

ASPECTOS DE LA BIOLOGÍA DE UN HONGO DEL GÉNERO *Rhizoctonia* Y DE SU INTERACCIÓN *in vitro* CON *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*

Biological aspects of one fungi *Rhizoctonia* and its *in vitro* interaction with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*

MARINA A. CORREA DE RESTREPO y ANGÉLICA PEÑUELA

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

RESUMEN

Se estudiaron diferentes aspectos de la biología de un hongo aislado de *Theobroma grandiflorum* (Spreng) K. Schum, tales como su comportamiento como antagonista en condiciones *in vitro* con *Fusarium oxysporum* Schlencht f. sp. *dianthi* (Prill y Del) Snyder y Hansen. Se encontró que el hongo cultivado en PDA, condiciones de microcultivo y luz natural a 20°C crece lentamente y produce abundantes filamentos monilioides; a 27°C y 30°C, crece rápidamente. En condiciones de oscuridad a 20°C, los resultados son similares a los obtenidos a 30°C en luz natural. Al término de un mes, el hongo produce esclerocios. En AMS, en cajas de Petri, luz natural y a 20°C, se observan "sectores" muy bien delimitados, lo que indica una fuerte y evidente variabilidad genética, demostrada en cambios fenotípicos. En AAg, el hongo crece pobremente. Los resultados obtenidos indican que en PDA, 30°C y condiciones de oscuridad, este hongo, *Rhizoctonia* sp., crece rápida y vigorosamente, produciendo abundantes conidias en sus esclerocios. Con relación a su comportamiento *in vitro* frente a *Fusarium oxysporum* Scht. f. sp. *dianthi*, *Rhizoctonia* sp crece con mayor rapidez y agresividad que *Fusarium oxysporum*, llegando a inhibirlo.

Palabras clave: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Theobroma grandiflorum*, Antagonismo. Filamentos monilioides.

ABSTRACT

Growth in different culture media and temperature as well as its antagonistic role against *Fusarium oxysporum* Schlencht f. sp. *dianthi* (Prill & Del) Snyder & Hansen, were studied on an isolated of the fungi *Theobroma grandiflorum* (Spreng) K. Schum. Low growth and the presence of abundant moniloid cells were detected when the fungi was cultured in PDA in microculture, with natural light and at 20°C. Higher temperatures (27°C and 30°C) increased growth rate. When cultured at 20°C, in darkness, similar results as those recorded at 30°C in natural light were found. After a month sclerotia growth was present. Culture in AMS in Petri dishes, with natural light at 20°C showed growth in patches which suggests phenotype variability. Poor growth was recorded when cultured in AAg. Our results showed that rapid and vigorous growth is obtained when the fungi is cultured in PDA at 30°C in darkness producing conidia and sclerotia. *T. grandiflorum* also has an antagonistic role against *F.oxysporum* sp. *dianthi*, growing faster and inhibiting its growth.

Key words: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Theobroma grandiflorum*, antagonism, moniloid cells.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las características biológicas de los hongos permite que se puedan llevar a cabo trabajos conducentes a su mejor aprovechamiento, entre otros, en los campos de la nutrición, el control biológico de enfermedades de plantas y en la salud. Se entiende que sin un previo estudio, la utilización de este recurso no dará resultados confiables. Teniendo en cuenta lo anterior, hacemos un aporte al conocimiento de la biología de un hongo que se aisló de la parte interna de frutos de *Theobroma grandiflorum* (Spreng) K. Shum., especie de origen amazónico que pertenece a la familia Sterculiaceae y a la cual se le da el nombre de “cupu” o “cupuaçu”. El fruto es una baya muy apreciada como alimento fresco o procesado por su alto contenido en proteínas, grasas y almidones. Con sus semillas se prepara un chocolate blanco de fina calidad. (Dittmar, 1953, Calzavara, 1970; Vasconcelos, 1975). Este trabajo se constituye en el primer reporte de un hongo del género *Rhizoctonia* atacando frutos de *T. grandiflorum*, procedente de la Amazonía colombiana, ya que se encontró, que a pesar de que especies de *Rhizoctonia* son reportadas, atacando diferentes especies de plantas, en diferentes estados vegetativos y reproductivos, en el caso de frutos originados por reproducción sexual, sólo hay evidencia del ataque a frutos de tomate y de pepino cocombro (Baker, 1970; revisado por Sneh *et al.*, 1996). Aunque este trabajo no tuvo como objetivo fundamental clasificar taxonómicamente el hongo, aspecto en el cual no se profundiza; en el capítulo de “Caracterización del hongo” hacemos un aporte a su posible ubicación dentro del complejo *Rhizoctonia*. En el control biológico de los fitopatógenos juegan, entre otros, un papel muy importante los hongos antagonistas debido a características tales como: crecimiento y desarrollo rápido, agresividad, persistencia y capacidad de colonizar el medio aún en condiciones de *stress* nutricional, estas características fueron evidentes en la especie *Rhizoctonia* aislada de *T. grandiflorum* razón por la cual decidimos que podría ser importante enfrentarla *in vitro* con *Fusarium oxysporum* Schlencht f. sp. *dianthi* (Prill y Del) Snyder y Hansen, el cual se trabajaba intensivamente en ese momento en nuestro laboratorio y como se conoce, es un fitopatógeno muy virulento que causa daños irreversibles en plantas de clavel para exportación y cuantiosas pérdidas a la industria de la floricultura en Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El fruto de *Theobroma grandiflorum* es una baya con un exocarpo duro y fibroso y un mesocarpo blando y jugoso. Los frutos aparentemente sanos en su parte externa, al partirlos presentaban un micelio color gris negruzco (Fig. 4A, pág. 50). El hongo se aisló en PDA de la parte interna del mesocarpo, del exocarpo y de las semillas. Se elaboraron micropreparados, microfotografías y dibujos de diferentes estados de crecimiento del hongo, se utilizó la tinción azul de lactofenol. Estos materiales se utilizaron para el trabajo de clasificación a nivel de género, haciendo uso de la clave de Barnett y Hunter, (1972) y la de Tu y Kimbrough, (1975). La clave de Sneh *et al.*

