

# INCIDENCIA, CARACTERIZACIÓN CULTURAL Y PRUEBA DE PATOGENICIDAD DE *Ceratobasidium* sp. AISLADO DE MANCHAS BANDEADAS EN MAÍZ

Alessandra Medina<sup>1</sup>, Alex González-Vera<sup>2</sup>, Juan Pineda<sup>1</sup> y Alexander Hernández<sup>1</sup>

## RESUMEN

La mancha bandeada del maíz es la enfermedad con mayor importancia en los campos maiceros del estado Portuguesa, Venezuela. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la incidencia y realizar la caracterización cultural y patogénica de cepas de *Rhizoctonia* binucleada aisladas de síntomas típicos de la mancha bandeada del maíz. De muestras colectadas en 2006, se aislaron cepas del hongo en medio semiselectivo y se purificaron por cultivo de puntas de hifas, la tinción nuclear se usó para verificar el número de núcleos por célula, mediante esta metodología se determinó que el 39,68 % de los aislados pertenecían a *Rhizoctonia* binucleada. Los aislados fueron caracterizados midiendo la formación de esclerocios y la velocidad de crecimiento en medio PDA. Se realizaron dos pruebas de patogenicidad: en umbráculo, se inocularon discos de agar-micelio en hojas basales de plantas sanas de maíz y en laboratorio, se colocó un grano de arroz colonizado con el hongo en la parte adaxial de segmentos de hojas sanas en solución de Cinetina a 2 ppm. Los resultados de umbráculo indicaron que las 16 cepas probadas causaron síntomas en 100% de plántulas inoculadas, similar al testigo *Rhizoctonia solani* AG1 IA. Sólo el 31,2 % de las cepas formó esclerocios y los aislados más agresivos (M2C1, M4G4, M5B1, M1F3) mostraron una velocidad de crecimiento promedio de 1,1 cm por día, bajo condiciones de laboratorio. Se concluye que *Ceratobasidium* (= *Rhizoctonia* binucleada) emerge como un patógeno del complejo mancha bandeada del maíz, en el estado Portuguesa.

**Palabras clave adicionales:** *Zea mays*, *Rhizoctonia* binucleada, tinción nuclear

## ABSTRACT

### Cultural characterization and pathogenic test of *Ceratobasidium* spp isolates of maize banded leaf

The banded leaf of maize is the primarily disease in corn fields in Portuguesa State, Venezuela. The objectives of this study were to determine the incidence and carry out cultural and pathogenic characterization of binucleate *Rhizoctonia* strains isolated of typical symptoms of the banded leaf of maize. Of samples collected in 2006, were isolated strains of the fungus in semi selective media and were purified by growing hyphae tips, nuclear staining was used to verify the number of nuclei per cell, using this methodology found that 39.68 % of the isolates belonged to binucleate *Rhizoctonia*. Isolates were characterized by measuring the formation of sclerotia and growth velocity in PDA. There were two tests of pathogenicity: in greenhouse, were inoculated agar-mycelium disc in basal leaves of healthy maize plants; in laboratory, was placed a grain of rice colonized with the fungus on the adaxial segment healthy leaf in 2 ppm of kinetin solution. The results in greenhouse indicated that 16 strains tested caused symptoms in 100 % of inoculated seedlings, similar to the control *Rhizoctonia solani* AG1 IA. Only 31.2% of strains and isolates formed sclerotia and the most aggressive isolates (M2C1, M5B1, M4G4 and M1F3) showed an average growth rate of 1.1 cm per day, under laboratory conditions. We conclude that *Ceratobasidium* (= binucleate *Rhizoctonia*) emerges as a pathogen of the complex banded leaf of maize, in Portuguesa State, Venezuela.

