

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL FUERTE
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**



TESIS:

“Caracterización morfológica, molecular y patogénica de aislados de *Rhizoctonia* spp., de frijol y maíz en el estado de Sinaloa”

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA:

M.C. Karen Rabago Zavala

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza

CO-DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Blanca Elvira López Valenzuela

ASESORES:

Dra. Glenda Judith Lizarrag Sanchez

Dr. Quintín Armando Ayala Armenta

Dr. Ángel Rosario Ceballos Chávez

Juan José Ríos, Sinaloa, México, a 31 de enero de 2024

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **KAREN RABAGO ZAVALA**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRETOR

Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza

CO-DIRETORA

Dra. Blanca Elvira López Valenzuela

ASESOR

Dra. Glenda Judith Lizarraga Sacher

ASESOR

Dr. Quintín Armando Ayala Armenta

ASESOR

Dr. Ángel Rosario Ceballos Chavez

Juan José Ríos, Sinaloa, México, a 31 de enero de 2025.



UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.



DEDICATORIA

A esos seres divinos que son mi alegría y que me permiten tener una nueva ilusión y ganas de aferrarme a la vida día a día. A esas niñas que hacen que quiera ser mejor persona y ser humano, que me incitan a superarme y me alientan con su gran amor. A mis hijas Ayrin, Nephtaly, María José y Jael.

AGRADECIMIENTO

A Dios por cada una de sus bendiciones y permitirme cumplir cada una de mis metas.

Al CONAHCYT por el apoyo económico brindado.

A la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte por abrirme sus puertas y permitirme hacer uso de sus instalaciones para la realización del proyecto.

Al colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa por permitirme formar parte de ellos y colaborar en mi formación académica.

A mi comité doctoral: Dra. Blanca Elvira López Valenzuela, Dra. Glenda Judith Lizárraga Sánchez, Dr. Quintín Armando Ayala Armenta y el Dr. Ángel Rosario Ceballos Chavés. Gracias por su apoyo y sobre todo sus buenos consejos y amistad.

Al Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza un agradecimiento infinito por sus sabios consejos, motivarme a ser mejor ser humano, darme la confianza, pero sobre todo por creer en mí. Gracias por todo.

A mi familia por su apoyo incondicional.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xii
ABSTRAC.....	xiv
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1.2.1 Antecedentes de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. y <i>Zea mays</i> L.....	4
1.2.1.1 Importancia económica del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	4
1.2.1.2 Importancia económica del maíz (<i>Zea mays</i> L.).....	6
1.2.2 Factores que limitan la producción de frijol y maíz.....	8
1.2.2.1 Factores climaticos.....	8
1.2.2.2 Degradado de suelo.....	8
1.2.2.3 Acceso limitado a tecnología e insumos.....	9
1.2.2.4 Factores socioeconomicos.....	9
1.2.2.5 Competencia por uso de suelo.....	9
1.2.2.6 Plagas y enfermedades.....	10
1.2.3 El género <i>Rhizoctonia</i>	11
1.2.3.1 Generalidades.....	11
1.2.3.2 Etiología.....	12
1.2.3.3 Características de <i>Rhizoctonia</i> spp.....	12
1.2.3.4 Taxonomía.....	13
1.2.3.5 Ciclo de de vida de <i>Rhizoctonia</i>	13
1.2.3.6 Reacción de anastomosis.....	15
1.2.3.7 Grupos de anastomosis (AG).....	16
1.2.3.8 Grupos de anastomosis de <i>Rhizoctonia solani</i>	17
1.2.3.9 Grupos de anastomosis de otros taxones multinucleados.....	20
1.2.10 Grupos de anastomosis en taxones binucleados.....	20

1.3 JUSTIFICACIÓN.....	23
1.4 OBJETIVOS.....	24
1.4.1 Objetivo general.....	24
1.4.2 Objetivos específicos.....	24
1.5 HIPOTESIS.....	25
CAPITULO 2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y PATOGÉNICA DE AISLADOS DE <i>Rhizoctonia solani</i> ASOCIADOS A LA SECADERA DE FRIJOL EN EL NORTE DE SINALOA, MÉXICO.....	26
RESUMEN	26
ABSTRACT.....	27
2.1. INTRODUCCIÓN	28
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
2.4. CONCLUSIÓN.....	39
CAPITULO 3. PRIMER REPORTE DE <i>Ceratobasidium</i> SP. (AG-A Y AG-G) CAUSANTE DE PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CÁNCER DEL TALLO EN FRIJOL COMÚN EN MÉXICO.....	40
CAPITULO 4. CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE <i>Rhizoctonia</i> CAUSANTES DE LA MANCHA BANDEADA DE LA VAINA DEL MAÍZ EN EL NORTE DE SINALOA	44
RESUMEN.....	44
ABSTRACT.....	45
4.1 INTRODUCCIÓN	46
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
4.2.1 Toma de muestra y aislamiento del hongo.....	48
4.2.2. Caracterización nuclear.....	48
4.2.3. Morfología de colonias y características esclerociales de <i>Rhizoctonia</i> spp.....	49
4.2.4. Extracción de ADN genómico y amplificación por PCR.....	49

4.2.5. Pruebas de patogenicidad.....	50
4.3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
4.3.1 Aislamiento de <i>Rhizoctonia</i> spp. maíz.....	51
4.3.2. Caracterización morfológica.....	52
4.3.3 Identificación molecular	54
4.3.4 Pruebas de patogenicidad.....	56
4.4 CONCLUSIÓN.....	57
CAPITULO 5. PRIMER REPORTE DE <i>Rhizoctonia solani</i> AG-7 CAUSANTE DE PUDRICIÓN DE LA RAÍZ DEL FRIJOL COMÚN EN MÉXICO.....	58
RESUMEN	58
CAPITULO 6. SENSIBILIDAD A FUNGICIDAS QUÍMICOS DE ESPECIES DE <i>Rhizoctonia</i> DE FRIJOL Y MAÍZ.....	63
RESUMEN.....	63
ABSTRACT.....	64
6.1 INTRODUCCIÓN	65
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	67
6.2.1 Origen de los aislados de <i>Rhizoctonia</i>	67
6.2.2 Prueba de sensibilidad a fungicidas.....	67
6.3 RESULTADOS.....	70
6.4 CONCLUSIÓN.....	72
CAPITULO 7. CONCLUSIONES GENERALES.....	73
CAPITULO 8. LITERATURA CITADA.....	74
CAPITULO 8. ANEXOS	85

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Grupos y subgrupos de <i>R. solani</i>, principales hospedantes enfermedades que causa, y el estado teleomórfico asignado (Ceresini, 1999; González, 2008)	17
Cuadro 2. Clasificación de las reacciones de anastomosis (Carling <i>et al.</i>, 1988; MacNish <i>et al.</i>, 1993).....	20
Cuadro 3. Cuadro 3. Grupos y subgrupos de taxones binúcleados de acuerdo con la nomenclatura japonesa, estados anamorfo y teleomorfo asociados y cultivos que atacan.....	21
Cuadro 4. Características morfológicas de <i>Rhizoctonia</i> spp. de maíz.....	53
Cuadro 5. Efectividad biológica de diferentes concentraciones de fungicidas a especies de <i>Rhizoctonia</i> de maíz y frijol.....	68

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo de vida de <i>Rhizoctonia</i>	14
Figura 2. Manchas café, purpuras y canchros en raíz y base de tallo.....	15
Figura 3. Formación de micelio y esclerocios en base de tallos.....	15
Figura 4. Síntomas en plantas de frijol en campo.	33
Figura 5. Morfología de las colonias y coloración del medio en PDA de <i>Rhizoctonia</i> spp.....	34
Figura 6. Tinción de núcleos y reacción de anastomosis.....	34
Figura 7. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes RPB2 de 63 aislados de <i>Rhizoctonia</i> spp.....	36
Figura 8. Porcentaje de germinación de semillas de frijol.....	37
Figura 9. Severidad de los subgrupos de anastomosis. Medias con una letra en común no son significativamente diferente ($p > 0.05$).....	38
Figura 10. Aislado de <i>Rhizoctonia</i> binucleada identificado como <i>Ceratobasidium</i> AG-A.....	41
Figura 11. Aislado de <i>Rhizoctonia</i> binucleada identificado como <i>Ceratobasidium</i> AG-G.....	42
Figura 12. Arbol filogenético de <i>Ceratobasidium</i>	43
Figura 13. Síntomas generados por <i>Rhizoctonia</i> en campo.	51
Figura 14. Morfología colonial de los aislados de <i>Rhizoctonia</i> spp. de maíz...52	52
Figura 15. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes RPB2 de 27 aislados de <i>Rhizoctonia</i> spp.....	55
Figura 16. Patogenicidad de los aislados de <i>Rhizoctonia</i> de maíz.....	56
Figura 17. <i>Rhizoctonia solani</i> AG-7 causante de pudrición de la raíz del frijol común.....	61
Figura 18. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes ITS y RPB2 de 2 aislados de <i>Rhizoctonia</i> spp. obtenidos de plantas de frijol con síntomas de secadera y pudrición de raíz.	62
Figura 19. Porcentaje de inhibición de los aislados <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4	