(1996) se utilizó para descartar la posibilidad de que se tratará de *R. solani*, patógeno de clavel. Para el aislamiento, conservación y propagación así como para el estudio de las características morfofisiológicas del hongo se utilizó el medio PDA. Para realizar las pruebas de crecimiento se utilizaron AMS y AAg como medios de cultivo. Con el fin de observar el crecimiento del hongo en sus fases vegetativas y reproductivas, se usaron cajas de Petri de 9 x 9 cm y microcultivos con los medios mencionados, variando las condiciones de luz y temperatura, de acuerdo a lo indicado en la Tabla 1. Las medidas de las colonias se realizaron en diferentes tiempos y fueron tomadas teniendo en cuenta el método multirradial (Baker y Cook, 1982).

Condiciones de luz	Temperaturas	
	15 - 20°C	27 - 30°C
Luz Día	PDA	PDA en cajas de Petri
	AMS	
	AAg	
Oscuridad	PDA	PDA en microcultivo
	PDA	PDA en cajas de Petri
Luz incandescente	PDA	PDA en microcultivo

PDA = Papa, dextrosa, agar. AMS = Agar, malta, sal. AAg = Agar, agua

Tabla 1. Condiciones de luz, temperatura y medios de cultivo en los cuales se estudiaron los aislamientos del hongo.

Para hacer los microcultivos se utilizaron láminas portaobjetos, tamaño estándar, sobre las cuales se colocaron bloques de PDA de 1x1 cm. A su vez estos montajes soportados por una varilla de vidrio doblada en U, se introdujeron en cajas de Petri de 14,5 cm de diámetro, en el fondo de las cuales se colocó papel filtro Whatman No. 4, se dejaron allí durante 144 horas, en las diferentes condiciones de luz y temperatura. Cada 24 horas se hicieron observaciones de los cambios ocurridos en las estructuras morfológicas del hongo, tales como tamaño de las hifas, coloración y otros aspectos, los cuales aparecen consignados en dibujos y fotografías. Para inducir la germinación de las clamidosporas, se hicieron diluciones del micelio de un cultivo joven en agua corriente (Saksena y Vaartaja, 1960), se colocaron pequeñas cantidades de la dilución en láminas portaobjetos excavadas. Todo el montaje se colocó en vidrios de reloj a manera de cámara húmeda, a 20°C y 30°C en luz natural y a 20°C y 30°C en oscuridad. Se hicieron 10 réplicas de cada montaje. Para observar la capacidad antagónica de *Rhizoctonia* sp. sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, en cajas de Petri de 9 x 9 cm con PDA se sembraron en puntos equidistantes los dos hongos y se dejaron a temperatura ambiente, haciendo observaciones periódicas (24, 65, 72, 89 y 162 horas) de su comportamiento. Se realizaron pruebas de tipo cualitativo, en donde se tomaron muestras del área de contacto entre los dos hongos, y del área de *Fusarium*, invadida por *Rhizoctonia* con los cuales se elaboraron los micropreparados. Para medir el grado de antagonismo, se construyó una escala por medio de la cual se calificó la invasión del antagonista (Tabla 2).

ESCALA	CARACTERÍSTICA
1	Invasión de 1/3 de la superficie del patógeno
2	Invasión de 1/2 de la superficie del patógeno
3	Invasión Total

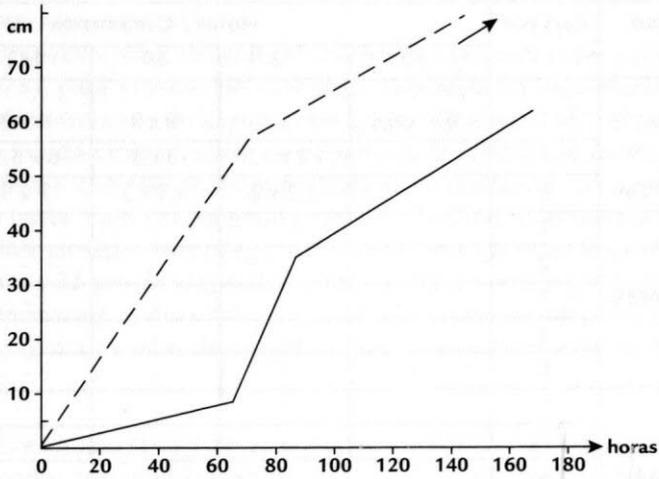
Tabla 2. Escala para medir el grado de invasión del antagonista sobre el patógeno