**Additional key words:** *Zea mays*, binucleate *Rhizoctonia*, nuclear stain

## INTRODUCCIÓN

Un problema fitopatológico que se ha incrementado en Venezuela en los últimos años, causando daños considerables en la producción de maíz (*Zea mays* L.), es la enfermedad conocida como mancha bandeada o rizoctonias. La misma

se ha observado en siembras comerciales del cultivo en el estado Portuguesa, afectando hojas, tallos y mazorcas en diferentes estados de desarrollo. Como agente causal ha sido identificado el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn (Cardona et al., 1999) y se ha observado que todos los cultivares de maíz muestran susceptibilidad a

Recibido: Enero 9, 2012

Aceptado: Septiembre 21, 2012

<sup>1</sup>Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela

<sup>2</sup>Fundación para la Investigación Agrícola Danac. Apdo. 182. San Felipe. Venezuela

la enfermedad (Cabrera y García, 2000).

Por otra parte, en las zonas maiceras de la provincia de Sichuan en China (Li et al., 1998) se estudió la etiología de la enfermedad y se encontró que la especie *R. solani* AG1-IA fue la más predominante seguida de *Rhizoctonia* spp binucleada (AG-K); también se identificaron por medio de pruebas de anastomosis a *R. solani* AG1-IB, AG-4, AG-5 y *R. zea*. Los aislamientos probados se diferenciaron en las pruebas de virulencia, causando los síntomas más pronunciados *R. solani* AG1-IA, comparado con manchas de menor tamaño ocasionadas por *Rhizoctonia* binucleada.

Las especies de *Rhizoctonia* binucleada representan un diverso grupo de saprofitos, patógenos y hongos micorrizicos (Ogoshi, 1987). Como patógeno puede causar la enfermedad conocida como “damping off” así como pudrición de la raíz y del tallo, decaimiento de los frutos, mancha de la vaina y tizón foliar en una amplia variedad de plantas de importancia agrícola. Con base a la anastomosis de hifas, *R. binucleada* se ha dividido en 19 grupos de anastomosis (AG), designados desde la AG-A hasta la AG-S, sin incluir los últimos grupos de anastomosis identificados (Hyakumachi et al., 2005). Adicionalmente, el grupo AG-B se ha subdividido en AG-Ba, -Bb y -Bo, basado en la frecuencia de anastomosis hifal y a las características culturales (Sneh et al., 1991).

Según Parmeter y Whitney (1970) para la caracterización del género *Rhizoctonia* es necesario determinar el número de núcleos que presenta, pudiéndose encontrar *Rhizoctonia* de tipo binucleado o multinucleado, lo cual es una característica estable que puede ser usada para distinguir especies del género. Asimismo, es muy frecuente el uso de aislados no-patogénicos de *R. binucleada* como biocontroladores de *R. solani* (Poromarto et al., 1998; Wen et al., 2005) y contra otros géneros de hongos (Jabaji-Hare y Neate, 2005).

El problema que originó la presente investigación surge en el año 2005 cuando se realizó una colecta de muestras de hojas donde se observaron los síntomas de la mancha bandeada del maíz en varios campos maiceros de Turén, Esteller y Santa Rosalía del estado Portuguesa. De estos aislados se identificaron por vía molecular las especies *Rhizoctonia solani* AG1-IA y AG4-

HG1, *Ceratobasidium* sp. (*R. binucleada*) y *Waitea* sp. (*R. zea*) las cuales se encontraban en dichos campos relacionados a la sintomatología de la mancha bandeada. Los resultados encontrados indicaron que posiblemente la segunda especie estaba asociada con esta sintomatología (González, 2012).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la incidencia de *Rhizoctonia* binucleada en varios campos maiceros y realizar la caracterización de estas cepas mediante pruebas culturales y de patogenicidad con la finalidad de comprobar si esta especie se encuentra involucrada en el desarrollo del síntoma conocido como mancha bandeada de la hoja del maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los aislados utilizados en este ensayo provienen de dos colectas: la primera realizada en el año 2005 en los municipios Turén, Santa Rosalía y Esteller del estado Portuguesa, Venezuela, identificadas molecularmente como *Ceratobasidium* (González, 2012). La segunda, en el año 2006 en el municipio Turén, para lo cual se trazaron diez transectas paralelas a las hileras de maíz, con cinco puntos de muestreos cada una, distanciados a 10 m uno del otro y se registró cada punto por medio de un sistema de navegación satelital (GPS). Luego se cortaron los segmentos de hojas y de tallos con síntomas o presencia de esclerocios los cuales fueron almacenados en bolsas de papel.