HGI, AG-4 HGIII, AG-7, <i>Rhizoctonia binucleada</i> AG-A, AG-G y <i>Rhizoctonia zae</i> de frijol y maíz con fungicidas químicos convencionales.....	69
--	-----------

RESUMEN

El estado de Sinaloa, en México, destaca por ser uno de los principales productores de frijol y maíz. Sin embargo, ambos cultivos enfrentan limitaciones debido a enfermedades provocadas principalmente por hongos fitopatógenos del género *Rhizoctonia*, que causan infecciones en frijol y, más recientemente, en maíz. Esta investigación tuvo como finalidad caracterizar, a través de morfología, análisis de secuencias de ADN y patogenicidad, los aislados de *Rhizoctonia* spp. asociados a plantas de frijol y maíz que presentan síntomas de pudrición de raíz, canchales oscuros en la base de los tallos y manchas bandeadas en las hojas basales del maíz, en lotes comerciales en el norte de Sinaloa. Durante las temporadas agrícolas de otoño-invierno 2020-2021 y 2021-2022, se recolectaron plantas enfermas en los municipios de Ahome, El Fuerte y Guasave, obteniendo un total de 100 aislados de frijol y 80 de maíz correspondientes al hongo *Rhizoctonia*.

La caracterización morfológica en medio PDA reveló colonias con micelio de color blanquecino a café, así como liberación de pigmentos en el medio, esclerocios amorfos de tonalidades rojas y cafés, de diámetro menor a 5 mm, características que corresponden a *Rhizoctonia*. Para la caracterización molecular, se extrajo ADN genómico y se amplificó mediante PCR una porción del gen RPB2 y la región del espaciador transcrito interno ITS. Los productos amplificados fueron secuenciados y se realizó un análisis filogenético que confirmó la identificación de 2 aislados de frijol como *Rhizoctonia* binucleada, relacionada al teleoformo *Ceratobasidium*, pertenecientes a los grupos de anastomosis (AG): AG-A y AG-G. Asimismo, 65 aislados fueron identificados como *Rhizoctonia solani*, asociados a los grupos de anastomosis AG-4 y AG-7. De todos los aislados analizados, el 3% correspondió al subgrupo de anastomosis AG-7, mientras que el resto perteneció al AG-4, subgrupos HGI y HGIII. Entre los aislados de maíz, 18 fueron identificados molecularmente como *Rhizoctonia zeae* y 9 como *Rhizoctonia solani* del grupo de anastomosis AG-4, subgrupos HGI y HGIII.

Se encontró que *Rhizoctonia solani* está asociada tanto al frijol como al maíz, mientras que *Ceratobasidium* solo se aisló de plantas sintomáticas de frijol, y

Rhizoctonia zea se detectó exclusivamente en maíz. Los aislados de *Rhizoctonia solani* se clasificaron dentro de los grupos anastomóticos AG-7 y AG-4 (subgrupos HGI y HGIII), los cuales han sido reportados en papa, pero no en frijol ni en maíz. El descubrimiento de los subgrupos HGI y HGIII en frijol y maíz contrasta con informes anteriores que mencionan el grupo de anastomosis AG-1 y sus subgrupos 1A y 1B, además de las especies *Rhizoctonia zea* y *Ceratobasidium* sp., que no han sido documentadas en Sinaloa, México.

Todas las especies resultaron ser patogénicas en sus hospedantes originales, mostrando diferentes niveles de patogenicidad. En pruebas de inoculación cruzada, se demostró que los aislados son patogénicos en las especies hospedantes, sin importar su hospedante original. Esto sugiere que la rotación de cultivos que incluya frijol y maíz no será una estrategia viable para el manejo de la enfermedad en el campo.

Palabras claves: Rhizoctoniasis, infección, grupos de anastomosis, patogenicidad

ABSTRACT

The state of Sinaloa, in Mexico, stands out as one of the main producers of beans and corn. However, both crops face limitations due to diseases caused mainly by phytopathogenic fungi of the genus *Rhizoctonia*, which cause infections in beans and, more recently, in corn. This research aimed to characterize, through morphology, DNA sequence analysis and pathogenicity, *Rhizoctonia* spp. isolates associated with bean and corn plants that present symptoms of root rot, dark cankers at the base of the stems and banded spots on the basal leaves of corn, in commercial plots in northern Sinaloa. During the 2020-2021 and 2021-2022 fall-winter agricultural seasons, diseased plants were collected in the municipalities of Ahome, El Fuerte and Guasave, obtaining a total of 100 bean isolates and 80 corn isolates corresponding to the *Rhizoctonia* fungus.

Morphological characterization on PDA medium revealed colonies with whitish to brown mycelium, as well as the release of pigments into the medium, amorphous sclerotia of red and brown tones, with a diameter less than 5 mm, characteristics that correspond to *Rhizoctonia*. For molecular characterization, genomic DNA was extracted and a portion of the RPB2 gene and the ITS internal transcribed spacer region were amplified by PCR. The amplified products were sequenced and a phylogenetic analysis was performed, which confirmed the identification of 2 bean isolates as binucleate *Rhizoctonia*, related to the *Ceratobasidium* teleomorph, belonging to the anastomosis groups (AG): AG-A and AG-G. Likewise, 65 isolates were identified as *Rhizoctonia solani*, associated with the anastomosis groups AG-4 and AG-7. Of all the isolates analyzed, 3% corresponded to the anastomosis subgroup AG-7, while the rest belonged to AG-4, subgroups HGI and HGIII. Among the corn isolates, 18 were molecularly identified as *Rhizoctonia zea* and 9 as *Rhizoctonia solani* of the anastomosis group AG-4, subgroups HGI and HGIII. *Rhizoctonia solani* was found to be associated with both bean and corn, while *Ceratobasidium* was only isolated from symptomatic bean plants, and *Rhizoctonia zea* was detected exclusively in corn. *Rhizoctonia solani* isolates were classified within the anastomotic groups AG-7 and AG-4 (subgroups HGI and HGIII), which

have been reported in potato, but not in bean or corn. The discovery of the HGI and HGIII subgroups in bean and corn contrasts with previous reports mentioning the anastomotic group AG-1 and its subgroups 1A and 1B, as well as the species *Rhizoctonia zea* and *Ceratobasidium* sp., which have not been documented in Sinaloa, Mexico.

All species were found to be pathogenic in their original hosts, showing different levels of pathogenicity. In cross-inoculation tests, the isolates were shown to be pathogenic in the host species, regardless of their original host. This suggests that crop rotation that includes beans and corn will not be a viable strategy for managing the disease in the field.

Keywords: Rhizoctoniasis, infection, anastomotic groups, pathogenicity

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN LITERARIA

1.1 INTRODUCCIÓN

México se encuentra entre los principales productores mundiales de granos y hortalizas (Orus, 2024). El país se destaca especialmente por el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.), que son alimentos básicos para las familias mexicanas.

Actualmente, se han sembrado 1.091.125,69 hectáreas de frijol, de las que se cosechan tan solo 761.316,72 hectáreas, lo que genera pérdidas superiores al 30%. En el caso del maíz, se sembraron 6,941,031.12 hectáreas, de las cuales se cosecharon aproximadamente 6,436,119.72 hectáreas, lo que genera pérdidas anuales superiores al 7% (SIAP, 2023).

En el ciclo otoño-invierno 2022-2023, el estado de Sinaloa ocupó un lugar destacado en la superficie sembrada con estos cultivos, con 87,663.28 hectáreas de frijol y 542,413.15 hectáreas de maíz (SIAP, 2023). En términos de producción, Sinaloa es líder nacional en la producción tanto de frijol como de maíz, generando empleos y aportaciones económicas importantes al país (SIAP, 2022). Sin embargo, la producción se ve obstaculizada por enfermedades causadas tanto por factores bióticos como abióticos, que reducen el rendimiento.

Las enfermedades más importantes que afectan a estos cultivos son causadas por factores bióticos o microorganismos, como virus, nematodos, bacterias y hongos. Entre estos últimos, *Rhizoctonia* spp. es un hongo fitopatógeno distribuido globalmente que afecta a más de 500 especies de plantas de varias familias botánicas (Chavarro *et al.*, 2015; Gonzalez, 2006).