RESULTADOS

Se registra por primera vez a *Theobroma grandiflorum* como hospedante de *Rhizoctonia* sp. Al comparar los resultados obtenidos del desarrollo de las colonias del hongo en oscuridad y PDA (Tabla 3 y Fig. 1), se observa que entre 15-20°C, el crecimiento es lento, ya que a las 65 horas alcanza sólo un diámetro que va desde 2 x 2 cm a 3,8 x 3 cm a máximo 4 x 4 cm, de coloración blanca, mientras que a 30°C, a las 65 horas alcanza un diámetro promedio de 9 x 9 cm llenando la caja de Petri.

Tratamiento	Caja No.	Horas / Centímetros				
		24/cm	65/cm	72 /cm	89/cm	162/cm
Oscuridad 15-20°C PDA	1	-	-	1,6 x 1,7	2,1x 2	9 x 9
	2	2 x 2	2 x 2	2 x 2	2 x 2	2 x 2
	3	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	6, x 6	9 x 9
	5	-	3,8 x 3	-	7 x 7	9 x 9
	6	-	4 x 4	-	7 x 7	9 x 9
	7	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-
Oscuridad 27-30°C PDA	1	2,1 x 1,7	-	-	9 x 8	-
	2	-	9 x 9,	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	3	-	8 x 6	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	4	-	-	-	-	-
	5	-	9 x 9	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	6	-	-	-	-	-
	7	-	9 x 9	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	8	-	9 x 9	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	9	-	9 x 9	9 x 9	9 x 9	9 x 9
	10	-	8 x 8	9 x 9	9 x 9	9 x 9

Tabla 3. Crecimiento de las colonias de *Rhizoctonia* sp, cultivados en cajas de Petri con PDA en condiciones de oscuridad, a 15-20°C y 27-30°C.



GRÁFICA 1 Crecimiento micelial del hongo en la oscuridad a 15 - 20°C y 30°C
 — Osciuridadi, 15 - 20°C, PDA
 - - - Osciuridadi, 30°C, PDA

OSCURIDAD 15 - 20°C, PDA	65 horas/cm 8.26	89 horas/cm 35.1	162 horas/cm 63.6
OSCURIDAD	58.1	63.6	+ 70.0

Figura 1. Promedios de las medidas del diámetro de las colonias registradas en la Tabla 3.

Además de este rápido crecimiento a 30°C, se observan cambios morfológicos tales como:

- A las 65 horas el aspecto de la colonia es algodonoso muy denso, color gris claro al centro con bordes blancos; la coloración gris al centro indica el inicio de la maduración.
- A las 89 horas y 162 horas el aspecto de la colonia presenta un desplazamiento del crecimiento algodonoso hacia arriba, alcanzando la tapa de la caja; el color es ahora más intenso, indicando que el hongo ha alcanzado un mayor grado de madurez.
- Mientras que a 20°C a las 65 horas el aspecto es menos tupido que el caso anterior y el color de la colonia es blanco, lo que indica que no ha empezado la maduración del micelio, a las 89 horas el aspecto de la colonia y su coloración no sufren cambios significativos, la pigmentación oscura se inicia a las 62 horas indicando los diferentes grados de madurez del micelio.

En los resultados que se presentan en la Tabla 3 y la Fig. 1 se confirma que el crecimiento del hongo es más rápido, en condiciones de oscuridad, PDA 30°C. En el estadio juvenil su aspecto es algodonoso y de color blanco grisáceo; a medida que madura, el micelio toma un tono gris oliva y finalmente su coloración es negra. Cuando el hongo se cultivó en AMS y AAg (Tabla 4), presentó un crecimiento muy similar en centímetros, al de las 192 horas; sin embargo, el vigor del crecimiento, que se manifiesta en el micelio, es mayor en AMS que en AAg, pero sin alcanzar los resultados obtenidos al crecer en PDA.

Tratamiento	Caja No.	Horas / Centímetros				
		65	72	89	162	192
Luz día 30°C- PDA	1	6,7 x 6,6	-	9 x 9	9 x 9	9 x 9
Luz día 15-20°C-PDA	1	-	1,2 x 1,3	3 x 3	6 x 6,5	9 x 9
	2	-	1,2 x 2	3,5 x 3	7 x 5	9 x 9
Luz día 15-20°C-AMS	1	-	-	-	-	4 x 6
	2	-	-	-	-	4 x 6
	3	-	-	-	-	4 x 6
	4	-	-	-	-	4 x 6
	5	-	-	-	-	4 x 6
Luz día 15-20°C-AAg	1	-	-	-	-	5 x 5
	2	-	-	-	-	5 x 5
	3	-	-	-	-	5 x 5
	4	-	-	-	-	5 x 5
	5	-	-	-	-	5 x 5

PDA: papa dextrosa agar AMG: agar malta AAg: agar agua

Tabla 4. Crecimiento de las colonias de *Rhizoctonia* sp, cultivadas en cajas de Petri en diferentes medios de cultivo, condiciones de luz y a 15-20°C y 30°C.

