
GRUPOS ANASTOMOSICOS DE *RHIZOCTONIA SOLANI* KÜHN QUE ATACAN PAPA, FRIJOL Y HABA EN CUATRO MUNICIPIOS DEL ESTADO DE MÉXICO Y CHILE EN SAN LUIS POTOSÍ

RUBÉN ELIAS-MEDINA¹
FRANCISCO PONCE-GONZÁLEZ¹
SEBASTIÁN ROMERO-COVA¹

¹ Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma de Chapingo.
Km 38.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230, Chapingo, México.

ABSTRACT

GROUPS OF ANASTOMOSIS IN *RIZOCTONIA SOLANI* KÜHN ATTACKING POTATO, BEAN AND BROADBEAN IN FOUR COUNTIES OF ESTADO DE MÉXICO AND PEPPER IN SAN LUIS POTOSI. *Rev. Mex. Mic.* 13: 33-40 (1997). Thirty nine isolates of *Rhizoctonia solani* attacking potato, bean and broad bean were collected in different counties of Mexico state and one pepper isolate in San Luis Potosi. The number of nuclei per cell of these isolates was determined as well as their anastomosis group. To determine the anastomosis group the isolates were paired with "tester strains" on cellophane paper covered with a thin layer of water-agar (2%) in sterile Petri dishes. The potato, bean and pepper isolates showed multinucleate cells and were identified as *Rhizoctonia solani*. The 37 potato isolates had characteristics of the anastomosis group AG 3, and the pepper and bean isolates of the anastomosis group AG 4. However, the broad bean isolate showed binucleate cells and, therefore, it was identified as binucleate *Rhizoctonia* sp.

Key words: *Rhizoctonia solani*, anastomosis groups, potato, pepper, bean, broad bean.

RESUMEN

Se colectaron 39 aislamientos de *Rhizoctonia solani* que atacan papa, frijol y haba en diferentes municipios del estado de México y uno de Chile en San Luis Potosí. Se determinó el número de núcleos por célula de estos aislamientos, así como su grupo de anastomosis. Para determinar el grupo de anastomosis, los aislamientos se aparearon con "cepas testigo" en papel celofán cubierto de una capa delgada de agua-agar al 2% en cajas de Petri de plástico estériles. Los aislamientos de papa, frijol y Chile mostraron células multinucleadas y se identificaron como *Rhizoctonia solani*. Los 37 aislamientos colectados de papa fueron miembros del grupo de anastomosis AG 3. Los aislamientos de Chile y frijol fueron ubicados en el grupo AG 4. El aislamiento de haba presentó células binucleadas y se identificó como *Rhizoctonia* sp. binucleado.

Palabras clave: *Rhizoctonia solani*, grupos de anastomosis, papa, Chile, frijol, haba.

Introducción

La papa se considera como uno de los productos hortícolas más importantes en la alimentación humana; representa el 37.7% de la producción mundial de hortalizas, que se estima en 700 millones de toneladas, ubicándola en primer lugar. En México, este cultivo ocupa el quinto lugar en cuanto a superficie sembrada, lo superan solamente el maíz, frijol, arroz y trigo; entre las hortalizas sólo el jitomate y Chile verde ocupan una mayor superficie, y en producción

sólo es superado por el jitomate. Actualmente, se siembran alrededor de 80 mil ha, de las cuales aproximadamente el 65% se encuentran en la región de las Sierras y Valles Altos en donde destacan por su producción los Estados de Puebla, México, Tlaxcala y Veracruz (Anónimo, 1994).

Dentro de la problemática que presenta el cultivo de papa en México, el aspecto fitosanitario es el de mayor importancia y la forma de propagación

(vegetativa), juega un papel muy importante, al ser el principal mecanismo de diseminación de enfermedades, como es el caso de algunos virus, bacterias y hongos. La enfermedad conocida con el nombre de "costra negra", cuyo agente causal es el hongo *Rhizoctonia solani*, es especialmente favorecida por esta característica y actualmente en México, se considera la principal enfermedad ocasionada por hongos del suelo que atacan al cultivo de papa, por reducir los rendimientos y sobre todo la calidad de la producción. Además, las medidas de control no han logrado disminuir de manera satisfactoria la incidencia del patógeno.