Para purificar las cepas, de la segunda colecta (2006) en el municipio Turén se sembraron trozos de hojas con los síntomas de la enfermedad en medio Ko y Hora (1971), el cual es un medio selectivo donde solamente crecen las diferentes especies de *Rhizoctonia*. Posteriormente, se transfirieron ápices hifales a platos Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), y se incubaron en condiciones del ambiente de laboratorio a 26 °C y 60 % HR, promedio.

La caracterización cultural del hongo incluyó la caracterización nuclear, el crecimiento micelial y la caracterización morfológica:

- Caracterización nuclear. Se utilizaron cultivos de 4-5 días de sembrados en medio agar-agua (AA) en platos Petri de 9 cm de diámetro, bajo las condiciones de laboratorio antes señaladas. De éstos se extrajeron discos delgados de agar-

micelio (8 mm de diámetro) que posteriormente se colocaron sobre un portaobjeto y fueron teñidos con safranina O, para facilitar el conteo del número de núcleos por célula bajo un microscopio de luz visible (Perdomo et al., 2007).

- Crecimiento micelial y caracterización morfológica. Los aislados se transfirieron a medio PDA y fueron incubados a una temperatura  $30 \pm 1$  °C. Para 16 aislados se utilizaron tres repeticiones dispuestas en un diseño completamente al azar utilizando la cepa P2AB2 de *Rhizoctonia solani* AG1-IA como testigo. Para la medición del crecimiento micelial del hongo, se tomaron cuatro lecturas por plato; para ello se dibujó en cada placa un cuadrante que sirvió de guía para la toma de los datos. Las mediciones se realizaron cada 24 horas hasta que el micelio cubrió completamente la superficie del medio. La caracterización se realizó considerando la velocidad de crecimiento de los aislados (Perdomo et al., 2007).

Para las pruebas de patogenicidad en umbráculo se utilizó la línea de maíz '82201-25-1-1' proveniente del Banco de Germoplasma de Fundación Danac (BGFD), la cual se conoce por ser susceptible a *Rhizoctonia solani*. Estas semillas estaban tratadas con insecticida, de manera de controlar el ataque de insectos en las primeras etapas de desarrollo de las plántulas. Se sembraron cuatro semillas en maceteros plásticos de 15 cm de diámetro sobre tierra esterilizada con vapor de agua bajo condiciones de casa de malla a 31 °C y 70 % HR, promedio. Se seleccionaron las cepas de aproximadamente tres días de edad que tuvieron buen desarrollo y se marcaron pequeños discos de agar-micelio.

El proceso de inoculación se realizó colocando discos de micelios de cepas de *Rhizoctonia* binucleada en la primera hoja verdadera de plantas sanas de maíz con 15 días de edad (3 a 4 hojas), separando suavemente la lígula, de manera que el disco de agar colonizado quedara entre la hoja y el tallo de la planta. Para que los síntomas se desarrollaran adecuadamente se colocó en cada macetero una microcámara (Jia et al., 2007) construida con botellas de plástico de 2 L de capacidad, que sirvió como cámara húmeda.

Se constituyó un ensayo en bloques al azar con cinco repeticiones y 16 tratamientos (cepas de *R.* binucleada) utilizando como testigo la cepa P2AB2 de *Rhizoctonia solani* AG1- IA, la cual tuvo un mejor comportamiento al discriminar

materiales susceptibles y tolerantes en las pruebas de virulencia realizadas en un trabajo previo (Perdomo et al., 2007).

La evaluación se realizó siete días después de la inoculación. A las plantas inoculadas se les retiró la microcámara y se observó la vaina donde fue colocado el disco de agar-micelio para verificar si hubo síntomas de la enfermedad, es decir, para observar el comportamiento de la cepa bajo estudio, y así poder concluir sobre si representaba un agente patogénico. La evaluación de las plántulas en la casa malla fue de carácter cualitativo, con base a la observación de la presencia de los síntomas de la enfermedad y descripción del desarrollo de los síntomas.