CARACTERIZACIÓN DEL HONGO

La forma género *Rhizoctonia* fue creada por De Candolle (1815), para ubicar al patógeno radicular: *R. crocorum* D.C. ex.Fr.; desde entonces un número muy grande de hongos que producen un micelio estéril, han sido incluidos en este género (Tu y Kimbrough, 1975). De acuerdo a Sneh *et al.* (1996) el género *Rhizoctonia* es muy complejo desde el punto de vista taxonómico y se puede considerar como un grupo artificial. Según Tu y Kimbrough (1975) los criterios que permiten delimitar morfológicamente el género *Rhizoctonia* son: 1. La presencia de una hifa relativamente gruesa, que cuando es joven se ramifica formando un ángulo agudo, el cual pasa a ser recto al madurar el hongo; 2. En el estudio sobre el desarrollo y la ontogenia de los esclerocios. Ambos aspectos fueron considerados. Según Sneh *et al.*, 1996, las características relevantes del género *Rhizoctonia* son: El ángulo recto o casi recto distintivo que forma un patrón de ramificación *sui generis*, la presencia de septos doliporos, la ausencia de conexión en grapa o fibula y la constricción de la hifa en el punto de origen.

En el presente trabajo era muy importante tener claro que la especie de *Rhizoctonia* aislada de *T. grandiflorum*, no fuera *R. solani*, ya que esta especie es patogénica en clave, por lo cual consultamos a Sneh *et al.* 1996. Con relación a la especie, estos autores resaltan que lo más importante es si sus hifas son multinucleadas o binucleadas. En el caso de *R. solani*, son multinucleadas y en el caso de *Rhizoctonia* de *T. grandiflorum*, son binucleadas. No consideramos hacer pruebas de anastomosis ya que, según Vignalys y Cubeta (1994), éstas tampoco son contundentes porque el fenómeno puede deberse a incompatibilidad somática o vegetativa.

MORFOLOGÍA Y DESARROLLO DE LAS HIFAS

Se describe el desarrollo hifal, teniendo en cuenta la caracterización dada por Tu y Kimbrough (1975), para especies del complejo *Rhizoctonia*. La ramificación de hifas maduras se origina formando un ángulo entre agudo 30° a recto 45° . El primer septo en la ramificación está cerca al punto de origen donde también se forma una constricción. Inicialmente las hifas son delgadas hialinas aseptadas con un diámetro entre menos de $1 \mu\text{m}$ hasta $1 \mu\text{m}$ con longitud promedio de $5 \mu\text{m}$, posteriormente se hace apenas perceptible un septo hasta llegar a hifas maduras, de color marrón claro con $2 \mu\text{m}$ de diámetro y $35 \mu\text{m}$ de longitud. Paralelo a este desarrollo propiamente hifal, se observa la formación y desarrollo de unos filamentos monilioideos que posteriormente dan origen a cadenas de clamidosporas. Este desarrollo lo describimos en cuatro estadios:

ESTADIO NO. 1. Este estadio se caracteriza por presentar filamentos monilioideos hialinos, ondulados aseptados con un diámetro de $1 \mu\text{m}$ y $20 \mu\text{m}$ de longitud. Fue observado desde las 24 horas de cultivo en todas las condiciones y presentó la mayor ramificación de los filamentos monilioideos en condiciones de oscuridad (Fig. 2A desde a hasta h).

ESTADIO NO. 2. Los filamentos se van septando, engrosando y pigmentando, a partir de las 48 horas (Fig. 2A desde b hasta e y Fig. 4B, pág. 50). Se puede considerar este estadio como el inicio de la morfogénesis de clamidosporas.

ESTADIO NO. 3. Se observa la formación de cadenas de clamidosporas de diferente longitud donde cada unidad tiene un tamaño promedio de $2 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$, a partir de las 144 horas (Figs. 3A f y g. Fig. 4C, pág. 50).

ESTADIO NO. 4. Se observa diferenciación morfológica final de las clamidosporas después de haberse desprendido de los filamentos a través de la formación de un septo. (Figs. 2A f y h. Fig. 6B. Figs. 2B f y g).

