

# CARACTERIZACIÓN DE ALGUNOS AISLAMIENTOS DE RHIZOCTONIA SOLANI KÜHN

El Bakali, M. A.; Moret, A.; Nadal, M.

*Departament de Biologia Vegetal, Fac. de Biologia, Universitat de Barcelona*

## Resum

El complex *Rhizoctonia solani* representa un grup econòmicament important de patògens del sòl que son capaços d'infectar un gran nombre de plantes, tant cultivades com espontànies; es troba pràcticament arreu del món. S'han obtingut dotze aïllaments a partir de diferents hostes (*Citrullus lanatus*, *Fragaria* spp., *Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*) els quals es distribueixen en tres grups (A, B, C) segons la seva taxa de creixement vegetatiu i les característiques morfològiques; tots ells són prototrofics per la tiamina. El creixement a les 48 h en el grup A expressat en mm<sup>2</sup> és de 3873,43; en el grup B, 2421,09 i el grup C, 1410,94.

## Resumen

El complejo *Rhizoctonia solani* representa un grupo económicamente importante de patógenos del suelo que son capaces de infectar un elevado número de plantas tanto cultivadas como espontaneas de amplias zonas del mundo. Se han obtenido doce aislamientos a partir de diversas plantas hospedantes (*Citrullus lanatus*, *Fragaria* spp., *Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*) los cuales se reúnen en tres grupos (A, B, C) según su tasa de crecimiento vegetativo y sus características morfológicas; todos ellos son prototróficos para la tiamina; el crecimiento, alas 48 h en el grup A, expresado en mm<sup>2</sup> es de 3873,43; en el grupo B, 2421,09 y en el grupo C, 1410,94.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de las plantas producidas por *Rhizoctonia solani* Kühn se conocen con diversos nombres entre los cuales se incluyen los siguientes: caída de plantas, enfermedades de semillero, colapso, podredumbre de raíces, podredumbre del cuello y "damping-off" en terminología anglosajona.

Esta infección afecta tanto semillas y plántulas como planas jóvenes (de 2-8 hojas) y adultas, aunque los daños se manifiestan principalmente en plántulas.

El teleomorfo (estado perfecto o meiospórico) del organismo causal es *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk.

Las pérdidas en España son muy graves en una amplia gama de hortalizas y plantas ornamentales especialmente cucurbitáceas (TELLO et al. 1986, 1990, CEBOLLA et al. 1989, GARCÍA. J. et al. 1993) y leguminosas (TELLO et al 1983).

En el presente trabajo se han obtenido doce aislamientos distintos de *R. solani* a partir de diversos cultivares de fresa (*Fragaria* spp.), judía (*Phaseolus vulgaris* L.), patata (*Solanum tuberosum* L) y sandía (*Citrullus lanatus* [Thumb] Matsumara et Nakai) procedentes de varias comarcas catalanas [Baix Llobregat, Baix Camp, Barcelonès y Tarragonès] (Tabla 1).

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Para realizar los aislamientos se recolectó material vegetal que se mantuvo en condiciones adecuadas hasta su procesamiento en el laboratorio, las muestras se almacenaron separadas en bolsa de plástico convenientemente identificadas y a baja temperatura para evitar el desarrollo de hongos saprófitos.

### Análisis de las muestras:

Para hacer los aislamientos se emplearon plantas procedentes de las comarcas: Baix Camp, Baix Llobregat,

Barcelonès y Tarragonès.

Los aislamientos se obtuvieron a partir de la zona basal del tallo y raíces con síntomas de la infección; en los tubérculos de patata se podían observar los esclerocios y micelio maduro de color marrón oscuro que se desarrollaba sobre los tejidos superficiales.