Para el reaislamiento del patógeno se sembraron nuevamente trozos de hojas con síntomas de la enfermedad en medio AA Alcalino (pH = 8,5). Una vez crecidos los hongos en este medio se transfirieron ápices hifales a medio de cultivo PDA para observar el crecimiento y mediante la tinción de núcleos confirmar que el organismo aislado era el mismo inoculado en la planta para la prueba de patogenicidad.

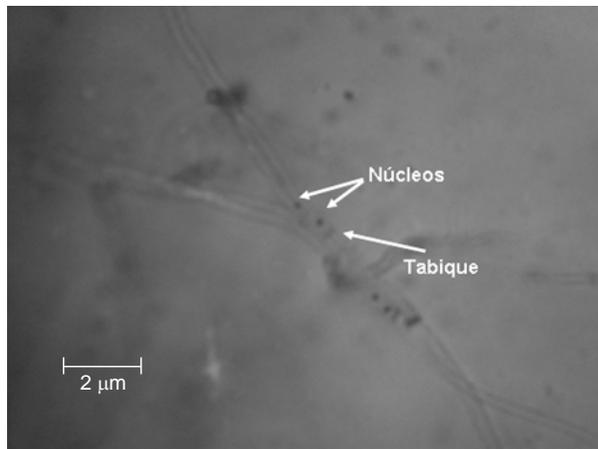
Se realizó la evaluación *in vitro*, para lo cual el sustrato de crecimiento se preparó con 50 g de arroz pulido y 15 mL de agua destilada en bolsas de plástico de alta resistencia que fueron esterilizadas en autoclave durante 15 min. Diez discos de agar-micelio de cada uno de los aislados se colocaron en el sustrato y se incubaron por 15 días en cámara de crecimiento con luz continua hasta que los granos estuvieron completamente colonizados. Se utilizaron hojas de plantas sanas de 30-35 días de edad, de las cuales se cortaron segmentos de 8 cm, fueron lavados con agua y colocados sobre 10 mL de una solución de cinetina (6-furfuril-amino-purina) en una concentración de 2 ppm, contenida en platos Petri desechables de dos compartimientos. Los segmentos foliares se inocularon ubicando un grano de arroz colonizado con micelio de cada aislamiento de los hongos bajo estudio sobre la superficie adaxial del tejido y se incubaron en el laboratorio utilizando platos Petri por tres días a una temperatura entre 22-24 °C.

El desarrollo de las manchas se evaluaron 48 h después de la inoculación, utilizando la escala diagramática de seis grados (0 al 5) de Ahuja y Payak (1981). La prueba se estableció bajo un diseño completamente aleatorizado de 16 aislados

inoculados en la línea '82201-25-1-1' con tres repeticiones. El análisis fue realizado con el uso del programa Statistix 8.0 y se empleó la prueba de Tukey para discriminar las diferencias entre las medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Caracterización nuclear.** En las observaciones microscópicas de los diferentes aislados se encontraron, para todos los casos, hifas formando ángulos rectos y constricciones en el punto de origen de la ramificación de la hifa que inmediatamente por encima de este sitio presentaban un septo. Por otro lado, se observaron células somáticas binucleadas, correspondientes al género *Ceratobasidium* (Figura 1). Mediante la técnica de tinción de núcleos utilizada se observó que el género *Ceratobasidium* estuvo presente en 25 de las 63 muestras bajo estudio (39,68 % del total). Estos resultados superan a los obtenidos por González (2012) quienes obtuvieron un 31 % de incidencia de esta especie en la colecta realizada en el 2005, lo cual sugiere que ese género puede estar implicado en el complejo de la mancha bandeada del maíz.