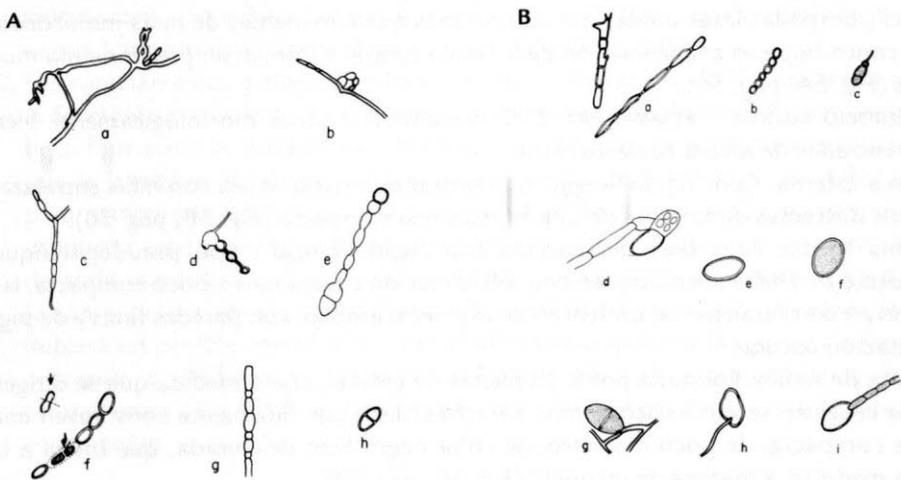


Figura 2 A. Filamentos cenocíticos ondulados a-b, se convierten en filamentos monilioideos desde c hasta g, que a su vez dan origen a clamidosporas f-h. B. Clamidosporas: Formación, liberación y germinación, diferentes etapas desde a hasta i. (Sin escala).

DESARROLLO Y ONTOGENIA DE ESCLEROCIOS DE *Rhizoctonia* SP.

El inicio de la formación de esclerocios en *Rhizoctonia* son filamentos moniloides que se van agrupando, dividiendo y ramificado, dando como resultado una masa de células. Podemos reconocer que hay cambios en la pigmentación y en el tamaño de las hifas: Inicialmente son claras, toman el color del colorante, aseptadas, un poco onduladas y delgadas; después se septan repetidamente encontrándose posteriormente estructuras de tipo clamidosporas en cadenas intercalares y terminales. El diámetro de las hifas aumenta pigmentándose sin asimilar el colorante (Fig. 6C, pág. 51).

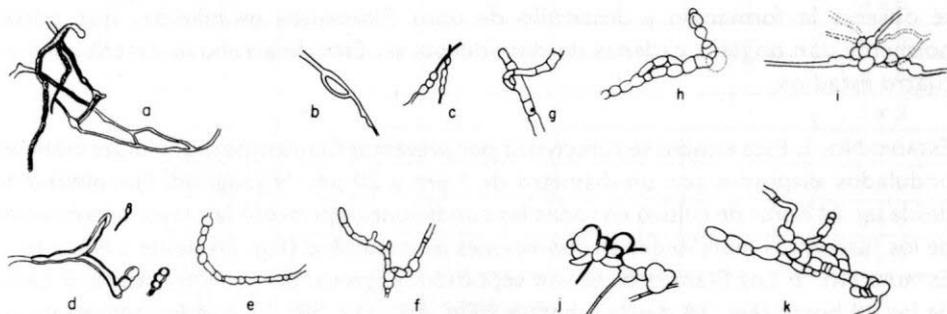


Figura 3. Formación de esclerocios; a partir de filamentos moniloides: diferentes fases desde a hasta k. (Sin escala).

ESCLEROCIO JOVEN - ESTADIO NO. 1. Tamaño promedio $6 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$. Es del tipo células moniloides, formando una trama hifal inicialmente floja, de pigmentación marrón claro (Fig. 4D, pág. 50 y Fig. 3 desde a hasta k).

ESCLEROCIO INTERMEDIO - ESTADIO NO. 2 Presenta al centro una estructura compacta formada por plecténquima de tipo pseudoparénquima. El área periférica continúa formada por células laxas unidas que no son más que remanentes de hifas moniloides, que contribuyeron a la formación de la trama central y forman un prosénquima muy flojo (Fig. 5A, pág. 50).

ESCLEROCIO MADURO - ESTADIO NO. 3. Se reconocen 4 zonas morfológicamente bien diferenciadas de afuera hacia adentro:

- Zona Externa: Con "tejido fungal" tipo prosenquimatoso o sea con hifas entrelazadas en diferentes direcciones de una forma poco compacta (Fig. 5B, pág. 50).

- Zona Media: Área bien diferenciada con "tejido fungal", tipo pseudoparénquimatoso o con hifas orientadas en una sola dirección de una forma poco compacta, las cuales en corte transversal presentan un diámetro amplio, con paredes finas y de pigmentación oscura.

- Zona de Anillo: Formada por 8-10 hileras de células, que a medida que se dirigen hacia el centro se van haciendo más estrechas hasta que finalmente constituyen una zona compacta, de poco diámetro, de color negro bien delimitada, que rodea a la zona medular, a manera de un anillo (Fig. 5C, pág. 50).

- Zona Medular: Esta zona se origina por el rompimiento de un área central formada por "tejido fungal" tipo pseudoparénquima, dando como resultado una cavidad donde se liberan numerosas clamidosporas maduras (Figs. 5D, pág. 50 y 6A, pág. 51).

