fue altamente significativa. El I-5369 obtenido de *C. brasili- num* fue el más patógeno (2.62); le siguieron muy de cerca el I-1177, I-1283 e I-5583 de *S. guianensis*; el aislamiento binucleado de *C. brasilia- num* mostró patogenicidad moderada (1.86) y el de fríjol fue el meno s virulento.

Los aislamientos de *Centrosema* fueron poco virulentos a *S. guianensis* mientras que los provenientes de ésta especie forrajera si lo fueron a lo s ecotipos de *Centrosema*. Todos los aislamientos fueron patógenicos a *P. phaseoloides* pero en *D. ovalifolium* sólo los aislamientos de *S. guianensis* fueron virulentos. Los aislamientos exhibieron un coeficiente de correlación positivo alto (0.86), con respecto a la virulencia promedio y a su tasa de crecimiento. Los aislamientos más patógenicos pertenecieron al AG-1, ordenación que concuerda con la de Parmeter, Sherwood y Platt (17), quienes presentan a los aislamientos del AG-1 como asociados con problemas foliares.

Los aislamientos más patógenicos a *S. guianensis* fueron el 1177 (2.45), 5583 (2.07) y 1283 (1.95) aislados de *S. guianensis*. Se observó un efecto en el crecimiento en los ecotipos de *Stylosanthes* y *D. ovalifolium* que fueron asperjados con micelio de *R. solani*. El ecotipo 350 de *D. ovalifolium* aumentó su altura en más del doble con respecto al testigo (107.0 o/o), seguido por los ecotipos de *S. guianensis* 184 común (93.5 o/o) y el 1500 tardío (83.7 o/o). El estímulo puede ser la respuesta de las plantas al desarrreglo físico y fisiológico ocasionado por el patógeno, puede ser también la asociación de ciertos nutrimentos con el inóculo y más posiblemente la producción de hormonas (tal vez giberelinas) por el patógeno.

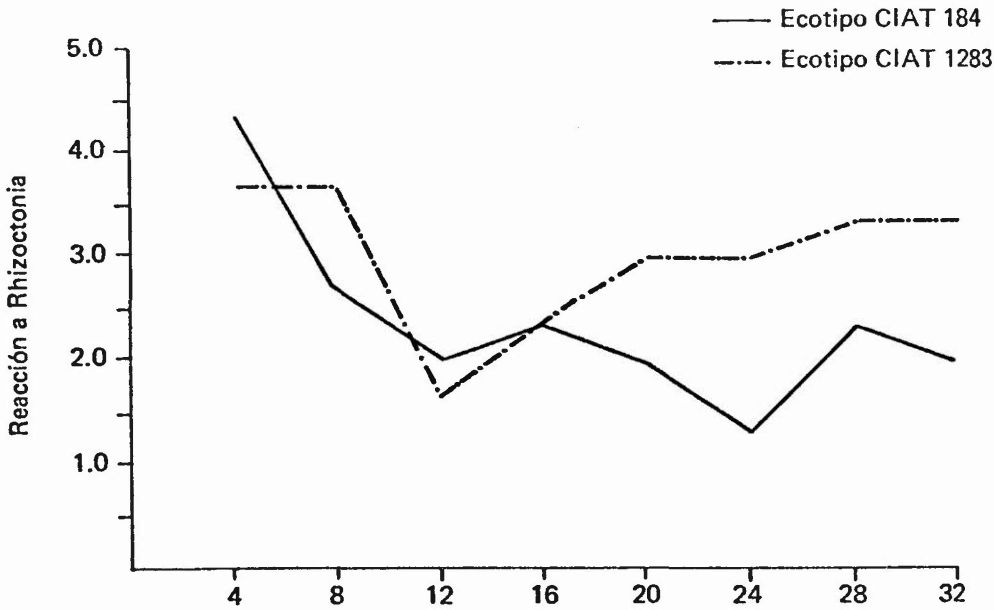
3.6. Edad de *Stylosanthes guianensis* y daño por *Rhizoctonia solani*.

3.6.1. Reacción de los ecotipos 184 y 1283 de diversa edad.

La reacción de los ecotipos fue diferencial para cada aislamiento y tuvo mucha relación con la edad. Las plantas de menor edad del ecotipo 1283 fueron muy afectadas cuando se inocularon con I-1283, la enfermedad fue menor en las plantas de 12 semanas y de aquí en adelante la enfermedad se incrementó con la edad de las plantas, presentándose un coeficiente de correlación de 0.93 para estas variables (Fig. 2). Cuando las plantas de éste ecotipo se inocularon con I-5583 se encontró un comportamiento lineal y una correlación positiva ($r = 0.58$).

