

**GRUPOS DE ANASTOMOSIS DE *Rhizoctonia solani* de LA
REGIÓN PAPERERA DE TOLUCA ESTADO DE MÉXICO Y
SUSCEPTIBILIDAD *In vitro* A FUNGICIDAS DE DIFERENTE
GRUPO TOXICOLÓGICO**

Francisco Daniel Hernández Castillo
Melchor Cepeda Siller
Jesús García Camargo
Araceli Pérez Chávez.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

RESUMEN

Este trabajo reporta la identificación de los grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* en seis regiones muestreadas para la región papera de Toluca estado de México, así como los niveles de tolerancia *in vitro* de *R. solani* a fungicidas de diferentes grupos toxicológicos. Los resultados mostraron que en esta región papera se encuentran tres grupos de anastomosis, tales como: GA 3, GA 5 y GA 7. De los cinco fungicidas usados se encontró que todos los aislamientos se comportaron susceptibles a los ingredientes activos, evaluados *in vitro*.

Palabras clave. *Rhizoctonia solani*, grupos de anastomosis, susceptibilidad, *in vitro*, papa.

ABSTRACT

This works reports the identification of the group of *R. solani* anastomosis in six sampled regions at the potato producing region of Toluca state in Mexico as well as the tolerance *in vitro* levels to fungicides of different toxicologic groups. The results showed that in that region were found three groups of anastomosis such as: AG 3, AG 5 and AG 7. From the five fungicides used in this assay it was found that all the isolations showed susceptibility to the active ingredients evaluated *in vitro*.

Key words. *Rhizoctonia solani*, groups of anastomosis, susceptibility, *in vitro*, potatoes.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es considerada como parte fundamental de la dieta alimenticia mundial, las zonas que han destacado en producción son los países europeos, asiáticos y americanos. Dentro de estos últimos se encuentra México, con las zonas productoras que se ubican en los valles altos de Toluca Edo. de México, Hidalgo, El Bajío, Tlaxcala, Chihuahua, Coahuila y Nuevo León.

Hasta 1997, la producción nacional en México se extendió a 52,207 ha, en 22 estados del territorio nacional, con un promedio de 20 t ha⁻¹ (CONPAPA, 1999).

El cultivo de papa está expuesto a una gran diversidad de ataques de enfermedades fungosas que producen pérdidas en rendimiento y calidad. La enfermedad ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani* causa uno de los daños mas importantes al cultivo, y está presente en todas las áreas productoras del mundo. Este hongo causa cáncer de tallo y estolón, así como la costra negra sobre los tubérculos, además de que retarda la emergencia de los brotes, reduce el vigor de las plantas y, frecuentemente, produce tubérculos agrietados o deformados. Esta enfermedad se manifiesta en los tallos, raíces, estolones y tubérculos, ocasionando pérdidas que varían del 7 al 64 % de la producción. *R. solani* se encuentra dividida en 11 grupos basados en su anastomosis hifal y estos grupos de anastomosis presentan diferencia en patogenicidad, respuesta a temperatura, textura de suelo y sensibilidad a fungicidas. Por lo anteriormente expuesto, este trabajo se realizó bajo los siguientes objetivos: determinar los grupos de anastomosis de *R. solani* de la región papera de Toluca Edo. de México; y determinar los niveles de sensibilidad *in vitro* de los diferentes aislamientos de *R.*

solani de Toluca Edo. de México a fungicidas de diferente grupo toxicológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología y Cámaras Bioclimáticas del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), durante el período de 1998 a 1999. La primera parte del trabajo, que fue la colecta del material enfermo, se llevó a cabo en las zonas paperas de San Pedro Tejalpa, Metepec, San Juan de los Huertos, Ojo de Agua, Temascaltepec, y en el mercado de Toluca Edo. de México. El material colectado se trasladó al Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN.