El frijol y el maíz comparten una enfermedad común conocida como rizoctoniasis, causada por diferentes especies del género *Rhizoctonia*. Esta enfermedad recibe diversos nombres comunes según la región, el hospedante y los síntomas que

produce. En Sudamérica, se identifica como *Mustia hilachosa* en frijol (Álvarez, 2015) y como mancha foliar bandeada en maíz blanco, afectando principalmente la vaina de la hoja y causando lesiones alargadas (Perdomo *et al.*, 2007). Anteriormente, la rizoctoniasis no era un problema importante en maíz y frijol en México, pero se ha vuelto cada vez más frecuente, particularmente en maíces.

El complejo *Rhizoctonia* comprende un grupo diverso de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales y comparten rasgos morfológicos generales como micelio, esclerocios e hifas nucleadas (más de dos núcleos) (Stefanova, 2000).

La identificación de especies dentro del género *Rhizoctonia* depende principalmente del número de núcleos y su capacidad de anastomosarse, clasificándolas en especies uninucleadas, binucleadas y multinucleadas (Ogoshi, 1987; Sneh, 2011). Las especies multinucleadas se dividen en dos categorías fitopatógenas según su fase sexual (teleomorfo): *Thanatephorus cucumeris* y *Whitea circinata*. Las especies binucleadas se incluyen en el teleomorfo *Ceratobasidium* sp. (Sneh, 2011).

La fase asexual o anamorfa de *Thanatephorus cucumeris* es *Rhizoctonia solani*, que sirve como especie tipo para este género según Carling (1988). Consta de 14 grupos de anastomosis (AG), descritos como AG1-AG13 y AG-BI (Liu *et al.*, 1993). Esto indica que estos AG y sus subgrupos pueden representar poblaciones que evolucionan independientemente dentro del complejo *R. solani* (Vilgalys & Cubeta, 1994). *Whitea circinata* presenta dos especies en su fase anamórfica: *Rhizoctonia zae* y *Rhizoctonia oryzae*, sin grupos de anastomosis definidos aún para estas especies (Tomaso-Peterson *et al.*, 2007; Kammerer, 2011).

En el teleomorfo *Ceratobasidium* sp., solo se describen dos especies fitopatógenas en su fase asexual: *Rhizoctonia cereali* y *Rhizoctonia* BNC. Las *Rhizoctonias* binucleadas se clasifican en 22 grupos de anastomosis, etiquetados de AG-A a AG-V (Yang *et al.*, 2015).

Para frijol, se señalan el grupo de anastomosis AG1 y sus subgrupos de anastomosis AG1-1A y AG1-1B, mientras que para maíz, son relevantes los grupos de anastomosis AG1 subgrupo IA y el AG2 subgrupo IIIB (Sneh, 2011; González, 2015).

Actualmente, México carece de investigación enfocada en este género, con estudios concentrados principalmente en *Rhizoctonia* en el cultivo de frijol y maíz, es notoria la ausencia de investigaciones sobre este patógeno en Sinaloa, a pesar de la agresiva y continua aparición de la enfermedad en la actualidad, por lo que resulta fundamental identificar las especies de *Rhizoctonia* presentes en cada cultivo y conocer sus respectivos grupos de anastomosis, lo que ayudará a desarrollar estrategias de control sustentables.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1 Antecedentes de *Phaseolus vulgaris* L. y *Zea mays* L.

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el maíz (*Zea mays* L.) son cultivos de vital importancia económica y alimentaria a nivel mundial. Su producción y consumo impactan significativamente en las economías de numerosos países y en la seguridad alimentaria global.

1.2.1.1 Importancia económica del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol es una de las legumbres más importantes a nivel global debido a su papel fundamental en la seguridad alimentaria y nutricional, especialmente en los países en desarrollo. Representa una fuente accesible de proteínas, carbohidratos, fibra y micronutrientes esenciales como hierro y zinc. Su bajo costo y su versatilidad en diversas preparaciones culinarias lo convierten en un alimento básico en muchas regiones del mundo, particularmente en América Latina, África y Asia (Broughton *et al.*, 2003).

En términos económicos, el frijol también es crucial para los ingresos de pequeños agricultores. Según la FAO (2021), aproximadamente el 60% de la producción mundial de frijol proviene de pequeños productores, quienes dependen de este cultivo para su sustento. Además, el frijol contribuye al desarrollo sostenible al fijar nitrógeno en el suelo, reduciendo la necesidad de fertilizantes químicos y mejorando la productividad agrícola (Zizumbo & Colung, 2010).

El comercio mundial de frijoles genera miles de millones de dólares al año. Los principales exportadores, como Myanmar, China, Estados Unidos y Brasil, abastecen mercados en Asia, Europa y América del Norte. La creciente demanda de alimentos ricos en proteínas vegetales ha impulsado el comercio internacional del frijol, consolidándolo como un producto estratégico en el mercado agrícola global (FAO, 2021).

Además, el frijol es clave en los sistemas alimentarios sostenibles, ya que su producción tiene una baja huella ambiental comparada con fuentes de proteínas de origen animal, lo que lo convierte en un cultivo prioritario en el contexto del cambio climático y las iniciativas de agricultura sostenible (CIAT, 2019).

En 2020, la producción mundial de frijol alcanzó los 29.02 millones de toneladas, distribuidas entre 129 países (CGIAR, 2021). Los principales países productores son: India, Myanmar, Brasil, Estados Unidos, China y México quien es la cuna de la domesticación del frijol (FAO, 2020; CGIAR, 2021).

En 2023, la producción de frijol en México experimentó una disminución significativa debido a condiciones climáticas adversas, especialmente la sequía y la incidencia de enfermedades. Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), se reportó una caída del 23% en el volumen de producción de frijol, pasando de 965,371 toneladas en 2022 a 743,710 toneladas en 2023.

Para el ciclo agrícola 2023-2024, las proyecciones indican una producción aún menor, estimada en 688,000 toneladas, lo que representa una reducción del 22.9% respecto al ciclo anterior.

El frijol es un cultivo de gran importancia económica y social en México. Además de ser un alimento básico en la dieta mexicana, su producción es fundamental para la subsistencia de numerosos agricultores, especialmente en regiones rurales. La disminución en la producción afecta tanto la disponibilidad del producto en el mercado interno como los ingresos de los productores.

Los principales estados productores de frijol en México incluyen: Zacatecas, Sinaloa, Durango, Chiapas y Chihuahua.

El estado de Sinaloa gracias a su clima favorable y el uso de sistemas agrícolas tecnificados, en el ciclo agrícola 2023, la producción alcanzó aproximadamente 65,000 toneladas, representando una participación destacada en la producción nacional de esta leguminosa (SIAP, 2023). A pesar de que la sequía ha impactado a muchas regiones agrícolas del país, Sinaloa ha mantenido su productividad gracias a la agricultura bajo riego y a la implementación de híbridos adaptados a las condiciones locales.

El frijol en Sinaloa es un cultivo de gran importancia económica, ya que no solo genera ingresos para los productores, sino que también contribuye al abastecimiento de mercados nacionales e internacionales. Los municipios más destacados en la producción de frijol en Sinaloa son Guasave, Angostura y Ahome, que concentran una parte significativa de la producción estatal.

1.2.1.2 Importancia económica del maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial debido a su versatilidad. Se utiliza como alimento básico para humanos, como forraje para animales y como materia prima para la producción de biocombustibles, productos farmacéuticos y almidones industriales. Según la FAO (2022), el maíz representa aproximadamente el 30% de los cereales producidos en el mundo, constituyendo un pilar fundamental en la economía agrícola global.

Estados Unidos, es el principal productor mundial, la industria del maíz contribuye significativamente al PIB agrícola. En otros países como Brasil y Argentina, el maíz es una de las principales exportaciones, generando divisas clave para estas economías (FAO, 2022).

En el período 2023/2024, la producción mundial de maíz se estimó en 1,224.3 millones de toneladas, destacándose los siguientes países como los mayores productores: Estados Unidos con 389.7 millones de toneladas, representando el 32% de la producción mundial, China con 280 millones de toneladas, Brasil con 129 millones de toneladas, Unión Europea con 64.3 millones de toneladas, Argentina con 54 millones de toneladas y México con 28.5 millones de toneladas (Index Mundi, 2023).

En 2023, la producción de maíz en México experimentó variaciones según diferentes fuentes oficiales. La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) estimó un incremento en la producción nacional de maíz, alcanzando aproximadamente 28.5 millones de toneladas, lo que representaría un aumento de más de dos millones de toneladas respecto al año anterior.

Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), recopilados por Statista, el volumen de producción de maíz en grano en México en 2023 tuvo un aumento del 3.74% en comparación con 2022.