Con el objeto de deteriorar la menor porción posible de la microflora de la parte afectada, las muestras se sometieron a un lavado con agua del grifo, se seleccionaron las porciones de raíz o tallo que se emplearían para hacer los aislamientos y tras desinfectar con "oxysprit" (solución de sulfato de 8-hidroxiquinoleína al 1 % en alcohol del 70 %) durante un segundo, se lavaron con alcohol etílico del 60 % para eliminar los residuos de oxysprit y a continuación se aclararon con agua destilada, operación que se repetía hasta tres veces. Seguidamente los fragmentos infectados se secaron con papel de filtro estéril y se sembraron en medio nutritivo a base de PDA (potato-dextrosa-agar) al que se había añadido 50 mg/l de sulfato de estreptomina y sulfato de neomicina (PDA\*).

Las placas así sembradas se incubaron a 26 °C durante 3 días, al cabo de los cuales se realizaron repicajes de las distintas colonias para llegar a obtener cultivos puros.

### Características culturales:

para observar las características morfológicas de los cultivos se sembraron discos de 5 mm de diámetro en PDXA (potato dextrosa-agar, enriquecido con sacarosa (5 g/l), extracto de levadura (0.5 g/l) y sales minerales). Los caracteres estudiados fueron la colocación, la presencia o ausencia de micelio aéreo, la zonación, la formación de esclerocios y el requerimiento de tiamina; se calculó también la tasa de crecimiento en superficie (mm<sup>2</sup>) de las colonias a las 48 h.

### Identificación del agente patógeno:

Para caracterizar los aislamientos de *R. solani* hemos utilizado el método de Safranina O en 3 % de KOH (BANDONI, 1979). Según este método una pequeña porción de micelio se dispone en un porta con una gota de safranina, una vez teñida la muestra se coloca el cubre-objetos y se observa al microscopio a 400 aumentos.

**Tabla 1:** Aislamientos de *R. solani*.

Comarcas	Año de recolección	Código de aislados	Hospedantes	Parte infectada
BAIX LLOBREGAT	1.997	R 24017	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Raíz
BAIX CAMP	1.997	R 0297	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Kenebeck	Tubérculo
BAIX CAMP	1.997	R 1297	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Kenebeck	Tubérculo
BAIX CAMP	1.997	R 2297	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Kenebeck	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 0397	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 0497	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Jaerla	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 1397	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 1497	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 2497	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 3497	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
BARCELONÈS	1.997	R 4497	<i>Solanum tuberosum</i> Cultivar Red Pontiac	Tubérculo
TARRAGONÈS	1.994	R 037	<i>Citrullus lanatus</i>	Raíz

## RESULTADOS

Los doce aislamientos de *R. solani* pueden distribuirse en tres grupos que no se corresponden con los grupos de anastomosis (Tablas II y III).

Grupo A: formado por los aislamientos R 037 y R24017, obtenidos de raíces de sandía y de judía reespectivamente, el primero procedente de la comarca del Tarragonès y el segundo del Baix Llobregat ; tiene una tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 3873,43 mm<sup>2</sup>, presenta abundante micelio aéreo de color leonado que progresivamente pasa a marrón claro; esclerocios muy raros; micelio policariótico.

Grupo B: constituido por los aislamientos R 1397, R 1497 y R2497, obtenidos de tubérculos de patata del cultivar Red Pontiac, procedentes de la comarca del Barcelonès; tiene una tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 2421.09 mm<sup>2</sup> y desarrolla micelio aéreo abundante, de color marrón; esclerocios escasos; micelio policariótico.

Grupo C: integrado por los aislamientos R 0297, R 0397, R 0497, R 1297, R 2297, R 3497, R 4497, R 0297, R 1297, R 2297 se obtuvieron de tubérculos de patata del cultivar Red Pontiac procedentes de la comarca del Baix Camp y R 0397, R 0497, R 3497, R 4497 de tubérculos de patata del cultivar Red Pontiac procedentes de la comarca del Barcelonès; tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 1410.94 mm<sup>2</sup>, forma micelio aéreo escaso, de color marrón chocolate oscuro (esta característica varía con la edad del cultivo); esclerocios abundantes; micelio policariótico.