En el "complejo *Rhizoctonia*" la especie más importante es *Rhizoctonia solani*, descubierta y descrita por Kühn en 1858 en Alemania. Esta especie incluye cepas que varían considerablemente en cuanto a su patogenicidad, morfología de los esclerocios, apariencia en medio de cultivo y características fisiológicas, entre otras, situación que ha generado problemas en cuanto a su control. Debido a esto, se ha intentado agrupar de una manera lógica a cada uno de los aislamientos, y para ello se han utilizado dos técnicas: 1) la basada en las diferencias en patogenicidad, apariencia en medio de cultivo, características morfológicas, fisiológicas y de ecología; y 2) la basada en la reacción de anastomosis hifal (fusión de hifas) en medio de cultivo (Cedeño, 1987; Ogoshi, 1987).

El concepto de anastomosis como criterio taxonómico fue propuesto por Matsumoto en 1932 y desde su introducción ha sido el avance más importante en el entendimiento y comprensión de la diversidad genética de *R. solani*. La anastomosis se define como la fusión de hifas con intercambio de núcleos entre hifas de un mismo grupo, aunque, puede existir fusión entre hifas de aislamientos diferentes, pero esto no es muy frecuente (Vilgalys y Cubeta, 1994; Anderson, 1986). A los aislamientos clasificados de esta forma se les conoce como grupos de anastomosis (AG, por sus siglas en inglés).

En la identificación de los aislamientos por anastomosis, es necesario aparear los aislamientos de campo con "cepas testigo" ya determinadas y, posteriormente, evaluar e interpretar las reacciones citológicas que se observan en la zona de confrontación. Esta zona incluye el área donde las hifas de los dos aislamientos entran en contacto. Los aislamientos se colocan a una distancia de 3 a 4 cm. uno del otro y las mediciones se realizan entre las 48 y 72 hrs. Exis-

ten tres métodos comúnmente utilizados para determinar el grupo de anastomosis y algunos de ellos permiten conocer, al mismo tiempo, el número de núcleos por célula: 1) papel celofán cubierto con una capa de agua-agar al 2% en cajas de Petri, 2) portaobjetos cubiertos con una capa delgada de agua-agar colocados en cajas de Petri con una capa de agua-agar al 2% y 3) portaobjetos estériles con una capa de agua-agar al 2% colocados en una cámara húmeda (Parmeter *et al.* 1969; Herr y Roberts, 1980; Castro *et al.* 1983; Kronland y Stanghellini, 1988). Las sustancias más utilizadas en la tinción de núcleos son: azul de trifano y safranina O (Herr, 1979; Kronland y Stanghellini, 1988).

Carling (1996) y MacNish *et al.* (1993), describen cuatro categorías (C0, C1, C2 y C3), de reacciones observadas en la zona de confrontación y que hasta la fecha son las más utilizadas en la identificación de grupos de anastomosis. Estas categorías describen con mayor precisión los diferentes tipos de reacciones y permiten hacer una mejor identificación de los aislamientos.

Se han descrito 12 grupos de anastomosis, los cuales varían ampliamente en su patogenicidad, rango de hospedantes, requerimientos de temperatura y sensibilidad a los fungicidas (Sneh *et al.* 1991; Carling y Sumner, 1992; Ueyama *et al.*, 1993; Olaya *et al.*, 1994). Aunque se ha determinado que el grupo AG 3 es el que ocasiona los daños más importantes en papa, existen reportes en donde se han encontrado, aunque en menor proporción, a los grupos AG 2-1, AG 4 y AG 5 (Carling y Leiner, 1990a y 1990b; Rocha *et al.*, 1995; Virgen *et al.*, 1996).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el grupo de anastomosis de aislamientos de *R. solani* que atacan papa, chile, frijol y haba.

Materiales y métodos

Muestreo y colecta del material

El estudio se llevó a cabo principalmente en la zona papera representativa del Estado de México, para lo cual se realizaron muestreos a partir de 1995, en los municipios San Felipe del Progreso, Calimaya, San Miguel Balderas y Zinacantepec, ubicados en la parte norte del Estado.

Con el fin de obtener muestras representativas de cada lugar, se eligieron parcelas al azar. Cada muestra estuvo compuesta de tallos afectados por la en-

fermedad y tubérculos con esclerocios; sin embargo, es necesario señalar que en Zinacantepec se colectaron tallos jóvenes; mientras que en las demás localidades se colectaron tallos maduros. Cada muestra se colocó en una bolsa de plástico y se etiquetó. Se colectaron un total de 37 muestras, mismas que se procesaron en el laboratorio de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

Se obtuvieron, además, aislamientos de *R. solani* de plantas de haba y frijol, colectadas en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo y un aislamiento de chile, colectado en San Luis Potosí.

Aislamiento del patógeno.