La producción de maíz en México es estratégica debido a su papel como alimento básico y como ingrediente central en productos tradicionales como las tortillas y los tamales. Además, el maíz es una parte esencial de la dieta mexicana y de su identidad cultural.

Los principales estados productores de maíz son fundamentales para garantizar la seguridad alimentaria y la economía agrícola del país. Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) y la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), los estados más destacados por su volumen de producción de maíz son: Sinaloa con más de 6.2 millones de toneladas, Jalisco con 4.5 millones de toneladas, Estado de México con 2.8 millones de toneladas, Chiapas con 2.3 millones de toneladas y Michoacán con 1.8 millones de toneladas (SIAP, 2023).

Sinaloa es el principal productor de maíz en México. Durante el ciclo agrícola 2022, el estado cultivó un total de 456,870 hectáreas, logrando una producción de 6,209,195 toneladas, con un valor estimado de 35,832 millones de pesos. Esto representa una contribución significativa al suministro nacional de maíz, especialmente maíz blanco, que se utiliza principalmente para el consumo humano, como en la producción de tortillas (SADER, 2023; SIAP, 2023).

El éxito agrícola de Sinaloa se atribuye a factores como el uso de híbridos comerciales avanzados, la implementación de tecnología agrícola moderna y la disponibilidad de sistemas de riego eficientes. Además, su capacidad de organización en el sector agrícola lo posiciona como un referente a nivel nacional en productividad de maíz (Gobierno de México, 2023).

El maíz es el cultivo líder en Sinaloa y representa un pilar de la economía agrícola estatal. Gracias a sus altos rendimientos y su enfoque en la tecnificación, el estado contribuye significativamente al abastecimiento de maíz blanco en México. En particular, Sinaloa es clave para garantizar la estabilidad en el precio del maíz y

satisfacer la demanda interna de alimentos básicos, como las tortillas (Gobierno de México, 2023).

Además, municipios como Guasave, Ahome y Culiacán cuentan con ventajas competitivas, como acceso a sistemas de riego tecnificados y apoyo gubernamental para la producción. Estas regiones también destacan por su capacidad para exportar excedentes a otras partes del país y garantizar el suministro continuo (SADER, 2023).

1.2.2 Factores que limitan la producción de frijol y maíz

La producción de frijol y maíz está influenciada por diversos factores que limitan su rendimiento y viabilidad económica, afectando a productores en distintas regiones del mundo. Estos factores son de índole climática, agronómica, socioeconómica y tecnológica, y varían según las condiciones particulares de cada región.

Los principales elementos que afectan la producción de estos cultivos.

1.2.2.1 Factores Climáticos

El cambio climático ha provocado un impacto significativo en los sistemas agrícolas, afectando tanto al frijol como al maíz, manifestando fenómenos ambientales como:

Sequías: La insuficiencia de agua es una de las principales causas de la disminución en los rendimientos de frijol y maíz. Estos cultivos, especialmente el frijol, son sensibles a la falta de agua durante las fases críticas de floración y llenado de grano (FAO, 2021).

Temperaturas extremas: El incremento en las temperaturas reduce la fertilidad del polen en el maíz y puede provocar abortos florales en el frijol, reduciendo drásticamente la producción (Lobell *et al.*, 2011).

Eventos climáticos extremos: Tormentas, granizadas y heladas afectan los cultivos, especialmente aquellos que se producen bajo condiciones de temporal, donde los agricultores dependen completamente de las lluvias (SIAP, 2023).

1.2.2.2. Degradación de Suelos

La fertilidad del suelo es un factor crucial para ambos cultivos. La sobreexplotación de la tierra, el monocultivo y el uso excesivo de agroquímicos han provocado una disminución en la calidad del suelo, limitando la productividad de los cultivos. Además, la compactación del suelo reduce la infiltración de agua y el desarrollo de las raíces, afectando el rendimiento del maíz y el frijol (Brouder & Gomez, 2014).

1.2.2.3 Acceso Limitado a Tecnología e Insumos

Muchos pequeños productores carecen de acceso a tecnologías avanzadas, como semillas mejoradas, sistemas de riego tecnificado y fertilizantes de alta eficiencia. Esto limita su capacidad para adaptarse a condiciones adversas y mejorar los rendimientos. Según la FAO (2021), el bajo nivel de tecnificación en cultivos como el frijol es una de las razones principales de su baja productividad en comparación con otros cultivos más tecnificados, como el maíz.

1.2.2.4 Factores Socioeconómicos

El mercado del maíz y el frijol está expuesto a fluctuaciones de precios, lo que afecta la rentabilidad para los productores, especialmente en regiones donde los costos de producción son altos (SIAP, 2023). Muchos agricultores no cuentan con acceso a créditos o apoyos financieros que les permitan invertir en insumos y tecnología para mejorar su producción.

La migración de jóvenes a zonas urbanas ha generado una disminución de mano de obra en las áreas rurales, lo que limita la capacidad productiva en cultivos como el maíz y el frijol (Brouder & Gomez, 2014).

1.2.2.5 Competencia por Uso del Suelo

El cambio en el uso del suelo hacia cultivos más rentables o destinados a biocombustibles, como la caña de azúcar o la palma de aceite, o frutales como el mango, aguacate, berries y cítricos han reducido el área disponible para el cultivo de maíz y frijol en diversas regiones de México y Sinaloa (CIAT, 2019).

1.2.2.6 Plagas y Enfermedades

El principal factor que genera siniestros y grandes pérdidas económicas en los cultivos de frijol y maíz en México son las plagas y las enfermedades.

Ambos cultivos son vulnerables a diversas plagas y enfermedades que pueden mermar significativamente la producción, afectan directamente el rendimiento, la calidad del grano y los ingresos de los productores, especialmente en regiones con condiciones climáticas favorables para el desarrollo de estos agentes patógenos.

Las principales plagas que impactan al frijol en México, son el gorgojo del Frijol (*Acanthoscelides obtectus*), la mosquita Blanca (*Bemisia tabaci*), el Trips (*Frankliniella* spp.), el gusano Soldado (*Spodoptera exigua*), el pulgón del Frijol (*Aphis craccivora*), y el Minador de la Hoja (*Liriomyza* spp.). y las enfermedades más comunes son causadas por hongos, bacterias y virus que pueden reducir significativamente los rendimientos y la calidad del grano. Las principales enfermedades del frijol son la Antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), Mancha Angular (*Pseudocercospora griseola*), Pudrición de Raíz por Fusarium (*Fusarium solani*), Tizón Común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), Virus del Mosaico Común del Frijol (*Bean common mosaic virus*, BCMV), Moho Blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*), Mildiú Polvoso (*Erysiphe polygoni*) y la mustia hilachosa del frijol (*Rhizoctonia* spp.) (Gonzalez, 2006).

La principal plaga del maíz es el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). Es la plaga más destructiva, este insecto se alimenta del cogollo de las plantas jóvenes, afectando su desarrollo y disminuyendo los rendimientos. El daño severo puede causar pérdidas de hasta el 50% de la producción si no se controla adecuadamente (FAO, 2021). Otras plagas de importancia en el cultivo son el gusano de la raíz del maíz (*Diabrotica virgifera virgifera*), la gallina ciega

(*Phyllophaga* spp.), el pulgón del maíz (*Rhopalosiphum maidis*) Perforador del tallo (*Ostrinia nubilalis*), entre otros.

Las enfermedades mas incidentes en el cultivo de maiz son la roya común (*Puccinia sorghi*), el tizón foliar del maíz (*Exserohilum turcicum*), el carbón del maíz (*Ustilago maydis*), la pudricion de raiz y tallo generada por un complejo de hongos como *Fusarium*, *Sclerotium*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia* spp.

Ambos cultivos coinciden con un patogeno que ha incidido en los ultimos años en el estado de Sinaloa, ocasionando enfermedad y disminuyendo el rendimiento. Dicha enfermedad se conoce de manera general como Rhizoctoniasis, quien en el caso de maíz de manera particular se conoce como mancha bandeada y ocasiona pudricion radical junto a un complejo de hongos y en el caso del frijol se conoce como mustia hilachosa de frijol. Ambas enfermedades en estos cultivos son ocasionadas por elhongo del genero *Rhizoctonia* quien a ocasionado en los ultimos años perdidas mayores al 30% en los municipios del norte del estado (SADER, 2023).