CARACTERÍSTICAS DE LAS CLAMIDOSPORAS

En un estadio avanzado del desarrollo de los filamentos monilioides, se presenta una septación continua y acelerada de los septos a nivel intercalar y apical; a nivel de estos septos se presenta una constricción que avanza en dirección centripeta, de manera que los extremos de las clamidosporas se van redondeando, quedando conformadas las cadenas de estas estructuras (Figs. 2A c, e, f y g). En este estadio el diámetro de las clamidosporas es de $4 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$. Algunas se liberan de las cadenas y presentan una forma ovalada con paredes finas, sin septos con una zona central densa asimilando el color del azul de lactofenol (Fig. 6B, pág. 51), cuando maduran se observa la presencia de un septo transversal, una pigmentación más oscura con un diámetro promedio $7 \mu\text{m} \times 4 \mu\text{m}$ (Fig. 6D, pág. 51 y Fig. 2A h). Se observa germinación de las clamidosporas en agua corriente a una temperatura de 30°C a las 24 horas.

ENSAYO DE ANTAGONISMO ENTRE *Rhizoctonia* (AISLADA DE *Theobroma grandiflorum*) Y *Fusarium oxysporum* F. SP. *dianthi*

Aunque sabemos que las pruebas *in vitro* no son concluyentes en el control biológico de patógenos en el suelo, de acuerdo a Linderman *et al.* (1983), si se pueden considerar importantes como pruebas iniciales en que los procesos de antagonismo pueden jugar un papel relevante en el conocimiento de la dinámica entre sus componentes. En el presente trabajo tuvimos muy claro que el control biológico de los patógenos puede presentarse como muy eficiente en condiciones *in vitro* (Fig. 7B, pág. 51) sin que esto signifique necesariamente que ocurra igual en condiciones naturales.

Los siguientes aspectos nos permitieron pensar en la posibilidad de llevar a cabo un bioensayo para observar como se comportaban los dos hongos *in vitro*.

1. La certeza de que no era un patógeno del clavel, para la cual teníamos que descartar que se tratara de *R. solani* Kuhn, que aunque nunca ha sido reportada en *T. grandiflorum*, se sabe que una de sus razas produce en el clavel la enfermedad conocida como "marchitamiento lento", en Italia y Alemania. En Colombia se conoce como "chancro de la base del tallo" (Pardo-Cardona, 1995).
2. Las características biológicas del aislamiento de *Rhizoctonia* de *T. grandiflorum* son:
 - a. Su rápido crecimiento en diferentes condiciones de luz, humedad y temperatura.
 - b. La formación de esclerocios con características estructurales y funcionales tales, que le permiten al hongo permanecer en estado de dormancia, posibilitándolo para mantenerse en el medio por mayor espacio de tiempo.
 - c. Clamidosporas que producen tubos germinativos en agua en un tiempo relativamente corto considerando que *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, pueden vivir y esporular en agua, por lo tanto podría ser una posibilidad más, para tener en cuenta, en caso de que hubiera un posible control por parte de *Rhizoctonia* sp sobre la especie de *Fusarium oxysporum*.
 - d. *Rhizoctonia* y *Fusarium* son hongos del suelo y crecen bien a temperaturas entre 17 y 20°C .
 - e. Finalmente estos dos hongos tienen una distribución cosmopolita.

Los resultados observados fueron: Inicialmente *Fusarium* produce conidias en abundancia, posteriormente pierde la capacidad de esporular, la trama hifal propia disminuye, predominando el crecimiento de *Rhizoctonia* (Figs. 7A, D y C, pág. 51).

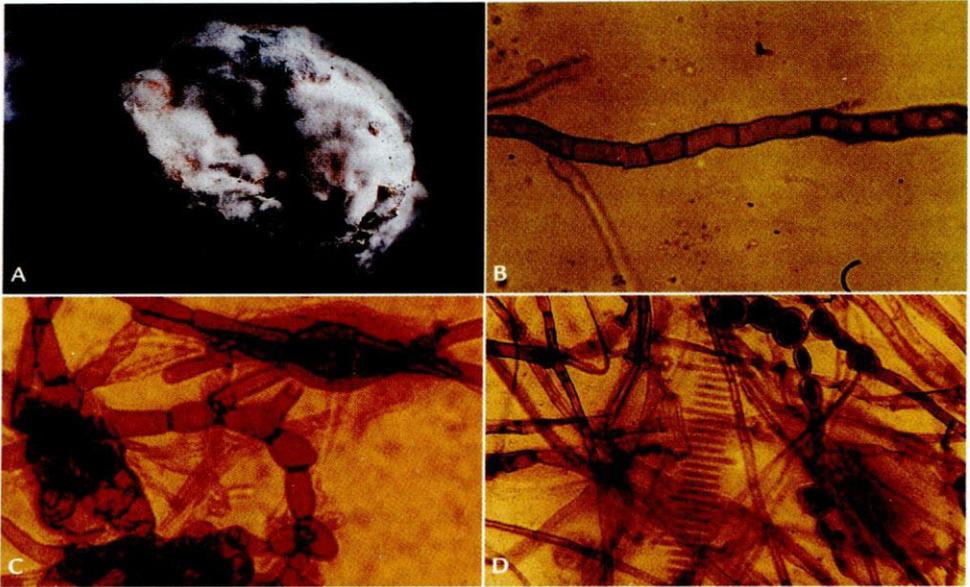


Figura 4 A. Baya de *T. grandiflorum* invadida por *Rhizoctonia* spp. B. Filamentos moniloides septándose (400X). C. Diferenciación de esclerocios jóvenes y formación de cadenas de clamidosporas (400X). D. Trama laxa de filamentos e hifas moniloides (400X).