Los tallos y tubérculos colectados se lavaron con agua de la llave para eliminar impurezas, se cortaron trozos pequeños de la parte de avance de la infección en tallos y en tubérculos se cortó la zona donde se encontraban esclerocios; se pusieron en hipoclorito de sodio al 1% durante 1.5 min; luego se lavaron con agua destilada estéril; se colocaron sobre un papel filtro estéril y posteriormente se depositaron en cajas de Petri con medio PDA. Una vez que se observó el crecimiento del hongo, se transfirió a PDA para tenerlo libre de contaminantes.

Aislamientos de puntas de hifas.

En hongos que forman esporas se conoce como "cultivos monospóricos" a aquellos cultivos obtenidos a partir de esporas individuales. Ahora bien, debido a la ausencia de esporas en *R. solani*, los cultivos que reúnen características similares se obtienen a partir de puntas de hifas y la finalidad en estudios de identificación de grupos de anastomosis es prácticamente la misma y el término que los define es "cultivos de puntas de hifas".

Para obtener los cultivos de puntas de hifas, cada aislamiento de campo se transfirió por separado a una caja de Petri cubierta con una capa delgada de agua-agar al 2%, debido a que el hongo crece menos denso que en PDA y, por lo tanto, facilita la ubicación de las puntas de las hifas; las cajas se incubaron durante 48 hrs y, posteriormente, con una aguja delgada estéril se cortó una punta de hifa, se transfirió a agua-agar al 2% y una vez que se observó el crecimiento se realizaron dos transferencias a cajas de Petri con este mismo medio, para evitar el crecimiento de hongos contaminantes. Posteriormente, se pasó a PDA, renovándose cada cuatro semanas con medio hasta que se realizaron los apareamientos. Para facilitar la obser-

vación de las puntas de las hifas se utilizó un microscopio estereoscópico.

Determinación de la condición nuclear.

Una característica de *R. solani* es que presenta células multinucleadas, es por esto que, antes de determinar el grupo de anastomosis de un aislamiento de campo, es necesario conocer el número de núcleos por célula. El procedimiento fue el siguiente: En un portaobjetos se colocó una gota de hidróxido de potasio al 3%, una gota de safranina alcalina y sobre ésta, se colocó una parte de micelio de la zona de avance del crecimiento en el medio de cultivo; debido a que las hifas jóvenes se tiñen más fácilmente, se colocó un cubreobjetos y se dejó reposar 10 min; transcurrido este tiempo se observó al microscopio compuesto con el objetivo de 40X. Los núcleos se observaron como puntos de color rojo oscuro.

Determinación del grupo de anastomosis.

La determinación de grupos anastomóticos se realizó en octubre de 1996, en el Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), Unidad Irapuato, utilizando las "cepas testigo" que este Centro posee. Se siguió el método de papel celofán cubierto de una capa delgada de agua-agar al 2% en cajas de Petri de plástico estériles, propuesto por Parmeter *et al.* (1969).

Las tiras de papel celofán se esterilizaron en una caja de Petri, colocando en ésta, capas de tiras del papel celofán separadas por papel absorbente. Para cada cepa se usaron como máximo 6 tiras de papel celofán.

En las cajas de Petri de plástico se vació una capa delgada de agua-agar al 2% tratando solamente de cubrir el fondo de la misma; se dejó solidificar esta capa y se colocaron tres tiras de papel celofán, orientadas hacia el centro de la caja; finalmente, sobre estas tiras de papel, se colocó otra capa delgada de agua-agar.

La elección de las "cepas testigo" utilizadas para determinar el grupo de anastomosis se hizo de acuerdo al hospedante y a las características de crecimiento en medio de cultivo de los aislamientos de campo. En base a esto se eligieron los grupos AG 3, AG 4, AG 5 y AG 7, que ya habían sido reportados por Virgen *et al.* (1996) y Rocha *et al.* (1995), para aislamientos de papa de diferentes regiones de México.

Los aislamientos de campo y las "cepas testigo" se transfirieron a PDA y se incubaron a temperatura ambiente durante 3 días; después de esto, del margen

de crecimiento del aislamiento de campo se tomó un trozo de micelio y se colocó en el centro de la caja de Petri. Con la finalidad de que la zona de traslape se presentase sobre la tira de papel celofán, en la misma caja se colocó un trozo de una cepa testigo en cada uno de los extremos de los tres papeles de celofán, teniendo así tres repeticiones en cada aislamiento de campo para cada cepa testigo. Las cajas se incubaron a 24 °C, hasta que se observó la zona de traslape, cuidando que ésta no fuese muy densa para facilitar la observación.