En el ecotipo 184, la reacción a I-5583 fue independiente de la edad, pero con I-1283 un modelo logarítmico se ajustó a éstas variables con un coe-

I. 1283



I. 5583

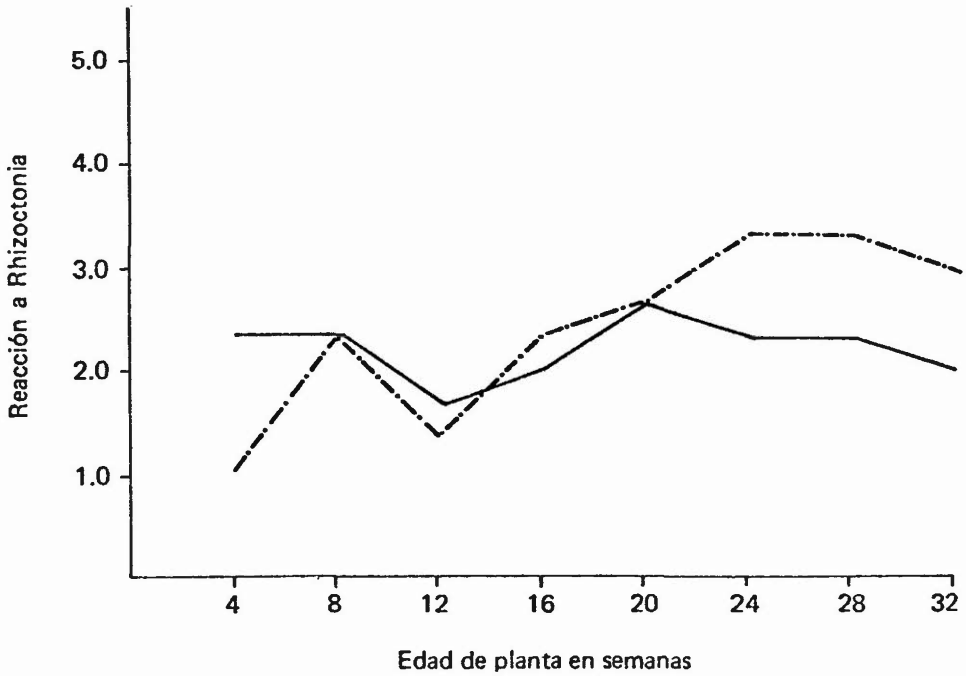


Fig. 2. Efecto de la edad de planta en el desarrollo del añublo foliar por *R. solani* (I. 1283 y I. 5583) en dos accesiones de *S. guianensis* CIAT 184 y 1283.

ficiente de correlación de -0.98 . En general, las plantas de 12 semanas fueron bastante resistentes y el ecotipo que más daño sufrió fue el 1283 tal vez por la viscosidad de sus tallos y hojas que favorecieron el desarrollo del patógeno.

3.6.2. Pérdidas de forraje.

Las bajas en la producción de materia seca debidas a la defoliación causada por el patógeno, en general no fueron muy grandes. El ecotipo CIAT 184 presentó un índice de defoliación más alto, pero tal vez debido a la senescencia de los folíolos y no a la enfermedad, ya que éste ecotipo es fisiológicamente más temprano. Al índice de defoliación de los ecotipos inoculados y no inoculados también pudo contribuir la poca entrada de luz en la parte inferior de las plantas, por el embudo de papel que se colocó para recoger los folíolos que fueron cayendo por efecto de la enfermedad. Por otra parte, la gran producción de micelio impidió la caída de gran porcentaje de folíolos que quedaron unidos a tallos y hojas, en especial en CIAT 1283. Las pérdidas de forraje debidas a la enfermedad fueron más evidentes en las plantas de menor edad; en las restantes edades las pérdidas fueron muy bajas ó no ocurrieron.

3.6.3. Contenido de nitrógeno y digestibilidad.

No hubo efecto considerable del patógeno en la reducción del contenido de nitrógeno. El efecto de la edad si fue muy claro, haciéndose más bajo a mayor edad de los ecotipos.

La digestibilidad se redujo considerablemente tanto por el patógeno como por la edad. La enfermedad al necrosar las hojas, podrir los tallos y defoliar la planta, cambia la composición química de las partes afectadas y aumenta la proporción de tallos reduciendo la digestibilidad.

3.6.4. Rebrote.

Las diferentes edades de planta del ecotipo 184, exhibieron buena capacidad de rebrote, lo que indica que posee buena resistencia a la enfermedad.

3.6.5. Efecto sobre altura de planta.

Las ganancias en altura en las plantas inoculadas con micelio de *R. solani*, fueron sorprendentes en el ecotipo 184. Las plantas de mayor edad aumentaron hasta el 95.6 o/o con relación al testigo, cuando fueron inoculadas con I-1283. Poca respuesta se observó en CIAT 1283 y poco estímulo