1.2.3 El género *Rhizoctonia*

1.2.3.1 Generalidades

El complejo *Rhizoctonia* se refiere a un grupo diverso de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales y exhiben rasgos morfológicos comunes, como la formación de micelio y esclerocios de color marrón. Estos organismos se encuentran en todo el mundo y muchos de ellos actúan como patógenos importantes para plantas de importancia agrícola, forestal e incluso acuática; sin embargo, no todos los aislados son dañinos. Algunos muestran un comportamiento sapróbico y prosperan con materia orgánica en descomposición, mientras que otros pueden formar relaciones simbióticas con especies específicas de orquídeas y musgos (Cubeta y Vilgalys, 2000).

Rhizoctonia spp. se ha categorizado en siete géneros según los estadios teleomórficos y las características del aparato septal (Moore, 1987; Stalpers y

Anderson, 1996). Identificar especies dentro de este grupo es un desafío debido a las características morfológicas limitadas, y los rasgos fisiológicos y patógenos pueden variar ampliamente entre individuos. Además, rara vez se producen estructuras sexuales en los medios de cultivo, lo que podría ayudar a clarificar la taxonomía de estos hongos.

Hasta mediados de la década de 1980, la clasificación se basaba en características morfológicas, el número de núcleos por célula vegetativa, la patogenicidad y la anastomosis hifal, siendo este último el criterio más utilizado hasta la fecha. Los métodos recientes para caracterizar diferentes aislamientos incluyen ahora caracteres obtenidos mediante técnicas moleculares como la amplificación e hibridación de ADN, el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción y la secuenciación directa de genes, entre otros (Carling y Kuninaga, 1990; Vilgalys y González, 1990; Cubeta y Vilgalys, 1997)

1.2.3.2 Etiología

El género *Rhizoctonia* fue descrito por primera vez por De Candolle en 1815, quien identificó a *R. crocorum* (Pers.) DC como la especie tipo. *R. solani*, la especie más significativa dentro de este género, fue documentada por Kühn en 1858 (Parmeter y Whitney, 1970; Ogoshi, 1987; Carling y Summer, 1992).

Las especies dentro de este género exhiben estados telomórficos que pertenecen a varias familias, órdenes e incluso clases. Actualmente, hay aproximadamente 120 especies, variedades o formas especiales descritas. Algunas de ellas fueron identificadas erróneamente y en realidad no pertenecen a este género, mientras que otras se consideran sinónimos de especies descritas previamente (Ogoshi, 1996).

1.2.3.3 Características de *Rhizoctonia* spp.

- La ramificación de las hifas vegetativas ocurre cerca del septo distal de las células jóvenes.
- Se forma un septo en el punto de ramificación cerca del origen.

- Hay constricción en la ramificación.
- Hay septos de tipo doliporo.
- No hay conexiones de pinza.
- No se producen conidios, excepto células monilioides (que no se clasifican como conidios).
- Los esclerocios no se diferencian en la corteza y la médula.
- No hay rizomorfos.
- Las hifas se anastomosan.
- Células nucleadas.
- Una característica adicional común a todos los subgrupos de *Rhizoctonia* es la presencia de un estado sexual que pertenece a los Basidiomycota.

1.2.3. 4 Taxonomía

Reino: Fungi

División: Basidiomycota

Clase: Agaricomycetes

Orden: Cantharellales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: ***Rhizoctonia***

1.2.3.5 Ciclo de vida de *Rhizoctonia*

Rhizoctonia spp. es un hongo que posee una notable capacidad para persistir en el suelo y en los residuos vegetales, tales como rastrojos y malezas, mediante estructuras de resistencia como esclerocios y micelio. En su fase sexual o teriomórfica, el hongo también forma basidiósporas. Estas estructuras de resistencia permiten que *Rhizoctonia* spp. sobreviva en condiciones desfavorables y, cuando las condiciones ambientales son propicias, se activa para comenzar su

ciclo de vida. Las condiciones ideales para su crecimiento son altas humedades, superiores al 90%, y temperaturas que oscilan entre 16°C y 25°C. Cuando estas condiciones se combinan con la presencia de un hospedante susceptible, cualquiera de las estructuras de resistencia presentes en el campo comenzará a germinar y formar micelio. Este micelio es atraído por los exudados radicales que las raíces de las plantas expelen, lo que facilita su crecimiento y colonización de la superficie de la planta.

Una vez colonizada la planta, el hongo forma cojincillos de infección que secretan enzimas peptolíticas, las cuales degradan la pared celular de la planta y provocan el inicio de la infección. Los síntomas más comunes de la enfermedad causada por *Rhizoctonia* spp. incluyen manchas necróticas y canchros oscuros en el hipocótilo y la base del tallo, lo que causa una condición conocida como secadera (figura 2). Finalmente, el hongo produce signos visibles de su presencia en forma de estructuras de resistencia, como esclerocios, micelio (figura 3) y basidiocarpos.

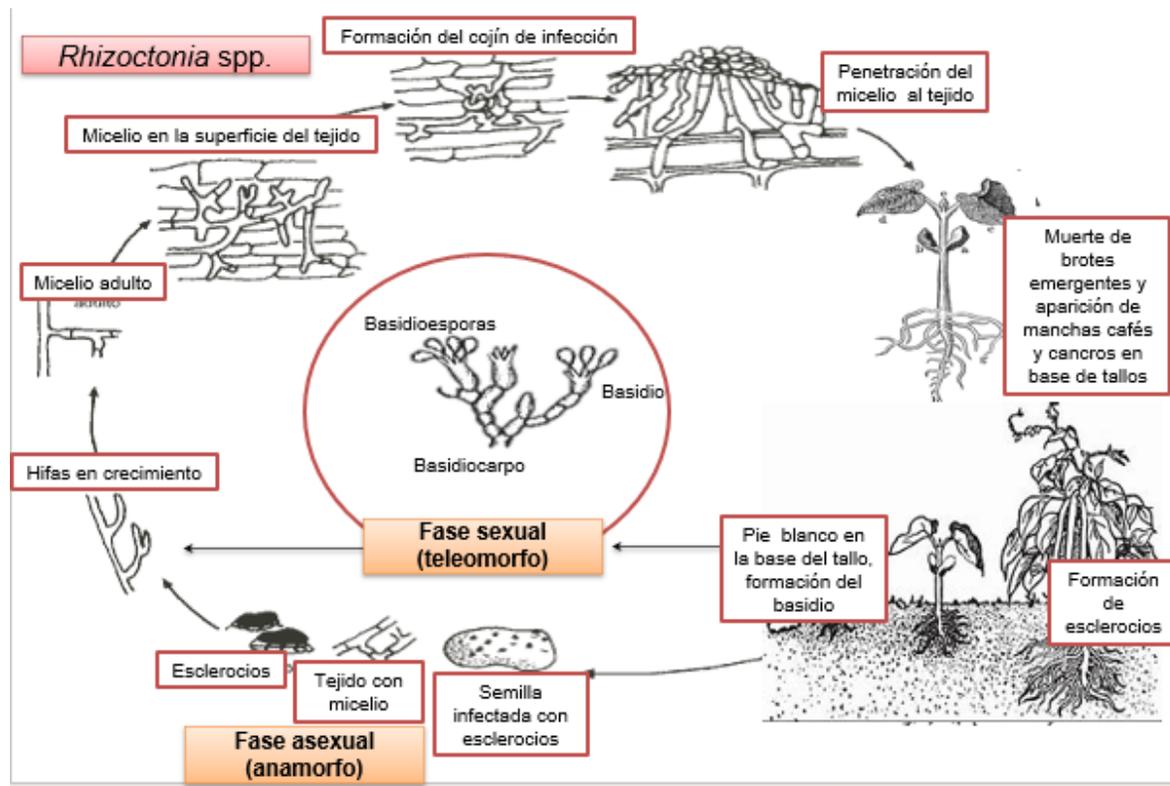


Figura 1. Ciclode vida de *Rhizoctonia* spp.



Figura 2. Manchas café, purpuras y cancos en raíz y base de tallo



Figura 3. Formación de micelio y esclerocios en base de tallos

1.2.3.6 Reacción de anastomosis

Los aislamientos de este género son divididos en tres grupos: uno es *Rhizoctonia* multinucleada, que posee tres o más núcleos por célula, hifas grandes (de aproximadamente 6-10 mm de diámetro), y el teleomorfo pertenece al género

Tanatephorus Donk. Otro grupo es el de *Rhizoctonia* binúcleada, el cual tiene solamente dos núcleos por célula (raramente uno o tres), hifas pequeñas (de 4-7 mm de diámetro), y el telomorfo pertenece al género *Ceratobasidium* Rogers. Y el tercer grupo, incluye a *R. oryzae* y *R. zea*, los cuales son multinucleados y tienen el telomorfo en el género *Waitea* Warcup y Talbot (Ogoshi, 1987).