Para la observación de anastomosis, en un portaobjetos se colocó una gota de solución humectante; luego, la zona que se encontraba sobre la tira de papel celofán se cortó y se colocó junto con la tira de papel sobre la gota de la solución humectante, colocando siempre el crecimiento de campo en el lado derecho del portaobjetos, de tal manera que al observarse al microscopio daba la apariencia de ser el lado izquierdo. Sobre la superficie del micelio se agregó primeramente una gota de solución humectante y posteriormente una gota de azul de trifano y después se distribuyeron cuidadosamente; se colocó el cubreobjetos y se secaron los residuos de las soluciones con un papel absorbente.

La preparación se observó al microscopio compuesto con el objetivo de 10X para localizar la zona de traslape y posteriormente se observaron 5 campos diferentes con el objetivo de 25X para medir los tipos de reacción hifal que se presentaban. Una vez que se observó, se colocó en un recipiente con hipoclorito de sodio al 70% para inactivar el azul de trifano.

Los criterios para medir el tipo de reacción hifal observadas entre el aislamiento de campo y el aislamiento de referencia se presentan en la Tabla 1. Para determinar una anastomosis como positiva se deben observar por lo menos cinco puntos de fusión en cada confrontación (Carling, 1996). Para asegurarse de que la anastomosis se da entre el micelio de los dos aislamientos comparados y no entre sí mismos, se debe buscar el origen de las hifas con el objetivo de 10X. Una vez que se tiene práctica es fácil determinar los grupos de anastomosis debido a que cada uno presenta diferencias en el diámetro de las hifas, tipo de ramificación, velocidad y tipo de crecimiento, entre otras. Además, la reacción de muerte celular es muy evidente cuando se fusionan un aislamiento de campo y una cepa testigo.

Resultados y discusión

Determinación de la condición nuclear.

La importancia de conocer el número de núcleos por célula ya se mencionó anteriormente; no obstante, reiteramos que para evitar que se identifiquen incorrectamente los aislamientos es necesario conocer primeramente esta característica.

Los 37 aislamientos colectados de papa presentaron células multinucleadas, lo que nos llevó a la conclusión de que se trata de la especie *R. solani*. Existen otras dos especies que presentan esta característica (*R. zae* y *R. oryzae*; Teleomorfo: *Waitea circinata*); sin embargo, éstas atacan solamente gramíneas.

Los aislamientos de chile y frijol presentaron células multinucleadas y en el aislamiento de haba fueron binucleadas.

El método usado en la tinción de núcleos de los aislamientos de papa, es un método rápido, sencillo y los núcleos se distinguen fácilmente. El inconveniente de este método, es que las preparaciones duran poco tiempo. En el trabajo, se observó que no duran más de 72 horas; después de este tiempo el micelio se deshidrató y fue muy difícil recuperarlas. Sin embargo, es recomendable en trabajos en donde se desea conocer solamente el número de núcleos por célula.

Los núcleos teñidos con safranina se observaron claramente de color rojo oscuro con el objetivo de 40X y el número por célula fue variable, desde 4 hasta 9. En hifas jóvenes los núcleos se tiñeron más fácilmente y se observaron con mayor nitidez (Fig. 1).

El hidróxido de sodio al 3% se utiliza para eliminar citoplasma y algunos organelos con el fin de que los núcleos se observen más claramente. En este trabajo se observó también que cuando se aplicaban dos gotas o más de hidróxido de sodio al 3%, algunos núcleos salían de las células, dificultando el conteo.

Kronland y Stangellini (1988) mencionan que se puede realizar la tinción de núcleos en el medio de cultivo al momento de observar las reacciones de anastomosis; sin embargo, nosotros observamos que al teñir los núcleos de esta forma, su búsqueda y la de los límites de las células es más tediosa y se requiere más tiempo, inclusive en las preparaciones en donde se tomó una parte de micelio, nos percatamos que mientras menos medio llevaba el micelio, mejor era la tinción de los núcleos.

CATEGORÍA	RELACION	DESCRIPCION DE LA INTERACCION
C3	Muy relacionado. Mismo grupo de anastomosis. Misma población compatible vegetativamente (PCV). Mismo aislamiento.	Fusión de paredes; fusión de membranas; puntos de fusión frecuentemente no obvios; diámetro de la anastomosis igual o cercanamente igual al diámetro de las hifas; células de la anastomosis y células adyacentes pueden morir, pero generalmente no.
C2	Relacionado. Mismo grupo de anastomosis. Diferente población compatible vegetativamente (PCV). Diferente aislamiento.	Conexión de paredes obvia; contacto de membranas incierto o indefinido; situación de los sitios de reacción obvios; diámetro del punto de anastomosis menor que el diámetro de las hifas; las células de la anastomosis siempre mueren.
C1	Poco relacionado. Diferente o mismo grupo de anastomosis.	Contacto entre hifas; conexión de paredes, pero no hay evidencia de penetración membrana a membrana en el contacto; ocasionalmente una o ambas células de la anastomosis y de la células adyacentes mueren.
C0	No relacionado. Diferente grupo de anastomosis.	No hay interacción.