El muestreo se realizó en forma dirigida en áreas cultivadas con papa, en donde se colectaron tubérculos y tallos, con síntomas de la enfermedad, para posteriormente trasladarlos al laboratorio en bolsas de plástico, debidamente etiquetadas. Para realizar los aislamientos, se lavaron las muestras en agua corriente y, en seguida, se trabajó bajo condiciones de laboratorio, en una cámara de flujo laminar; las partes del tejido infectado, fueron cortados en pequeños trozos de 1 cm aproximadamente, y se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio, al 3 % durante 3 min y, posteriormente, se enjuagaron en agua destilada estéril. Los trozos desinfectados se colocaron en papel secante estéril, y se depositaron en cajas petri, con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y se incubaron por 48 h a 20°C.

Después se realizaron aislamientos por punta de hifa, que consistió en observar el crecimiento bajo el microscopio estereoscópico para identificar una hifa, y se transfirió a una

caja petri con medio de cultivo PDA, para incubarse a 20°C, hasta observar nuevamente el crecimiento micelial. Al ocurrir lo anterior, se realizó una segunda purificación por punta de hifa, finalmente, las muestras se incrementaron en medio de cultivo, y se incubaron a la temperatura señalada. Para la identificación de *R. solani*, fue necesario el teñido de hifas jóvenes con safranina, para facilitar el conteo de núcleos y medición del diámetro de hifas, las observaciones se realizaron en el microscopio compuesto con el objetivo de 100X. Las características bajo observación fueron: número de núcleos, color del micelio, diámetro de la hifa, observación de la ubicación del septo, verificación de la ausencia de conidias, construcción en la ramificación cercana al punto de origen, y caracterización de la forma y tamaño, y color de los esclerocios. Tomando en cuenta las características anteriores se obtuvieron 40 aislamientos, los cuales se conservaron en semillas de trigo.

Para la determinación de los grupos de anastomosis (GA) de *R. solani*, se llevó a cabo, mediante una confrontación de los grupos de referencia importados de The American Type Culture Collection, de los Estados Unidos, por medio del método del portaobjetos estéril, colocando las cepas a 3 ó 4 cm de separación uno del otro. Para ello, primero se cubrió el portaobjetos con una capa delgada de agar bacteriológico, al 3 %. Las confrontaciones se incubaron a 20°C por 48 h en oscuridad total, y al ocurrir el traslape de hifas, se observaron tres puntos para determinar la reacción positiva (fusión perfecta), o la reacción negativa (no fusión), al microscopio compuesto con aumento 100X.

Para determinar la susceptibilidad de *R. solani* a fungicidas, se emplearon los siguientes ingredientes activos: Tolclofos methyl, Fludioxonil, Iprodione, Pencycuron y Benlate. El medio de cultivo PDA se esterilizó por el método de vapor húmedo, utilizando una olla

de presión. El tiempo de esterilización fue 15 min, a una presión de 15 lib/pul, se dejó enfriar el medio de cultivo a temperatura ambiente, y al bajar aproximadamente a 45°C, se le añadieron 25 gotas de ácido láctico por l de medio, y posteriormente se agitó, para la preparación de diluciones del estudio de susceptibilidad. El medio que contenía el ácido láctico, se adicionó al fungicida, realizando las operaciones necesarias para cada fungicida usado, y concentración a evaluar. Las diferentes concentraciones se vaciaron en cajas petri, se dejaron reposar por 24 h, y posteriormente se sembraron los aislamientos mediante explantes de micelio de 0.4 cm de diámetro. Para cada tratamiento se realizaron tres repeticiones, se incluyó un testigo sin fungicida, las cajas petri, se incubaron por 72 h a 20°C. Transcurrido ese tiempo, se efectuó la medición del crecimiento micelial del hongo, en las diversas concentraciones, empleando un vernier de precisión. Con los datos se calculó el porcentaje de inhibición, usando la siguiente fórmula.

Porcentaje de inhibición = 100 (testigo) – porcentaje del crecimiento miceliano

El análisis de datos se realizó con un programa estadístico Probit computarizado, para obtener los coeficientes de inhibición (CI_{50} y CI_{90}), necesarios para calcular el FR o factor de resistencia, con la siguiente fórmula:

$$FR = \frac{CI_{50} \text{ (aislamiento en estudio)}}{CI_{50} \text{ (aislamiento mas resistente)}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 40 aislamientos de cepas de raíz, tubérculo y estolón, de seis regiones productoras de papa. Todos estos, correspondientes a *R. solani*. Estos fueron identificados según sus características morfológicas y fenotípicas (Alexopoulos y Mins, 1979, y Romero 1993).