**Figura 1.** Células binucleadas en hifas de *Ceratobasidium* spp.

Se evidenció que las observaciones mediante tinción de núcleos para la caracterización del género *Rhizoctonia* (Parmeter y Whitney, 1970), fue un procedimiento confiable para distinguir especies del género, confirmando que un alto porcentaje de las muestras evaluadas pertenecían al género *Ceratobasidium* (= *Rhizoctonia* binucleada).

**Caracterización morfológica.** Las características iniciales a las 24 h evidenciaron un micelio color claro (blanco) en su mayoría (Cuadro 1), que después de 96 h tomó un aspecto marrón amarillento en todo el plato. Los esclerocios, al principio, fueron de color blanco pero posteriormente se tornaron de color marrón, sin forma definida, semiesféricos, globosos o de forma irregular, de base aplanada, de diferentes tamaños y en ciertas ocasiones con masas que le confirieron mayor tamaño. Ocasionalmente se observó una sustancia ámbar sobre los esclerocios, que, según Da Silveira et al. (2000), proviene de la cavidad de la masa de estas estructuras.

La caracterización cultural de color, forma y tamaño del micelio y esclerocios concuerda con la descrita por Perdomo et al. (2007), con diferencia en la producción de esclerocios, ya que estos autores evaluaron el comportamiento de 25 aislados de *R. solani* y todos produjeron estas estructuras de forma rápida, mientras que los aislados de *Ceratobasidium* sp usados en nuestro ensayo presentaron una baja producción de esclerocios (31,2 %); sólo cuatro aislados produjeron esclerocios. Es importante señalar que algunos de los aislados de *Ceratobasidium* sp tuvieron una tasa de crecimiento por encima de la cepa testigo P2AB2 de *R. solani*, lo cual es contrario a lo esperado, puesto que este último se presenta en campo como uno de los patógenos más importantes en maíz y otros cultivos (Ogoshi, 1987).

**Crecimiento micelial.** Se detectaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0,01$ ) para el crecimiento micelial en los diferentes aislados probados (Cuadro 2). La prueba de comparación de medias produjo como resultado diferentes lotes entre los que destacan un primer grupo que correspondió a los aislados M2C1, M4G4, M5B1, M1F3 y P2AB2 (testigo *R. solani*) con la mayor velocidad de crecimiento, con rango de medias de 4,1 a 4,6 cm en 96 h, un grupo de 9 aislados cuya velocidad de crecimiento fue intermedia, con rangos entre 2,4 cm y 4,0 cm en 96 h, y un grupo con velocidad de crecimiento menor, con rangos de 1,6 a 2,1 cm en 96 h correspondiente a los aislados M6C3, M5H1 y M4H2 (Cuadro 3). El grupo de los aislados que no crecieron, es decir M2G5, M2H5, M5D3, M3I3, M4C4, M5I2, M4F1, M3G5 y M2H1 no fueron incluidos en el análisis.

**Cuadro 1.** Caracterización morfológica de cultivos de *Rhizoctonia* binucleada que formaron esclerocios durante un período de cuatro días

Aislados	Tiempo total de colonización del medio (días)	Tiempo para formación de esclerocios (días)	Forma de los esclerocios	Color del micelio en medio de Cultivo
MIF3	3,30	3,0 (inmaduros)	Irregular	Crema
M2C1	1	3,0 (inmaduros)	Irregular	Blanco
M2C2	3	3,0 (inmaduros)	Irregular	Blanco
M4G4	2	3,33 (Inmaduros)	Irregular	Blanco
M5C5	2,33	4,0 (Inmaduros)	Irregular	Crema
P2AB2	2	3,33 (Inmaduros)	Irregular	Blanco

**Cuadro 2** . Cuadrados medios (CM) y probabilidad (P) del crecimiento micelial en PDA de los diferentes aislados de *Ceratobasidium* sp y *Rhizoctonia solani* a los cuatro días

FV	gl	CM	P
Aislados	25	888,408	0,000
Error	52	0,12474	

FV= fuente de variación; gl= grados de libertad; CV = 11,84 %

Se observaron cuatro aislados que superaron en velocidad de crecimiento al testigo P2AB2, seleccionado por ser una cepa de *R. solani* con desarrollo micelial intermedio-alto (Perdomo et al., 2007), lo que permite suponer que estos aislados de *Ceratobasidium* presentan una ventaja en la colonización del hospedante, lo cual es una característica distintiva de los aislados que mostraron mayor agresividad ante las líneas de maíz inoculadas en el trabajo citado anteriormente.