Tabla 1. Categorías de las reacciones de anastomosis hifal en *Rhizoctonia solani* (Carling, 1996).

Determinación de los grupos de anastomosis.

En las pruebas de anastomosis realizadas se encontró que los 37 aislamientos de *R. solani* obtenidos de papa, pertenecen al grupo de anastomosis AG 3, con lo que se confirmó la patogenicidad de este grupo a papa.

Los aislamientos de chile y frijol fueron AG 4. Con el aislamiento de haba no fue posible realizar los apareamientos debido a que no se tuvieron las cepas testigo.

En la identificación de los grupos de anastomosis, el método de papel celofán cubierto con una capa de agua-agar, resulto ser económico y práctico reduciendo el riesgo de contaminación, las hifas se tiñen fácilmente y las cajas se manejan con más facilidad en comparación con el método descrito por Kronland y Stangellini (1988).

Los cuatro grupos de cepas testigo presentaron diferencias de crecimiento en medio de cultivo. Así, la velocidad de crecimiento de los grupos AG 4 y AG 7 fue mayor que en los grupos AG 3 y AG 5. El diámetro del micelio del AG 3 visualmente fue mayor que el del AG 4 y AG 5 y, del AG 7 fue muy delgado. El micelio de las cepas AG 4 y AG 7 tuvo un crecimiento afelpado (con crecimiento hacia arriba de la caja) y de color blanco; mientras que, el micelio de los grupos AG 3 y AG 5 fue de color café. Además, el AG 3 formó más esclerocios y de mayor tamaño

que los aislamientos AG 4, AG 5 y AG 7. Al momento de realizar el apareamiento de cepas testigo y aislamientos de campo se tomó en cuenta la velocidad de crecimiento de los aislamientos para programar de acuerdo a ésta, el tiempo de lectura de las reacciones.

En la zona de traslape se observaron las categorías C0, C1, C2 y C3, con las cuales se determinó el grupo de anastomosis de los aislamientos de campo.

La categoría C3 se observó solamente entre hifas de un mismo aislamiento. El sitio de fusión entre las dos células fue difícil de observar en el objetivo de 25X, por lo que en este tipo de reacción se hizo necesario observar las hifas con el objetivo de 10X en donde se observó claramente el origen de las células. De acuerdo a la terminología usada por Carling (1996), podemos decir que se trata del mismo grupo de anastomosis y de la misma población compatible vegetativamente.

La categoría C2 se notó claramente y de manera consistente en todas las confrontaciones de los aislamientos de campo contra la cepa testigo AG 3, por lo que concluimos que se trata del mismo grupo de anastomosis, pero existe entre estos aislamientos una diferencia de compatibilidad vegetativa. En algunos aislamientos se detectaron más de 5 puntos de unión en cada confrontación. Este tipo de reacción se observó únicamente en dos ocasiones, al