Los aislamientos estudiados, se caracterizaron por presentar de 10 a 16 núcleos, obteniéndose un promedio de 16 núcleos. El diámetro de los diferentes aislamientos, varió de 9.8 a 12.5 micras; el color del micelio, fue de color café castaño a café dorado; el tipo de crecimiento del micelio, fue de ligeramente no uniforme, y de tipo rastrero.

Los resultados obtenidos al confrontar los grupos de anastomosis de *R. solani* de referencia, con los aislamientos de la región papera de Toluca Edo. de México, indican que en esa región se encuentran los siguientes grupos de anastomosis: GA 3, GA 5 y GA 7, de éstos, predomina con un 80 % el GA 3, coincidiendo con lo reportado para el cultivo de papa (Anderson, 1982), es notorio además, que este GA se encuentra en las seis regiones muestreadas. El GA 7 se encontró en una proporción de 17.5 % de las regiones muestreadas, el GA 5, se presentó en una proporción de 2.5, y sólo en una localidad; los GA 7 Y 5, también coinciden con lo citado por Alonso *et al*, (1994) para Coahuila y Nuevo León.

En los estudios de susceptibilidad, se obtuvieron valores de la CI_{50} para el Tolclofos methyl, que variaron de 0.01 a 0.08, donde ninguno de los aislamientos fue igual a la unidad; el FR varió de 0.03 a 0.33, para los aislamientos tratados con este ingrediente

activo; los aislamientos tratados con Benomyl, su Cl_{50} , fue de 0.07 a 0.91, y el FR de 0.078 a 0.88; mientras que el Pencycuron, fue de 0.07 a 1.56, y su FR de 0.06 a 0.87; y el Fludioxonil se Cl_{50} , fue de 0.013 a 0.17, mientras que el FFR fue de 0.076 a 0.9. Pudimos observar una diferencia con el Iprodione, donde su Cl_{50} fue de 3.21 a 29.23, y su FR de 0.127. Todos los productos mostraron inhibición a bajas concentraciones, a excepción del Iprodione, donde observamos, que aceptaba un poco mas del ingrediente activo, para poder inhibir su crecimiento micelial; aun así, 10 aislamientos se consideran susceptibles al Iprodione, y ningún aislamiento presentó resistencia a ningún ingrediente activo; todos se consideraron susceptibles bajo condiciones *in vitro*.

CONCLUSIONES

Existen tres grupos de anastomosis (GA) de *R. solani* para la región papera de Toluca Edo. de México, las cuales son: GA 3, GA 5 y GA 7.

Los grupos de anastomosis existen en las siguientes proporciones GA-3 = 80, GA-7 = 17, GA-5 = 2.5.

Se considera que *R. solani* es susceptible a todos los fungicidas estudiados, bajo condiciones *in vitro*, para la región en estudio, ya que sus límites fiduciales se ubican en: el Tolclofos – Methyl, su límite fiducial varía de 0.001 a 1 ppm; Benomyl, su límite fiducial varía de 0.01 a 2 ppm; Pencycuron, sus límites fiduciales se ubican en 0.01 y 2.5 ppm; Fludioxonil, sus límites fiduciales están ubicados en 0.001 y 1 ppm; Iprodione, sus límites fiduciales se ubican en 0.1 y 10 ppm.

LITERATURA CITADA

Alexopoulos, C. J. y C. W. Mins. 1979. Introductory mycology. 3 th. Edition Wiley & sons. U.S.A. 632 p.

Alonso, C. Z, D. Hernández, C. Frías , T. 1994. Determinación de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* en papa en Coahuila y Nuevo León México. Memorias del XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Pag. 91 .

Anderson, N. A. 1982. The genetic and pathology of *Rhizoctonia solani*. Ann. Rev. Phytopathology. 20: 329. 374p.

Confederación Nacional de Productores de Papa de la Republica Mexicana (CONIDAPA). Boletín puras papas, Febrero 1999. Impreso en México. Pag. 23.

Romero, C. S. 1993. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México, D. F. 341p.