La anastomosis se refiere a la fusión de hifas, lo que facilita el intercambio genético a través de la migración de núcleos, lo que da como resultado la formación de nuevos híbridos. La compatibilidad es necesaria y se relaciona con la frecuencia de alelos, que funciona como una etapa inicial de formación que sufre un proceso de segregación reconocible solo entre individuos compatibles. Agrios (1997) describe la anastomosis como la fusión de hifas en contacto, mientras que Anderson (1982) la caracteriza como una manifestación de incompatibilidad somática o vegetativa entre cepas diferentes, pero relacionadas.

1.2.3.7 Grupos de anastomosis (AG)

El sistema de clasificación principal para estos grupos se basa en la anastomosis hifal. La documentación más temprana de anastomosis en este hongo fue reportada por Matsumoto (1921) y Matsumoto *et al.* (1931), citados por Carling (1996). Esta clasificación se aplica tanto a especies multinucleadas como binucleadas. La reacción de anastomosis hifal refleja compatibilidad o incompatibilidad somática (Anderson, 1982). Un grupo de anastomosis (GA) consiste en aislados genéticamente relacionados, determinados por su capacidad de anastomosarse entre sí. Esta interacción puede variar desde la fusión completa, que implica la fusión de las paredes celulares y las membranas citoplasmáticas, hasta una ausencia total de reacción.

Aunque los mecanismos y el significado biológico de la reacción de anastomosis siguen siendo insuficientemente comprendidos, ilustran las interacciones somáticas entre individuos genéticamente diferentes o similares, observables tanto a nivel microscópico como macroscópico en *Rhizoctonia* (Sneh *et al.*, 1991). La fusión de

hifas ocurre entre aislados dentro del mismo GA, lo que indica compatibilidad o incompatibilidad vegetativa. Por el contrario, los aislados de diferentes GA no se fusionan, lo que sugiere diferencias genéticas. Esta observación ha llevado a varios autores a proponer que estos representan especies distintas.

El estado taxonómico de varios GA es objeto de debate. Se ha sugerido una correlación entre el concepto de GA y las especies biológicas; Sin embargo, para *Rhizoctonia*, esta correlación aún no se ha definido debido a la falta de características morfológicas y una comprensión de los mecanismos sexuales en juego en este complejo (Carling y Sumner, 1992). Múltiples autores indican que los diferentes AG pueden simbolizar poblaciones genéticamente aisladas dentro de un taxón común, potencialmente con un sistema de interesterilidad que restringe o previene el intercambio sexual entre estos grupos (Adams, 1988; Vilgalys y Cubeta, 1994).

Las reacciones de anastomosis pueden verse influenciadas por numerosos factores, incluidas las condiciones nutricionales y de laboratorio, la inestabilidad genética y el estado nuclear de los aislados (ya sea homocariota, heterocariota o ambos), lo que complica su interpretación.

1.2.3.8 Grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani*

Hasta la fecha, se han descrito 14 AG para *R. solani*, designados de AG1 a AG13, donde los miembros generalmente se anastomosan solo con individuos dentro del mismo grupo, junto con AG-BI, que incluye aislamientos que pueden fusionarse entre sí y con otros grupos (ver cuadro 1). Muchos AG se han subdividido en subgrupos que se distinguen por características bioquímicas, moleculares o patógenas (Laroche *et al.*, 1992; Johnk y Jones, 1993; Liu *et al.*, 1993; Liu y Sinclair, 1993). Esto sugiere que tanto los AG como los subgrupos pueden representar poblaciones que evolucionan independientemente dentro del complejo *R. solani* (Vilgalys y Cubeta, 1994).

Cuadro 1. Grupos y subgrupos de *R. solani*, principales hospedantes y enfermedades que causa, y el estado teleomórfico asignado (Ceresini, 1999;Gonzalez, 2008).

Grupo-subgrupo	Enfermedad	Hospedante	Teleomorfo
AG1-1A	Marchites de la vaina, Mancha de la vaina Tizón de la hoja Tizón de la hoja Tizón del sur Mancha marrón	Arroz Maíz Sorgo Soya Alcanfor Césped	<i>Thanatphorus cucumeris</i> ¿ <i>T. sasakii</i> ?
AG1-1B	Mustia Putrefacción Pudrición de pie	Frijol Calabaza Lechuga Soya	
AG1-1C	Ahogamiento y corona de la raíz	Zanahoria	
AG2-1	Ahogamiento Pudrición del cogollo Tizón de la hoja	Crucíferas Tulipanes Arroz Maíz Remolacha Pasto	Fresas <i>T. cucumeris</i>
AG2-2IIIB	Falso tizón de la vaina Tizón de la vaina Costra negra Parche marrón	Remolacha Pasto	
AG2-2IV	Pudrición de la raíz y tizón de la hoja Parche largo		
AG3	Costra negra y cancro del tallo/stolones Target spot” Tizón de la hoja Mancha café	Papa Tabaco Berenjena	Tomate <i>T. cucumeris</i>
AG4(HGI, HGII, HGIII)	Pudrición del fruto Pudrición del tallo Ahogamiento y cancro del tallo	Tomate Chícharo Papa	<i>T. cucumeris</i> ¿ <i>T. patricola</i> ?

	Ahogamiento y pudrición de la raíz	Habichuela,cebolla, algodón	
	Pudrición de la vaina	Soya,cacahuate	
AG5	Costra negra	Papa	<i>T. cucumeris</i>
	Parche marrón	Pasto	
	Pudrición de raíz	Frijol, soya	
AG6 (HG-I y GV)	No patogénico		<i>T. cucumeris</i>
AG7	No patogénico		<i>T. cucumeris</i>
AG8	Manchones desnudos	Cereales	<i>T. cucumeris</i>
	Pudrición de raíz	Papa	
AG9 (TP y TX)	Patógeno débil	Crucíferas	<i>T. cucumeris</i>
AG10	No patogénico		<i>T. cucumeris</i>
AG11	Mancha bandeada	Trigo	<i>T. cucumeris</i>
AG12	Tizón	Rabano	<i>T. cucumeris</i>
		Trigo	
AG13	No patogénico		<i>T. cucumeris</i>
AG-BI	No patogénico		<i>T. cucumeris</i>

MacNish *et al.* (1993) categorizaron cuatro tipos de reacciones (C0, C1, C2 y C3) en función del nivel de interacción entre las hifas para dilucidar las relaciones genéticas entre los aislamientos (véase la Tabla 2). En diferentes AG, no hay interacción o la interacción es mínima, denominadas reacciones C0 y C1, respectivamente. Se observa que C1 también puede ocurrir entre individuos dentro del mismo AG (Cubeta y Vilgalys, 1997). Para los aislamientos que pertenecen al mismo AG, se identifican las reacciones C2 y C3. La reacción C2, denominada reacción de muerte, implica la fusión de aislamientos y la lisis posterior de las células anastomosadas, lo que indica incompatibilidad vegetativa entre individuos genéticamente distintos. Por el contrario, la reacción C3, conocida como fusión perfecta, tiene lugar entre individuos genéticamente similares, como cuando un aislamiento se compara consigo mismo. La reacción C2 desempeña un papel crucial en la identificación de individuos genéticamente distintos dentro de una población, mientras que se espera que C3 ocurra entre clones. Sin embargo, la clasificación basada en la anastomosis no es completamente satisfactoria, ya que un aislado

puede anastomosarse total o parcialmente con aislados de múltiples grupos de anastomosis, y algunos pueden incluso perder su capacidad de fusionarse (Anderson 1982; 1984; Vilgalys y Cubeta, 1994; Carling, 1996).

Cuadro 2. Clasificación de las reacciones de anastomosis (Carling *et al.*, 1988; MacNish *et al.*, 1993)

Categoría	Parentesco (Relación)	Descripción de la interacción
C3	Mismo grupo de anastomosis (AG) Compatibilidad vegetativa (VC) Mismo aislado	Fusión de la pared, membranas fusionadas, el punto de anastomosis es indistinguible. El diámetro de anastomosis casi siempre es igual que el de las hifas.
C2	Mismo AG Diferente VC	Conexión de paredes obvia, no se sabe si hay intercambio de membranas. Células adyacentes mueren, el diámetro de la fusión es muy angosto.
C1	Diferente AG	Contacto entre hifas, aparente conexión de hifas, pero no hay penetración de membranas.
C0	Diferente AG	No hay interacción

1.2.3.9 Grupos de anastomosis en otros taxones multinucleados

Los anamorfos multinucleados de los géneros *Waitea*, *Warcup* y *Talbot* también se clasifican en grupos de anastomosis (AG). Esto incluye dos especies: *Rhizoctonia zae* y *Rhizoctonia oryzae*. Para *R. zae*, se ha identificado un AG conocido como WAG-Z, aislado del arroz, ya que este hongo es una amenaza significativa para uno de los cultivos principales a los que afecta. De manera similar, *R. oryzae* está asociado con un AG, conocido como WAG-O, que se obtuvo de muestras de suelo (Sneh *et al.*, 1991).