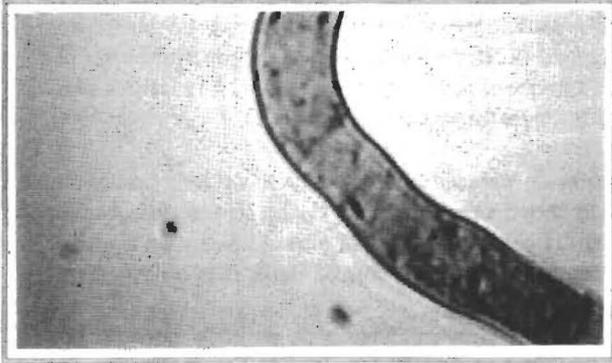


Figura 1.1

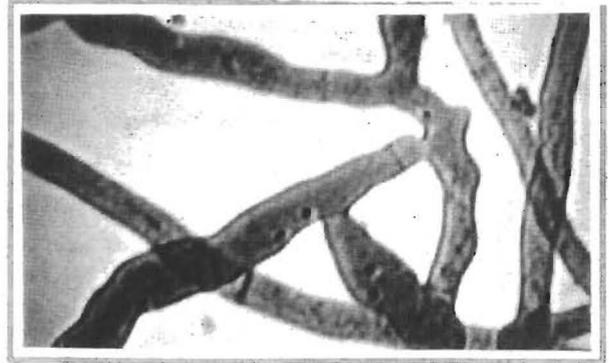


Figura 1.2

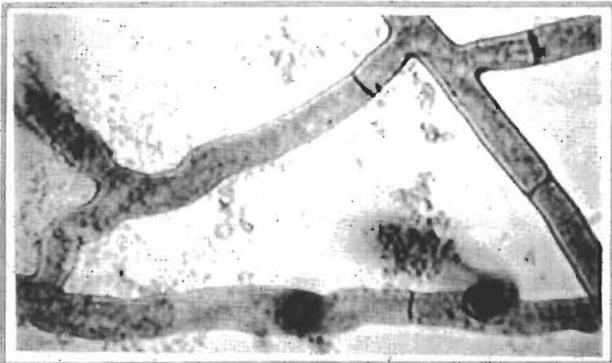


Figura 1.3

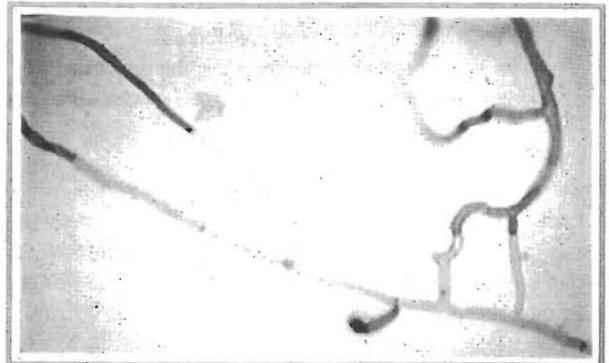


Figura 1.4

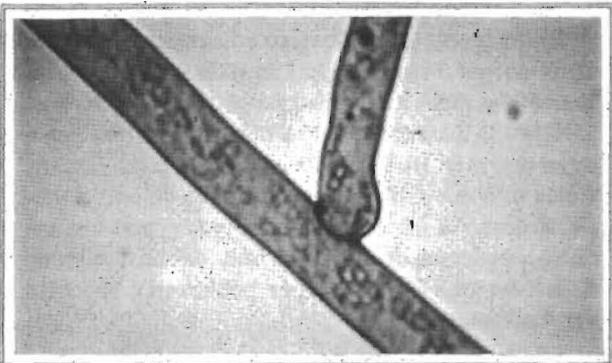


Figura 1.5

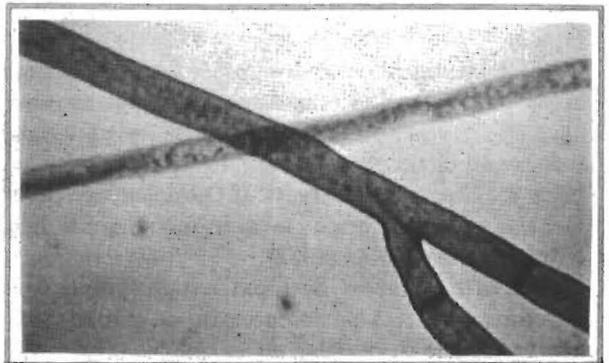


Figura 1.6

Figuras 1.1 - 1.6. 1.1) Células multinucleadas de *Rizoctonia* (Aumento 400X); 1.2) Células binucleadas de *Rizoctonia* (Aumento 400X); 1.3) Categoría C3. Fusión sin muerte de células (Aumento 200X); 1.4) Categoría C2. Fusión con muerte de células (Aumento 100X); 1.5) Categoría C1. Punto de contacto (Aumento 400X); 1.6) Categoría C0. No hay interacción (Aumento 250X).

fusionarse células de un mismo aislamiento de campo. Esto es correcto, ya que Carling (1996) señala que es posible que exista muerte celular al fusionarse dos hifas de un mismo aislamiento, pero ésta se presenta en una frecuencia muy baja. La safranina O tiñe de azul intenso las hifas de *R. solani* y en este tipo de reacción las hifas muertas se manifestaron de color claro.

La categoría C1 se presentó en todas las confrontaciones de los aislamientos de campo con el grupo AG 3. En los puntos de contacto en algunas ocasiones, se detectó fusión de células con el objetivo de 25X, sin embargo, con el objetivo de 40X claramente se vio la individualidad de las células.