mulo provocó I-5583 en ambos ecotipos.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Se debe determinar el número de núcleos de los aislamientos de **R. solani** antes de iniciar ensayos para evitar confusiones.
- 4.2. La agrupación por anastomosis es más acertada que por características culturales, al no correrse el riesgo de superposición de caracteres.
- 4.3. Las electroforesis de isoenzimas de aislamientos de **R. solani** ponen en duda el valor de los grupos de anastomosis. Se presentaron patrones isoenzimáticos diferentes para los aislamientos probadores de los AG y los probados con éste método.
- 4.4. Los ecotipos de **Centrosema** spp y **P. phaseoloides** resultaron más afectados por **R. solani** que los de **S. guianensis** (comunes y tardíos), **D. ovalifolium** y **S. capitata**.
- 4.5. La virulencia promedia de los aislamientos sobre 16 ecotipos de leguminosas forrajeras fue mayor a medida que tenían mayor tasa de crecimiento.
- 4.6. La edad de las plantas de los ecotipos de **S. guianensis**, CIAT 1283 tardío y 184 común, estuvo muy ligada con la reacción al añublo foliar por **R. solani**. La reacción además fue diferencial para cada aislamiento.
- 4.7. Las edades de planta del ecotipo 1283 en general fueron más afectadas por **R. solani** que las del ecotipo 184.
- 4.8. Las pérdidas de forraje debidas a la enfermedad fueron bajas al igual que por defoliación. **R. solani** no ocasionó reducciones en el contenido de nitrógeno, pero el patógeno y la edad afectaron la digestibilidad.
- 4.9. La capacidad de rebrote en CIAT 184 fue bastante buena, lo que sugiere buena resistencia de éste ecotipo a la enfermedad.
- 4.10. Existe un estímulo provocado por **R. solani** que hace que algunos ecotipos de **S. guianensis** y **D. ovalifolium** casi doblen la altura del testigo.

5. BIBLIOGRAFIA

1. BARRON, G. L. The genera of Hyphomycetes from soils. Krieger Publishing, 1968, 365 p.

- 2.. BURPEE, L. L.; SANDERS, P. L.; COLE, H.; SHERWOOD, R. J. Anastomosis groups among isolates of **Ceratobasidium cornigerum** and related fungi. *Mycologia* 72: 689-701. 1980.
3. CASTAÑO, M. Evaluación del germoplasma de fríjol para su resistencia al agente causal de la mustia hilachosa. Cali, CIAT, 1981. 16 p. (Seminario Interno Serie SE-21-81).
4. CEDEÑO, L. Características culturales, condición nuclear y grupos de anastomosis en aislamiento de **R. solani**. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Venezuela 28(2): 151-161. 1978.
5. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Informe anual, 1972.
6. COCHRANE, T. T. Caracterización agroecológica para el desarrollo de pasturas en suelos ácidos de América Tropical. In: Toledo, J. M. (ed.). Manual para la evaluación agronómica. Red Internacional de Pastos Tropicales. CIAT, 1982. 168 p. (Serie 07SG-1 82).
7. COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. Plant pathologist's pocket-book. 2nd ed. 401 p.
8. GALINDO, J. J. Morphological variability, virulence and anastomosis of **R. solani** Kuhn. associated with bean roots and soils in New York. M. Sc thesis. Ithaca, Cornell. Univ., 1979.
9. HERR, L. Practical nuclear staining procedures for **Rhizoctonia** like fungi. *Phytopathology* 69(9): 958-96, 1979.
10. HUTTON, E. M. Tropical pastures. *Advances in Agronomy* 22: 2-66. 1970.
11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Capica (**Stylosanthes capitata** Vog) Boletín Técnico n. 103. 1973. 12 p.
12. LENNE, J. M. Studies on the biology and taxonomy of **Colletotrichum** species. Ph. D. thesis. University of Melbourne, 1978.
13. LENNE, J. M.; VARGAS, A.; TORRES, C. Descripción de las enfermedades de las principales leguminosas forrajeras tropicales. Cali, CIAT, 1983. 50 p. (Serie 04SP-03. 03).
14. MATSUYAMA, N.; MOROZIMATO, Z.; OGOSHI, A.; WAKIMOTO, S. Grouping **Rhizoctonia solani** Kuhn. with non-esterase zymogram. *Ann. phyto-path. Soc. Japan.* 44: 652-658. 1978.
15. MOUNSELL SOIL COLOR CHARTS. Mounsell color. Macbeth, 1975.

16. PARMETER, J. R.; WHITNEY, H. S.; PLATT, W. D. Affinities of some **Rhizoctonia** species that resemble mycellium **Thanatephorus cucumeris** Phytopathology 57: 218-223. 1967.
17. PARMETER Jr, J. R.; SHERWOOD, R. T.; PLATT, W. D. Anastomosis grouping among isolates of **Thanatephorus cucumeris**. Phytopathology 59 : 1270-1278. 1969.
18. PARMETER Jr, J. R. ; WHITNEY, H. S. Taxonomy and nomenclature of imperfect state. In: Parmeter J. R. (ed). **Biology and pathology of Rhizoctonia solani**. Berkeley, Univ. Calif. Press, 1970. pp. 7- 19.
19. RAMIREZ, H. Estudios metodológicos para la caracterización del germoplasma de **Stylosanthes** con electroforesis de isoenzimas. Cali, CIAT, 1984. 10p. (inédito).
20. SHERWOOD, R. T. Phisiology of **Rhizoctonia solani**. In: Parmeter, J. R. (ed.) **Biology and pathology of Rhizoctonia solani**. Berkeley, Univ. Calif. Press, 1970. pp. 69-72.