**Prueba de patogenicidad.** En el umbráculo los síntomas iniciales de la enfermedad se observaron en el punto de inoculación, comenzando como una mancha de color marrón muy claro cubiertas por un micelio de color blanco y apariencia algodonosa que a medida que transcurrieron los días fue tornándose a un color marrón oscuro. Las plantas fueron severamente afectadas por el hongo, el cual causó clorosis en el tejido de la vaina que fue avanzando a lo largo de ésta, pudiendo alcanzar la totalidad de las hojas en desarrollo hasta ocasionar necrosis y muerte de plantas (Figura 2).

Al estudiar los patógenos que conforman el complejo mancha bandeada del maíz Li et al.

(1998) designaron a las cepas de *R. solani* AG1-IA y *Rhizoctonia* binucleada AG-K como fuertemente y débilmente patógenicas, respectivamente. Sin embargo, *Rhizoctonia* binucleada en nuestras condiciones presentó la misma agresividad de *R. solani* AG1-IA, a diferencia de los resultados anteriormente señalados.

**Cuadro 3** . Crecimiento micelial en PDA de 16 aislados de *Ceratobasidium* sp. y *Rhizoctonia solani* a los cuatro días

Aislados	Crecimiento (cm en 96 h)
M2C1	4,60 a
M4G4	4,56 a
M5B1	4,56 a
M1F3	4,20 ab
P2AB2	4,10 ab
M5C5	3,93 abc
M5B5	3,20 bcd
M6G5	2,96 cde
M5F3	2,83 cdef
M4F4	2,80 def
M2C2	2,70 defg
M5A2	2,60 defg
M3C5	2,53 defg
M4I3	2,43 defg
M6C3	2,06 efg
M5H1	1,76 fg
M4H2	1,66 g

Promedios con las mismas letras no son estadísticamente diferentes, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

En el reaislamiento del patógeno, los segmentos de tejido lesionado cultivados en medio AA produjeron micelio que al teñirse con safranina O mostró hifas con células binucleadas, idénticas a las que le dieron origen. En el 100 % de los casos se logró reaislar células de *Rhizoctonia* binucleada por

lo cual quedó comprobado que el agente causal fue la especie *Ceratobasidium*.

Al cerrar el ciclo aislamiento - identificación inoculación - reaislamiento - identificación se puede decir con certeza que se está en presencia de un patógeno del maíz. En esta investigación no se encontraron cepas no patogénicas de *Rhizoctonia* spp aisladas de la filósfera que pudieran usarse como biocontroladores; sin embargo, no se descarta que puedan existir, tanto en filósfera como en la rizósfera de las plantas de maíz, cepas con propiedades de bioncontrol, como es el caso de la cepa hipovirulenta Rhv7 usada en el control de la mancha bandeada del maíz en Filipinas (Pascual et al., 2000).

En la prueba *in vitro*, los resultados de patogenicidad de los aislados de *Ceratobasidium* sp no fueron tan contundentes como los obtenidos en el umbráculo y no todos los aislados presentaron la capacidad de infección tan severa como se observaron en la mencionada prueba. Pocos aislados produjeron manchas durante el tiempo que duró la prueba; sin embargo, se pudo observar que los aislados que resultaron más agresivos en la prueba de las microcámaras fueron los que causaron manchas en las hojas, evidenciado por grados más altos en la escala de evaluación, obteniéndose porcentajes de daño mayores en las cepas de *Ceratobasidium* que en la cepa testigo P2AB2 (*R. solani* AG1-IA).