La categoría C0 se observó al aparear el aislamiento de campo con cepas testigo AG 4, AG 5 y AG 7. En ocasiones las hifas de estos aislamientos se juntaron, pero nunca se unieron. En caso de que las hifas se encuentren creciendo en un mismo plano, es fácil observar que una de ellas crece hacia abajo y sobrepasa a la otra. Utilizando este tipo de reacción, además del diámetro de las hifas, velocidad de crecimiento y color del micelio fue relativamente fácil determinar el grupo de anastomosis en la práctica.

Rhizoclonia solani es importante en muchos cultivos y en algunos de ellos causa daños muy severos; afortunadamente ahora se sabe que algunos grupos de anastomosis son muy específicos de un cultivo, como es el caso del AG 3, que ataca principalmente papa, aunque otros como el AG 4 tienen un rango más amplio de hospedantes. El conocer, por lo tanto, los grupos de anastomosis presentes en un cultivo y en una zona o región determinada nos permite tener conocimientos más amplios para realizar un mejor manejo de la enfermedad, principalmente en la selección de plantas para establecer un programa de rotación de cultivos. Se cree que la especificidad de hospedantes se debe a que cada grupo posee genes específicos para atacar un determinado grupo de plantas; sin embargo, hasta ahora esto no está bien claro. Los conocimientos obtenidos en los trabajos de biología molecular que se están realizando con este hongo, ayudarán a explicar este fenómeno, además de proporcionar bases para obtener plantas resistentes a un grupo determinado.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los reportados anteriormente en México y en otros países, en donde se señala que el AG 3 es el principal agente causal de la "costra negra" de la papa. En este trabajo no se encontraron los grupos

AG 4, AG 5 y AG 7, reportados por Virgen *et al.* (1996) y Rocha *et al.* (1995) en estudios realizados en papa. El grupo AG 4 ha sido reportado atacando papa en condiciones cálidas principalmente y es tal vez por esto que no se aisló en este estudio, ya que las condiciones climáticas en los sitios de muestreo son muy húmedas y frías.

El grupo AG 5 se reporta atacando tallos de papa en diferentes etapas del crecimiento de la planta, aunque parece que no ataca raíces y quienes lo han aislado de papa mencionan que se manifiesta de ligera a moderadamente virulento en este cultivo. Carling y Leiner (1990b) mencionan que este grupo puede ser más importante en climas cálidos. Estas pueden ser algunas de las razones por las cuales no se logró aislar este grupo. Además, en México solamente se ha detectado en aislamientos de papa de Coahuila y Nuevo León, lugares con condiciones más bien cálidas. Por otra parte, los principales hospedantes de este grupo son soya y especies del género *Phaseolus*, principalmente *Phaseolus vulgaris*, lo cual hace pensar que en estos lugares se siembra frijol constantemente u otras hortalizas como el chile, hospedante también de este grupo y confirmado en este estudio. Las poblaciones de este grupo se han aumentado y como consecuencia al no estar presentes estos hospedantes y presentarse las condiciones adecuadas el patógeno ataca papa. En el caso del Estado de México no es común que se establezcan estos cultivos, en esas áreas agrícolas.

El grupo AG 7 no ha sido reportado como un patógeno asociado con papa en otros países y en México sólo se ha dado un caso, en aislamientos de papa colectados en Toluca, Estado de México por Virgen, quien envió este aislamiento a Carling, y este investigador confirmó las identificaciones realizadas por Virgen; sin embargo, en las pruebas de patogenicidad que él realizó en Canadá, este aislamiento no fue patógeno a papa (comunicación personal). Este aislamiento sólo ha sido aislado de suelo, por lo que no podemos, hasta ahora, relacionarlo con papa.

Al parecer la etapa fenológica del cultivo en la cual se colecten los aislamientos influye sobre la frecuencia en que se presentan los grupos en papa. Esto lo mencionan Carling y Leiner (1986) quienes encontraron que el AG 2-1 se aisló principalmente de lesiones en tallos, el AG 3, estuvo más asociado con esclerocios y menos asociado con himenio y lesiones en tallos. Bandy *et al.* (1988) coinciden con Carling y Leiner (1996) con respecto al AG 3 y mencionan

además que el grupo AG 5 está más asociado a tallos y estolones. Los aislamientos identificados en el presente trabajo, fueron obtenidos de lesiones de estolones, tallos jóvenes y maduros y de esclerocios; sin embargo, no encontramos ninguno de los aislamientos mencionados anteriormente, por lo que pensamos que los grupos reportados en estos trabajo están menos asociados a papa, como lo señala Hill y Anderson (1989) y creemos que se encuentran más bien asociados con otros cultivos o bien con las malezas presentes en el campo, puesto que también se ha aislado de suelo.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir lo siguiente:

1. Los aislamientos de papa, chile y frijol presentaron células multinucleadas, por lo que se identificaron como *Rhizoctonia solani*. A diferencia, el aislamiento de haba mostró células binucleadas, lo cual es característico de *Rhizoctonia* sp. binucleado.
2. Los aislamientos de papa reaccionaron como grupo de anastomosis AG 3; mientras que, los aislamientos de chile y frijol como grupo AG 4.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Víctor Villalobos Arámbula del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados (CINVESTAV), IPN, por haber proporcionado las "cepas testigo" que se utilizaron en este estudio.

