

Nota de Investigación

VARIABILIDAD ENTRE AISLADOS DE RHIZOCTONIA SOLANI EN PUERTO RICO¹

Thania Polanco², Rocío del P. Rodríguez³ y James S. Beaver⁴

J. Agric. Univ. P.R. 80(3):195-197 (1996)

En 1858, Julius Kühn observó un hongo sobre los tubérculos de papas enfermas y lo llamó *Rhizoctonia solani* y desde entonces se considera mundialmente como un patógeno destructivo, ocasionando hasta 90% en pérdidas (Parmeter y Menzies, 1970). Este hongo se distingue por su amplia distribución y gama de hospederos y en Puerto Rico afecta una gran cantidad de cultivos (Stevenson, 1975).

La población de *R. solani* se compone de formas que difieren en caracteres morfológicos, fisiológicos y patológicos que se utilizan para la clasificación de especies y de formas intraespecíficas (Parmeter y Whitney, 1970). También se ha encontrado variabilidad en la virulencia de los aislados (Rodríguez et al., 1995). El conocimiento de las formas y características de la población de un patógeno es de gran importancia para los programas de fitomejoramiento y por tal razón se intentó explorar si existe variabilidad en Puerto Rico entre aislados de *R. solani*.

Se tomaron muestras de hojas, semillas y vainas de habichuela y de hojas de gramíneas con síntomas de mustia hilachosa en las siembras de la Estación Experimental Agrícola en Isabela y Corozal. Estas se trataron de acuerdo a los procedimientos para aislar organismos de tejidos enfermos y la identificación de las colonias de *Rhizoctonia* en esta etapa inicial se basó en la ramificación de la hifa.

Los aislamientos se caracterizaron utilizando la morfología de las colonias, el diámetro de los esclerocios y de las hifas, la condición nuclear, el crecimiento radial, la patogenicidad y el grupo de anastomosis. Esta última fase se llevó a cabo en la Estación Experimental Agrícola Arroyo Loro, República Dominicana utilizando el método descrito por Kronland y Stanghellini (1988), aplicado a los dos aislados de hojas de habichuela de Isabela.

El crecimiento radial se obtuvo midiendo el diámetro de la colonia en agar de papa y dextrosa (APD) a las 24, 48 y 72 hrs, y el crecimiento diario se determinó por la diferencia del día anterior. La temperatura promedio fue 24°C y los aislados se arreglaron sobre la mesa del laboratorio en un diseño completamente al azar con cuatro réplicas.

Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo en el invernadero utilizando la habichuela cv. Arroyo Loro. Las plantas crecieron en tiestos de 12 cm de diámetro en una mezcla comercial de musgo, perlita y vermiculita. El haz de la primera hoja trifoliada se trató, cuando se encontraba completamente expandida, con 10 µl del inóculo. Este se preparó macerando la colonia de cada aislado en 100 ml de agua destilada estéril. Los controles fueron plantas tratadas con agar macerado en agua destilada estéril y sin tra-

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 17 de mayo del 1995.

²Fitopatóloga, Cuarentena Vegetal, Depto. Sanidad Vegetal, República Dominicana.

³Investigadora, Departamento Protección de Cultivos, Recinto Universitario de Mayagüez, Apartado 5000, Mayagüez, PR 00681.

⁴Investigadora, Departamento de Agronomía y Suelos.

tar. Los tratamientos se arreglaron en un diseño completamente al azar con seis repeticiones. Las hojas inoculadas se evaluaron diariamente y a los seis días se determinó el tamaño de la lesión y el porcentaje de defoliación basado en el total de los folíolos inoculados. Estos datos se analizaron con el análisis de variancia, combinando dos pruebas, y las medias se compararon con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa ($P \leq 0.05$).

En habichuela se identificaron dos tipos principales de aislados, macro y microesclerótico siendo este último el más común. El macroesclerótico tenía colonias color marrón claro en la parte superior y en el inverso marrón oscuro. El medio de cultivo tenía pigmentación oscura y en el centro del plato se observó una pigmentación amarilla al inicio de la formación de los esclerocios. Estos son irregulares de 3 a 9 mm de diámetro, localizados y siempre en forma de agregados con exudado marrón oscuro a partir de los 10 días. El diámetro de las hifas fue variable, 6.2 a 8.2 μm , con ocho núcleos por célula. Las colonias de los microescleróticos eran marrón con el inverso más oscuro y no se observó pigmentación en el medio. Los esclerocios, de 0.8 a 1.0 mm, son globosos y no agregados. El diámetro de las hifas fue menos variable, 8.2 μm , aunque el número de núcleos por célula varió de seis a ocho. El aislado de *R. solani* de la gramínea fue similar al microesclerótico de la habichuela aunque con esclerocios más pequeños (0.7 mm).