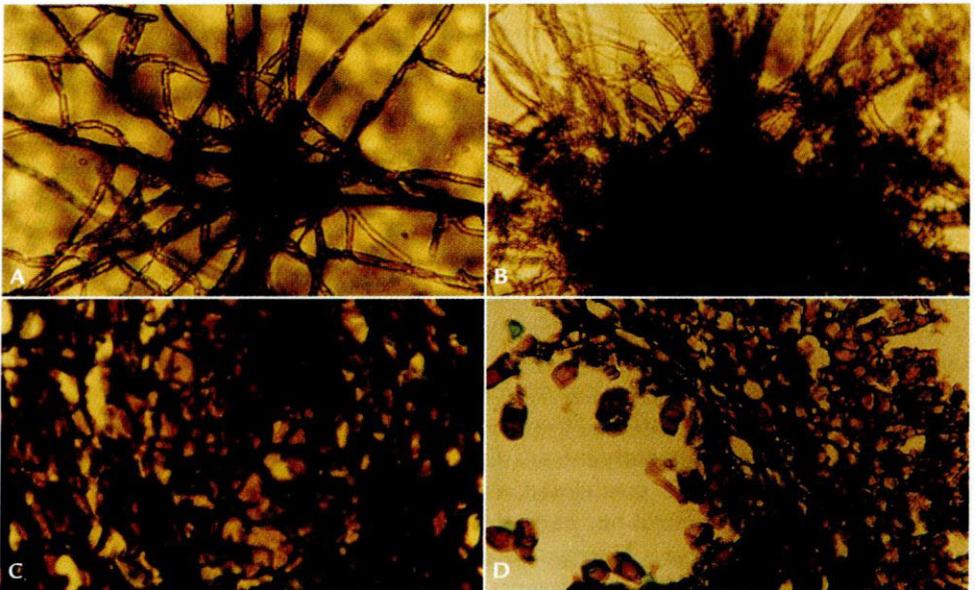


Figura 5 A. Estructura compacta de hifas moniloides (100X). B. Esclerocio maduro y liberación de cadena de clamidosporas (100X). C. Esclerocio Maduro: zona de anillo. D. Esclerocio maduro: zona medular.

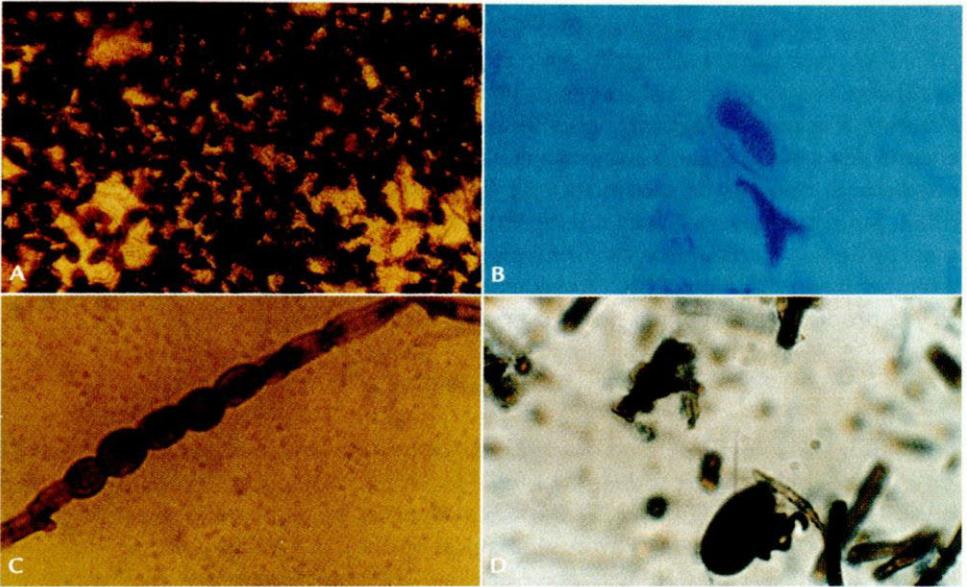


Figura 6 A. Esclerocio maduro y numerosas clamidosporas. B. Clamidospora joven etapas desde a hasta i (sin escala). C. Cadena de clamidosporas bien diferenciadas pero aún no liberadas. D. Clamidospora madura (400X).