Se detectaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) para el desarrollo de la mancha en 16 aislados probados (Cuadro 4). La prueba de comparación de medias produjo como resultado tres grupos con características de crecimiento similar. Se diferenció un primer grupo que corresponde a los aislados M5C5, M1F3 y M4G4, el cual mostró el mayor porcentaje de daño al segmento de hoja colocado en la solución de cinetina; en un segundo grupo se encontró el aislado P2AB2, y por último el grupo donde se encuentran los aislados que no produjeron manchas a las hojas (Cuadro 5).

No fue posible determinar la causa por la cual el resto de las cepas no causaron daño al trozo de hoja durante la prueba *in vitro*; posiblemente el tiempo que duró la prueba (48 h) fue muy corto para el desarrollo de estas cepas, en comparación con los aislados que sí lograron producir las

manchas, evidenciado por la velocidad de crecimiento registrada (Cuadro 5).



**Figura 2 .** A. Daño causado por *Ceratobasidium* spp. en maíz consistente en clorosis del tejido de la vaina y de la hoja con avance vertical (indicado con la flecha). B. Necrosis total y muerte de la planta ante la cepa M4G4 de *Ceratobasidium* spp. (derecha) y la cepa P2AB2 de *R. solani* usada como testigo (izquierda).

**Cuadro 4 .** Cuadrado medio (CM) y probabilidad (P) de la patogenicidad *in vitro* de 16 aislados de *Ceratobasidium* y el testigo *Rhizoctonia solani* a los cuatro días

	FV	gl	CM	P
Aislamiento	16		2045,34	0,000
Error	34		19,61	

FV= fuente de variación; gl = grados de libertad; C.V.= 9,79 %

**Cuadro 5 .** Desarrollo de la mancha en la prueba *in vitro* de 16 aislados de *Ceratobasidium* sp en comparación con el aislado P2AB2 de *Rhizoctonia solani*

Cepa	Escala promedio	Longitud mancha (mm)	Observación
M5C5	4,33	70,0 a	<i>Ceratobasidium</i> sp
M1F3	3,66	60,0 a	<i>Ceratobasidium</i> sp
M4G4	4,00	63,3 a	<i>Ceratobasidium</i> sp
P2AB2	2,83	40,0 b	<i>R. solani</i> (Testigo)
Resto de cepas	0	0 c	No hubo crecimiento

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

No se encontró en la literatura pertinente información sobre una prueba *in vitro* similar para *Ceratobasidium* sp, y sólo se halló evidencia de su

uso en un estudio realizado por Ahuja y Payak (1981) para evaluar genotipos de maíz ante *Rhizoctonia solani*. Estos autores observaron que las lesiones aparecieron entre 1 y 2 cm del punto de inoculación y luego los síntomas de la enfermedad pasaron de pequeñas lesiones a un daño completo de la lámina foliar. Esta metodología también fue probada por Perdomo et al. (2007), quienes encontraron diferencias significativas en la virulencia entre las cepas de *R. solani* probadas en dos genotipos de maíz. Los resultados obtenidos en este ensayo concuerdan con los trabajos mencionados anteriormente, ya que las lesiones en la hoja comenzaron a aparecer como pequeñas manchas de color claro que al finalizar el periodo de incubación llegaron a afectar todo el segmento de hoja expuesto, en diferentes grados según el aislado.

### CONCLUSIONES

Las características, tanto microscópicas como morfológicas, descritas para cada uno de los aislados evaluados corresponden con el patrón de crecimiento del género *Rhizoctonia*, con diferencias entre ellos. Se comprobó la especie del patógeno, donde se pudo diferenciar *Rhizoctonia solani* (multinucleada) de la *Rhizoctonia* binucleada (*Ceratobasidium* sp). Algunos aislados del patógeno tuvieron una velocidad de crecimiento mayor a la cepa P2AB2 de *R. solani* AG1-IA usada como testigo. Las lesiones causadas por *Ceratobasidium* sp alcanzaron la misma altura que las producidas por el testigo y provocó la muerte de plántulas en algunos aislados. En la prueba *in vitro* el grupo de aislados más virulentos estuvo conformado por tres aislados de *Ceratobasidium* sp seguidos por *R. solani*. Se concluye que el género *Ceratobasidium* se encuentra involucrado en la sintomatología de manchas bandeadas en maíz en el estado Portuguesa, Venezuela.