Los dos aislados macro y microescleróticos obtenidos de hojas en la siembras de Isabela pertenecen al grupo de anastomosis AG-1-1B. Este grupo está caracterizado por poseer esclerocios pequeños, de forma irregular y asociados a lesiones de hojas (Parmeter y Whitney, 1970). Nuestros aislados tienen esclerocios variables en morfología y tamaño aunque sí coinciden en la descripción de la asociación con lesiones en las hojas.

A las 24 hrs, los aislados microescleróticos de hojas de habichuela tuvieron el mayor crecimiento radial. Un crecimiento acelerado ocurrió entre las 48 y 72 horas siendo mayor

CUADRO 1.—Crecimiento radial diario en APD y virulencia expresada en tamaño de la lesión y defoliación de aislados de *Rhizoctonia solani* en habichuela cv. Arroyo Loro.

Aislado ¹	Crecimiento radial (cm)			Virulencia	
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	Tamaño (cm)	Defoliación (%)
R1	8	3	17	0.82	50
R2	10	3	14	0.78	50
R3	9	3	15	0.54	33
R4	9	3	15	0.55	31
R5	9	3	15	0.55	31
R6	10	3	15	0.76	47
D.M.S. ($P < 0.05$)				0.16	
C.V. (%)				8.44	

¹ R1 = aislado de hojas de habichuela en Isabela.

R2 = aislado de hojas de habichuela en Isabela.

R3 = aislado de vainas de habichuela en Corozal.

R4 = aislado de semillas de habichuela en Corozal.

R5 = aislado de hojas de gramínea en Corozal.

R6 = aislado de hojas de habichuela en Corozal.

en el aislado macroesclerótico. El aislado de malezas se comportó de manera similar a los de habichuela de Corozal (Cuadro 1).

Todos los aislados fueron patogénicos pero la virulencia fue variable. Las lesiones y la defoliación fueron mayores con los inóculos de hojas de habichuela. El aislado macroesclerótico fue el más virulento, contrario a lo informado en la República Dominicana donde el más virulento es microesclerótico (Godoy et al., 1991). El aislado de malezas se comportó de forma similar que los de vaina y semilla de habichuela (Cuadro 1).

Galindo et al. (1982) encontraron una relación positiva entre la virulencia y el crecimiento radial de *R. solani*. En nuestro estudio esta relación no estuvo muy definida ya que al final de la prueba todos los aislados tenían el mismo tamaño de colonia. El aislado más virulento, el macroesclerótico de hojas de habichuela, tuvo el menor crecimiento radial diario al inicio de la prueba pero al final fue el mayor. Posiblemente el crecimiento radial diario es otra variable a considerar cuando se establezcan comparaciones.

Los resultados obtenidos en este estudio son indicativos de la variabilidad entre aislados de *R. solani* en Puerto Rico. A pesar de que el número de aislados fue bajo, se pudo detectar diferencias en su virulencia. Este hecho es de importancia para las evaluaciones sobre la resistencia de genotipos ya que la reacción de éstos estaría determinada por el aislado utilizado. Basado en estos resultados es recomendable disponer de una población adecuada de aislados de *R. solani* y evaluarlos para virulencia, previo a la inoculación, ya que los caracteres morfológicos y culturales no son criterios estables para definir esta característica del patógeno. La patogenicidad del aislado de malezas es significativa ya que sugiere a éstas como posible reservorio del patógeno en condiciones naturales.

LITERATURA CITADA

- Galindo, J. J., G. S. Abawi, H. D. Thurston y G. Gálvez, 1982. Characterization of *Thanatephorus cucumeris* isolates causing web blight of bean in Costa Rica. *Turrialba* 32:447-455.
- Godoy, G., A. Mora, J. R. Steadman y F. Saladín, 1991. Preliminary characterization of *Thanatephorus cucumeris* causal agent of web blight of dry beans in the Dominican Republic. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 35:90-91.
- Kronland, W. C. y M. E. Stanghellini, 1988. Clean slide technique for the observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 78:820-822.
- Parmeter, J. R., Jr. y J. D. Menzies, 1970. Introduction. p. 3-5 En: *Rhizoctonia solani*. Biology and Pathology. (Ed.). J. R. Parmeter, Jr. Univ. of California Press, Berkeley, California.
- Parmeter, J. A., Jr. y H. S. Whitney, 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. p. 7-19. En: *Rhizoctonia solani*. Biology and Pathology. Ed. J. R. Parmeter, Jr. Univ. of California Press, Berkeley, California.
- Rodríguez, E., A. García, G. Frias y S. Beebe, 1995. Interacción entre genotipos de frijol y aislamiento de *Rhizoctonia solani* Kühn. Heredabilidad de la resistencia a la mustia hilachosa *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk en cultivares y poblaciones F1 y F2 de frijol común *Phaseolus vulgaris* L. *Agro. Mesoamericana* 6:50-60.
- Stevenson, J. A., 1975. The Fungi of Puerto Rico and the Virgin Islands. Contribution of Reed Herbarium XXIII. Braun-Brumfield Inc. Baltimore, Maryland.