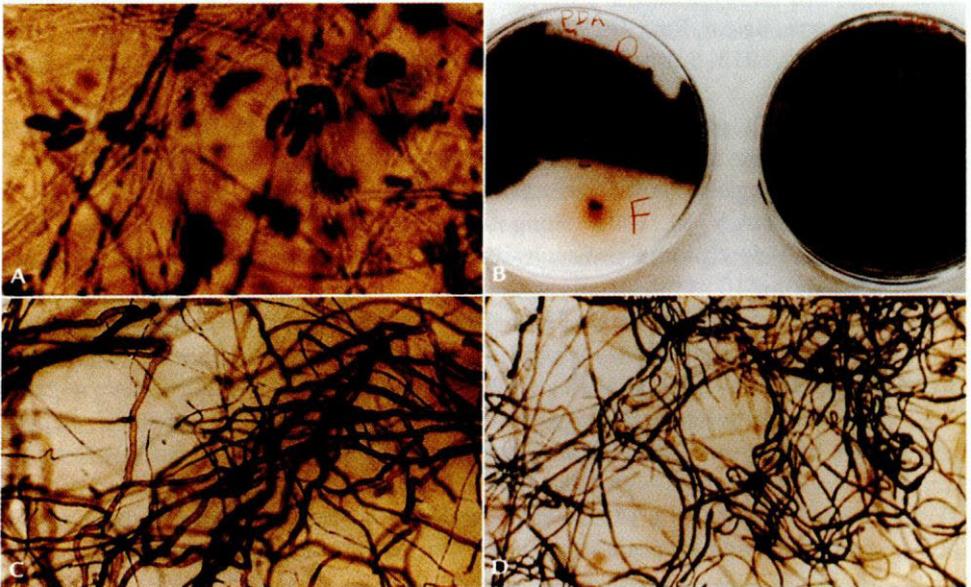


Figura 7 A. *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* produce inicialmente conidias. B. Pruebas de antagonismo *in vitro* *Rhizoctonia* sp. aislada de *T. grandiflorum* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Caja izquierda, *Rhizoctonia* cubre parcialmente a *Fusarium oxysporum*. Caja derecha, *Rhizoctonia* cubre totalmente a *Fusarium oxysporum*. C. *Rhizoctonia* sp. es más abundante que *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. D. No se observa formación de conidias en *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*.

CONCLUSIONES

Se registra por primera vez el ataque de un hongo perteneciente al complejo *Rhizoctonia* diferente a la especie *R. solani*, sobre frutos de *Theobroma grandiflorum*, especie vegetal encontrada en la Amazonía colombiana. Las observaciones realizadas indican que las condiciones óptimas de crecimiento de *Rhizoctonia* sp. estudiada, son 30°C y oscuridad. Sin embargo, crece bien a temperaturas de salón (20°C). Los datos obtenidos a partir de los microcultivos confirman los observados en las cajas de Petri. In vitro y a temperaturas de salón (20°C) *Rhizoctonia* sp. (de *T. grandiflorum*) inhibe el crecimiento y la producción de conidias de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*.

BIBLIOGRAFÍA

- BARNETT H. L. & HUNTER B. B. 1972. Illustrated Genera of Fungi Imperfecti. 3ª. Mac. Millan, New York.
- BAKER R. & COOK R. J. 1982. Biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota American Phytopathological Society. U.S.A 433 pp.
- BAKER K. F. 1970. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. In: Parmeter J. R. Jr. (ed.) *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology. (pp. 125-148). University of California Press, Berkeley, CA. USA.
- CALZAVARA B. B. G. 1970. Fruteiras: Abeiero abricozeiro, biribazeiro e cupuacuzeiro. Culturas da Amazonia. Instituto de Pesquisas y Experimentación Agropecuaria de Norte, Belem, Pará 1(2): 3-14.
- DITTMAR F. W. 1953. Sobre o aporetamento do cacau. Engenharia e Quimica. Jan. Hev.: 1-5.
- LINDERMAN R. G., MOORE L. W., BAKER K. F. & COOKSEY D. A. 1983. Strategies for detecting and characterizing systems for biological control of soilborne plant pathogens. Plant Diseases 67: 1058-1064.
- PARDO-CARDONA V. M. 1995. Hongos fitopatógenos de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Medellín. p 104.
- SAKSENA H. K. & VAARTAJA O. 1960. Descriptions of new species of *Rhizoctonia*. Canadian Journal of Botany. 38:
- SNEH B., JABAJI-HARE S., NEATE S. & DIJST Gerda (eds.). 1996. *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Papers from the second International Symposium of *Rhizoctonia* held in Noorwijkerhout, Netherlands. June 27-30 1995. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- TU C. C. & KIMBROUGH J. W. 1975 Morphology, development and cytochemistry of the hyphae and sclerotia of species in the *Rhizoctonia* complex. Can. J. Botany, 53: 2282-2296.
- VASCONCELOS M. N. 1975. Estudio químico das sementes do cupuaçu. Acta Amazónica 5(3): 293-295.
- VILGALYS R. & CUBETA M. A. 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. Ann. Rev. Phytopathol. 32: 135-155.