Todos los grupos son prototróficos para la tiamina y son frecuentes las anastomosis en cultivos jóvenes. El diámetro de las hifas es variable en los tres grupos.

**Tabla II:** Crecimiento de las colonias de los diversos aislamientos de *R solani* (área a las 48 h en mm<sup>2</sup>).

grupos	aislados	mm <sup>2</sup>	Superficie media de la colonia/mm <sup>2</sup>	error estándar
A	R 037	3727.64	3873.43	77.33
	R 24017	4019.22		35.77
B	R 1397	2566.48	2421.09	34.93
	R 1497	2225.68		39.41
	R 2497	2471.12		32.69
C	R 0297	1399.76	1410.94	47.69
	R 0397	1383.42		66.33
	R 0497	1080.20		77.97
	R 1297	1689.82		21.42
	R 2297	1115.40		21.13
	R 3497	1607.54		74.89
	R 4497	1600.46		48.76

**Tabla 3:** Características morfológicas de los aislamientos de *R. solani*.

Grupos	Aislados	Color	Micelio aéreo	Nº núcleos	Esclerocios	Diámetro de las hifas**
A	R 037	marrón leonado	++	P	1	8.10 µm
	R 24017	marrón leonado	++	P	1	8.35 µm
B	R 1397	marrón	+	P	3	9.62 µm
	R 1497	marrón	+	P	3	9.90 µm
	R 2497	marrón	+	P	3	9.70 µm
C	R 0297	marrón oscuro	variable	P	4	9.04 µm
	R 0397	marrón oscuro	variable	P	4	9.82 µm
	R 0497	marrón oscuro	-	P	4	10.54 µm
	R 1297	marrón oscuro	-	P	4	8.64 µm
	R 2297	marrón oscuro	-	P	4	10.21 µm
	R 3497	marrón oscuro	-	P	4	10.22 µm
	R 4497	marrón oscuro	-	P	4	9.25 µm

++: Muy abundante; +: abundante; -: escaso; P: Policarióticos; Esclerocios: 1 = Muy raros, 2 = Raros, 3 = Escasos, 4 = Abundantes; \*\*: Diámetro de las hifas vegetativas jóvenes.

## CONCLUSIONES.

- Los doce aislamientos de *R. solani* estudiados son policarióticos y se distribuyen en tres grupos, A, B y C.
- El grupo A tiene una tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 3873,43 mm<sup>2</sup>, presenta abundante micelio aéreo de color leonado que progresivamente pasa a marrón claro; esclerocios muy raros.
- El grupo B presenta una tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 2421.09 mm<sup>2</sup> y desarrolla micelio aéreo abundante, de color marrón; esclerocios escasos.
- El grupo C tiene una tasa de crecimiento medio en superficie a las 48 h de 1410.94 mm<sup>2</sup>, forma micelio aéreo escaso, de color marrón chocolate oscuro; esclerocios abundantes.

## BIBLIOGRAFÍA:

- BANDONI, R.J. (1979). Safranin O as a rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia*, 71: 873-874.
- CEBOLLA, V. et al. (1989). El colapso del melón: Introducción al control químico. *Horticultura*, 45: 48-60.
- GARCÍA, J.J. et al. (1993). Agentes asociados al "colapso del melón" en distintas zonas españolas. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19: 401-423.
- KRONLAND, W.C.; and Stanghellini, M.E. (1988). Clean slide technique for the observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani*. *Phytopatology*, 78: 820-822.
- TELLO, J.C. et al. (1983). Una nota fitopatológica sobre el complejo parasitario de pie de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.). *ITEA*, 61: 57-69.
- TELLO, J.C. et al. (1986). Notas sobre las micosis del melón en la Mancha. *ITEA*, 63: 45-60.
- TELLO, J.C. et al. (1990). Capacidades parasitarias de *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* (Kühn) sobre pepino y melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, 16: 733-741.