1.2.3.10 Grupos de anastomosis en taxones binucleados

Al igual que con *R. solani*, las reacciones de anastomosis han servido como criterio principal para clasificar las especies binucleadas. A nivel mundial, existen dos escuelas de investigación principales que se centran en los aislados binucleados: los investigadores japoneses, que han identificado 17 AG (AGAAGQ) (Ogoshi *et al.*, 1983), y los investigadores estadounidenses, que clasificaron sus aislados en siete grupos (CAG-1 a CAG-7) (Burpee *et al.*, 1980). Sin embargo, Ogoshi *et al.* (1983) demostraron que estas clasificaciones coincidían, excepto para los grupos CAG-5 y CAG-7, que luego se denominaron AG-R y AG-S, respectivamente.

En Japón, Hyakumachi *et al.* (2005) introdujeron dos grupos adicionales: AG-T y AG-U. Este último también fue descubierto por Copes *et al.* (2005) en Mississippi, EE. UU. Recientemente, Yang y colegas (2015) en China informaron sobre un nuevo grupo de anastomosis designado AG-W.

La Tabla 3 enumera todos los AG identificados para taxones binucleados, siguiendo la nomenclatura establecida por Sneh *et al.* (1991).

Cuadro 3. Grupos y subgrupos de taxones binucleados de acuerdo con la nomenclatura japonesa, estados anamorfo y teleomorfo asociados y cultivos que atacan.

Grupo de anastomosis	Anamorfo	Teleomorfo	Cultivos que ataca
AGA (CAG2)*	<i>R. candida</i> ; <i>R. endophytica</i> <i>var. ndophytica</i> ; <i>R. fragariae</i> ; <i>R. ramicola</i>	<i>Ceratobasidium</i> <i>cornigerum</i> <i>C. ramicola</i>	Fresa, remolacha azucarera, frijol, tomate, melón, espinaca, pepino, lechuga
AGBa	<i>R. fumigata</i>	<i>C. setariae</i>	Arroz, millo
AGBb	<i>R. oryzae-sativae</i>	<i>C. oryzae-sativae</i>	Arroz, millo
AGBc	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Arroz
AGC	<i>R. globulares</i>	<i>C. cornigerum</i>	Poco patogénico (remolacha azucarera, trigo)
AGD (CAG1)	<i>R. cereales</i>	<i>C. cereal</i>	Césped, cereales, remolacha azucarera, cebolla, papa, algodón, frijol, soya
AGE(CAG3, CAG6)	<i>R. muneratii</i>	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, rábano, cebolla,

			remolacha azucarera, lechuga, tomate
AGF(CAG4)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, rábano, cebolla, lechuga, tomate
AGG	<i>R. fragariae</i>	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Fresa, remolacha azucarera, frijol, tomate
AG H	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG I	<i>R. fragariae</i>	Desconocido	Fresa y caña de azúcar
AG J	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG K	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG L	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG M	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG N	Desconocido	Desconocido	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG O	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	No hay reportes de enfermedades para este grupo
AG P	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Té
AG Q	Desconocido	<i>C. cornigerum</i>	Césped
AG R (CAG 5)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Frijol, papa, rábano, lechuga
AG S (CAG7)	Desconocido	<i>Ceratobasidium</i> sp.	Azalea
AG T	Desconocido	Desconocido	Rosa, azalea
AG U	Desconocido	Desconocido	Rosa, azalea
AGW	Desconocido	Desconocido	Papa

*Entre paréntesis se muestra la equivalencia con los aislamientos americanos.

1.3.JUSTIFICACIÓN

Rhizoctonia es un género heterogéneo conocido por causar enfermedades en una amplia gama de cultivos de importancia agrícola, particularmente en el frijol, teniendo pérdidas anuales mayores al 30%. Para controlar enfermedades como la rizoctoniasis, los agricultores suelen practicar la rotación de cultivos con gramíneas, que son resistentes a esta enfermedad. Sin embargo, en el maíz cultivado en Sinaloa, se ha observado que esta enfermedad produce lesiones en las vainas basales de las hojas y canchros en la base de los tallos.

Es fundamental identificar las especies y los grupos de anastomosis dentro del género *Rhizoctonia* que se asocian con estos cultivos. Además, determinar su patogenicidad mediante pruebas de inoculación cruzada será esencial para desarrollar estrategias adecuadas de manejo de enfermedades para los cultivos antes mencionados.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la reacción de anastomosis e identificar morfológica y molecularmente los aislados de *Rhizoctonia* spp. obtenidos de frijol y maíz en el estado de Sinaloa, para determinar su variabilidad genética y severidad.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Identificar morfológica y molecularmente los aislados de *Rhizoctonia* spp. obtenidos de frijol y maíz en el estado de Sinaloa.
2. Determinar los grupos anastomóticos de los aislados de *Rhizoctonia* spp. de frijol y maíz.
3. Evaluar la patogenicidad de los aislados de *Rhizoctonia* spp. en sus hospedantes originales (frijol y maíz); así como su patogenicidad en los mismos hospedantes en inoculaciones cruzadas.
4. Evaluar la sensibilidad de los aislados de *Rhizoctonia* spp. a fungicidas químicos convencionales.

1.5 HIPOTESIS

La rhizoctoniasis está asociada a un complejo de especies del género *Rhizoctonia*, con una diversidad morfológica, molecular y patogénica. Esta diversidad influye en la severidad de los aislados en el cultivo de frijol y maíz, lo que permitirá identificar patrones específicos de virulencia y posibles estrategias de manejo integrado para minimizar los daños agrícolas.

CAPITULO 2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y PATOGENICA DE AISLADOS DE *Rhizoctonia solani* ASOCIADOS A LA SECADERA DE FRIJOL EN EL NORTE DE SINALOA, MÉXICO

RESUMEN

La producción de frijol en Sinaloa es afectada continuamente por enfermedades de la raíz causadas por hongos, incluyendo a *Rhizoctonia solani*. El objetivo de este estudio fue caracterizar mediante morfología, análisis de secuencias de ADN y patogenicidad a los aislados de *R. solani* asociados a plantas de frijol con síntomas de pudrición de raíz en lotes comerciales del norte de Sinaloa. Durante el ciclo 2020-2021, se recolectaron plantas enfermas en los municipios de Ahome, El Fuerte y Guasave, obteniendo un total de 71 aislados. La caracterización morfológica en medio PDA mostró colonias con micelio blanquecino a café claro, se observó la liberación de pigmento color marrón en el de cultivo, así como producción de esclerocios amorfos, cafés oscuros y de 3-5 mm de diámetro. Los caracteres morfológicos fueron consistentes con los descritos para *R. solani*. Mientras que, para la caracterización molecular, se extrajo ADN genómico de los aislados, se amplificó por PCR parte del gen RPB2, y los productos amplificados se secuenciaron. El análisis filogenético con datos de secuencias RPB2 confirmó la identificación de 63 aislados como *R. solani* y permitió asignarlos al grupo de anastomosis (AG): AG-4. Del total de aislados analizados, 86% corresponden al subgrupo de anastomosis AG-4 HGI y el 14% al subgrupo AG-4 HGIII. La patogenicidad se evaluó en frijol a los 30 días después de la siembra, evaluando porcentaje de germinación y severidad de los aislados, mostrando diferentes niveles

de patogenicidad. Este estudio servirá de base para otros estudios con poblaciones de *R. solani*.

Palabras claves: patogenicidad, esclerocios, RPB2, análisis filogenético, anastomosis.

ABSTRAC

Bean production in Sinaloa is continually affected by root diseases caused by fungi, including *Rhizoctonia solani*. The objective of this study was to characterize, through morphology, DNA sequence analysis and pathogenicity, *R. solani* isolates associated with bean plants with root rot symptoms in commercial plots in northern Sinaloa. During the 2020-2021 cycle, diseased plants were collected in the municipalities of Ahome, El Fuerte and Guasave, obtaining a total of 71 isolates. The morphological characterization in PDA medium showed colonies with whitish to light brown mycelium, the release of brown pigment was observed in the culture, as well as the production of amorphous sclerotia, dark brown and 3-5 mm in diameter. The morphological characters were consistent with those described for *R. solani*. While, for molecular characterization, genomic DNA was extracted from the isolates, part of the RPB2 gene was amplified by PCR, and the amplified products were sequenced. Phylogenetic analysis with RPB2 sequence data confirmed the identification of 63 isolates as *R. solani* and allowed them to be assigned to the anastomosis group (AG): AG-4. Of the total isolates analyzed, 86% correspond to the AG-4 HGI anastomosis subgroup and 14% to the AG-4 HGIII subgroup. Pathogenicity was evaluated in beans 30 days after sowing, evaluating germination percentage and severity of the isolates, showing different levels of pathogenicity. This study will serve as a basis for other studies with *R. solani* populations.