Literatura citada

- Anderson, N.A., 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. *Ann. Rev. Phytopath.* **20**: 329-347.
- Anónimo, 1994. **Sistema producto papa**. Datos básicos. SARH. México.
- Bandy, B.P., S.S. Leach y S.M. Tavantzis, 1988. Anastomosis group 3 is the major cause of *Rhizoctonia* disease of potato in Maine. *Pl. Disease* **72**: 596-598.
- Carling, D.E. y R.H. Leiner, 1986. Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia solani*-like fungi from aerial stems and subterranean organs of potato plants. *Phytopathology* **76**(7): 725-729.
- Carling, D.E. y R.H. Leiner, 1990a. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* on potato. *Phytopathology* **80**: 930-934.
- Carling, D.E. y R.H. Leiner, 1990b. Virulence of isolates of *Rhizoctonia solani* AG3 collected from potato plant organs and soil. *Pl. Disease* **74**(11): 901-903.
- Carling, D.E. y D.R. Sumner, 1992. *Rhizoctonia*. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D. and Rush, C.H. (eds.) **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. APS Press. St. Paul, Minnesota.
- Carling, D.E., 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. In: Sneh, B., Sjabaji-jare, S. Neate and G. Djist. (eds.), **Rhizoctonia species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and control**. Kluwer Academic Publisher.
- Castro, C., J.R. Davis y M. V. Wiese, 1983. Differential medium for identification of *Rhizoctonia solani* AG 3. *Pl. Disease* **67**: 1069-1071.
- Cedeño, L.R., 1987. **Aspectos ultraestructurales de *Rhizoctonia solani* Kühn**. Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.
- Herr, L.J., 1979. Practical nuclear staining procedure of *Rhizoctonia*-like fungi. *Phytopathology*. **69**: 958-961.
- Herr, L.J. y D.L. Roberts, 1980. Characterization of *Rhizoctonia* populations obtained from sugarbeet fields with differing soil textures. *Phytopathology* **70**: 476-480.
- Hill, C.B. y N.A. Anderson, 1989. An evaluation of potato disease caused by isolates of *Rhizoctonia solani* AG3. *Am. Pot. Jour.* **66**:709-721.
- Kronland, W.C. y M.E. Stanghellini, 1988. Clean slide technique for observation of anastomosis and nuclear condition of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* **78**(6): 820-822.
- MacNish, G.C., D.E. Carling y K.A. Brainard, 1993. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG 8 from bare patches by pectic isozyme (zymogram) and anastomosis techniques. *Phytopathology* **83**: 922-927.
- Ogoshi, A, 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ann. Rev. Phytopath.* **25**: 125-143.
- Olaya, G., G.S. Abawi y J. Barnard, 1994. Response of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* to five fungicides and control of pocket rot of table beets with foliar sprays. *Pl. Disease* **78**(11): 1033-1037.
- Parmeter, J.R. Jr., R.T. Sherwood y W.D. Platt, 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* **59**:1270-1278.
- Rocha, R., G. Virgen y V. Olalde, 1995. Grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* en tubérculos-semilla de papa, de diferentes regiones de México. *Revista Forestal Venezolana*. **1**(1):1-2.
- Sneh, B., L. Burpee y A. Ogoshi, 1991. **Identification of *Rhizoctonia* species**. APS Press. St. Paul, Minnesota.
- Ueyama, I., Y. Araki, S. Kuroguchi y I. Yamaguchi, 1993. Metabolism of phenylurea fungicide pencycuron, in sensitive and tolerant strains of *Rhizoctonia solani*. *Jour. Pest. Sci.* **18**(1):109-117.
- Vilgalys, R. y M.A. Cubeta, 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. *Ann. Rev. Phytopath.* **32**: 135-155.
- Virgen, G., V. Olalde y R. Rocha, 1996. Grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn, en papa, en el Estado de Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fit.* **31**(1): 48.

Recibido: 8 de octubre, 1997. Aceptado: 9 de febrero, 1998.

Solicitud de sobretiros: Sebastian Romero.