### LITERATURA CITADA

- Ahuja, S. y M. Payak. 1981. A laboratory method for evaluating maize germplasm to banded leaf and sheath blight. *Indian Phytopath.* 34(1): 34-37.
- Cabrera, S. y P. García. 2000. Incidencia, severidad y efecto sobre el peso de la mazorca de maíz (*Zea mays* L.) de la Mancha Bandeada (*Rhizoctonia solani* Khün) en siembras comerciales del estado Portuguesa. V Jornada Científica Nacional del Maíz. Guanare. 101 p.
- Cardona, R., H. Rodríguez y H. Nass. 1999. Manchas bandeadas en maíz causadas por *Rhizoctonia solani* en Portuguesa, Venezuela. *Fitopatol Venez.* 12(3): 32-33.
- Da Silveira, S., A. Alfenas, F. Ferreira y J. Sutton. 2000. Characterization of *Rhizoctonia* species associated with foliar necrosis and leaf scorch of clonally-propagated eucalyptus in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 106(1): 27-36.
- González V., A.D. 2012. Métodos y reacción de cultivares de arroz y maíz a *Rhizoctonia solani*. Editorial Académica Española (Lap Lambert Academic Publishing GmbH & Co, Alemania). Saarbrücken. 177 p.
- Hyakumachi, M., A. Priyatmojo, M. Kubota y H. Fukui. 2005. New anastomosis groups, AG-T and AG-U, of binucleate *Rhizoctonia* spp causing root and stem rot of cut-flower and miniature roses. *Phytopathology* 95: 784-792.
- Jabaji-Hare, S. y S. Neate. 2005. Nonpathogenic binucleate *Rhizoctonia* spp. and benzothiadiazole protect cotton seedlings against *Rhizoctonia* damping-off and *Alternaria* leaf spot in cotton. *Phytopathology* 95: 1030-1036.
- Jia, Y., F. Correa-Victoria, A. McClung, L. Zhu, G. Liu, Y. Wamishe, J. Xie, M. Marchetti, S. Pinson, J. Rutger y J. Correll. 2007. Rapid determination of rice cultivar responses to the sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* using a micro-chamber screening method. *Plant Dis.* 91: 485-489.
- Ko, W. y F. Hora. 1971. A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* (61): 707-710.
- Li H., B. Wu y S. Yan. 1998. Aetiology of *Rhizoctonia* in sheath blight of maize in Sichuan. *Plant Pathology* 47: 16-21.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis intraespecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 125-143.
- Parmeter, J. y H. Whitney. 1970. Taxonomy and nomenclature of the perfect stage. In: J.

- Parmeter (ed.) *Rhizoctonia solani* Biology and Pathology. University of California Press. Berkeley, CA. pp. 7-19.
13. Pascual, C. B., A. D., Raymundo y M. Hyakumachi. 2000. Efficacy of hypovirulent binucleate *Rhizoctonia* sp to control banded leaf and sheath blight in corn. J. Gen. Plant Pathology 66: 95-102
14. Perdomo, R., A. Hernández, A. González, J. Pineda y J. Alezones. 2007. Caracterización y evaluación de virulencia en aislados de *Rhizoctonia solani* Kühn causante de la mancha bandeada del Maíz. Interciencia 32:48-55.
15. Poromarto, S., B. Nelson y T. Freeman. 1998. Association of binucleate *Rhizoctonia* with soybean and mechanism of biocontrol of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 88: 1056-1067.
16. Sneh, B., L. Burpee y A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* spp. The American Phytopathological Society Press, St. Paul Minnesota. 133 p.
17. Wen, K., P. Seguin, M. St. Arnaud y S. Jabaji-Hare. 2005. Real-time quantitative RT-PCR of defense-associated gene transcripts of *Rhizoctonia solani*-infected bean seedlings in response to inoculation with a nonpathogenic binucleate *Rhizoctonia* isolate. Phytopathology 95: 345-353.