Keywords: pathogenicity, sclerotia, RPB2, phylogenetic analysis, anastomosis.

2.1 INTRODUCCIÓN

La producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las actividades agrícolas más significativas en la economía de México. Los ingresos generados por el cultivo de frijol anualmente en el país oscilan entre los 17 millones de pesos, con una producción mayor de 965 mil toneladas (SIAP, 2022). Los principales estados productores de frijol son Zacatecas y Sinaloa. La producción agrícola de frijol en Sinaloa se lleva a cabo en el ciclo otoño-invierno y cubre una superficie sembrada de 63,262 ha, de las cuales el 70% están establecidas en el norte de Sinaloa, en los municipios de Ahome, el Fuerte y Guasave (SIAP, 2024). La producción de frijol local se caracteriza por tierras de cultivo pobres en materia orgánica, altamente fragmentadas sin un esquema de rotación de cultivos, condiciones ambientales muy variables, que favorecen la incidencia de plagas y enfermedades que ponen en riesgo y limitan dicha actividad.

Un problema muy recurrente en el norte de Sinaloa es la secadera de frijol y asociada a esta se han encontrado hongos fitopatógenos entre los cuales incide de manera más frecuente la especie *Rhizoctonia solani*.

El basidiomiceto *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo *Thanatephorus cucumeris*) es considerado un género heterogéneo de hongos que habitan en el suelo, con una distribución global, es un fitopatógeno que infecta a una amplia variedad de cultivos de importancia agrícola (Chavarro *et al.*, 2015; Gonzalez, 2006; Kanetis *et al.*, 2016). La variabilidad genética, morfológica y patogénica de cepas de *R. solani* lo han clasificado en 14 grupos de anastomosis (AG) reproductivamente incompatibles entre sí (Carling *et al.*, 2008). Los grupos de anastomosis están enumerados del AG1 al AG13 y el AG BI (Cubeta y Vilgalys 1997; Hane *et al.*, 2014). La complejidad

de las especies de los grupos de anastomosis la han llevado a una subdivisión de muchos AG en subgrupos de anastomosis que difieren en una o más características bioquímicas, genéticas o patógenas (Cubeta y Vilgalys 1997).

Los AG se asignaban de forma tradicional observando la fusión de hifas con aislados probadores conocidos. Sin embargo, el análisis molecular es ahora el método más eficiente para la clasificación de *Rhizoctonia* (Sharon *et al.*, 2006), Esto permite determinar la especie, el grupo de anastomosis y subgrupo de anastomosis al que corresponde.

En frijol, los grupos de anastomosis reportados son el AG 1, AG 2 y AG 4. De forma individual se han asociado con diferentes tipos de enfermedades. Por ejemplo, AG 1 y sus diferentes subgrupos de anastomosis registrados en frijol son el AG-IA, AG 1-IB, AG 1-IE y el AG 1-IF, los cuales producen daños en follaje, ocasionando atizonamientos, lesiones necróticas y acuosas en follaje (Gonzalez, 2008; Valentin *et al.*, 2016). Mientras que el AG 2 y el AG 4 causan lesiones en raíz, como canchales oscuros, lesiones corchosas y secadera de planta (Woodhall *et al.* 2008).

La especificidad del huésped entre los grupos de anastomosis es variable (Carling *et al.*, 2002; Fiers *et al.*, 2011). Originalmente se pensaba que AG 4 infectaba sólo a la papa; sin embargo, se ha informado que los aislados de este grupo también infectan a soya, maíz, tabaco, tomate, remolacha azucarera, frijol, entre otros.

En plantas de frijol el grupo de anastomosis AG-4 de *R. Solani* es reconocido por ocasionar la pudrición de la semilla, marchitamiento de la postemergencia, pudrición de las extremidades y pudrición de la raíz de plantas de cultivo importantes, como el frijol.

Actualmente México carece de investigación en esta especie, solo se ha trabajado con *Rhizoctonia solani* en hortalizas como la papa, pues es el cultivo que con anterioridad mayor problema ha tenido con este patógeno. Con respecto al cultivo de frijol en Sinaloa, no hay investigaciones referentes a *Rhizoctonia solani* a pesar de que actualmente se está presentando continua y agresivamente la Rhizoctoniasis.

En este sentido el objetivo de la investigación es identificar morfológica, molecular y patogénicamente los grupos y subgrupos de anastomosis de *Rhizoctonia*

presentes en el cultivo de frijol, lo cual ayudara a determinar las estrategias de control, que se deben enfocar a buscar alternativas sustentables.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el período de 2020 a 2021, se inspeccionaron 50 lotes de frijol en los municipios del Fuerte, Ahome y Guasave, en el norte de Sinaloa. Cada lote se muestreó por la técnica del cinco de oro (Martínez 2012), se tomaron 2 muestras por sitio de muestreo, obteniendo 10 muestras de tejido infectado por cada lote, las cuales se colocaron en bolsas de plástico que eran rotuladas con el lugar y la fecha, coordenadas geográficas, variedad y síntoma, para posteriormente colocarlas dentro de una hielera a una temperatura de 8-10°C aproximadamente (Agrios, 2005), y ser trasladadas al laboratorio para ser procesadas. Para el aislamiento de *Rhizoctonia solani*, del margen de la lesión se hicieron cortes de 0.5 X 0.5 cm, y se sembraron en cajas Petri de 8.5 cm de diámetro con PDA (papa dextrosa agar) acidificado con ácido láctico (Yang, *et al* 2014; Muzhinji, *et al* 2015). Las siembras se incubaron a 25°C por 48 horas y se observaron bajo microscopio biológico para purificar las colonias de *Rhizoctonia solani*.

Los aislados se transfirieron a agar agua (AA) al 1.6% y se incubaron a 25°C. A las 24 horas las cajas se revisaban bajo el microscopio, para elegir una punta de hifa y transferirla al medio PDA (Sneh, 1996) y se incubaron a 25°C durante 7 días, para posteriormente conservarse en tubos falcón de 30 ml con sustrato estéril y agua destilada estéril.

De las cepas puras obtenidas de *Rhizoctonia solani* se realizó la caracterización morfológica tomando variables macro y microscópicas como color de colonia, formación de esclerocios, diámetro de hifa y numero de núcleos por hifa (Sneh *et al*, 1991;). Los aislados se pusieron a crecer en PDA y se incubaron a 25°C por 30 días, con ispecciones diarias para medir el tiempo de formación de esclerocios, el

color de la colonia. Para medir el diámetro de hifas y núcleos por células hifales se usaron colonias de 7 días de crecimiento, el micelio de cada aislado de *Rhizoctonia solani* se transfirió a un portaobjetos de vidrio y se tiñeron con Safranin-O (Bandoni 1979), se revisaron 20 células hifales bajo un microscopio biológico con micrometro Olympus Lx.

Para evaluar la reacción de anastomosis entre los aislados, se usaron cajas Petri con 10 ml de agar agua, y un portaobjeto estéril dentro de esta, sobre un extremo del portaobjeto se coloca un corte de micelio agar de .5 cm² de un aislado y en el otro se coloca un aislado diferente con el cual se quiere confrontar, y se incubó a temperatura ambiente por 24 horas, y se observa al microscopio para ver si las hifas de los dos aislados hicieron contacto y al ser así la zona de contacto se tiñe con azul de tripano al 0.05% y se determinó qué tipo de reacción de anastomosis hubo según Carlling (1998).

Para la identificación molecular, se extrajo ADN genómico de cada uno de los dos aislados, La extracción de ADN se realizó a partir de 50 a 100 mg de micelio por el método CTAB (Murray y Thompson, 1980; Doyle y Doyle, 1990; Porebski *et al.*, 1997). y se amplificaron fragmentos parciales de la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (*rpb2*), y se secuenciaron con los pares de cebadores RBP2-980F (5'-TGYCCIGCIGARACICCHGARGG-3') Y RPB2-7Cr (5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3') (Liu *et al.*, 1999; Reeb *et al.*, 2004), respectivamente.

Posteriormente se secuenció la muestra. Los datos de las secuencias obtenidas se compararon mediante búsqueda BLAST en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para determinar el AG de los aislados individuales. Las secuencias se alinearon con el algoritmo Clustal W integrado en el paquete de software MEGA 6.0 (Tamura *et al.* 2013) y la relación filogenética entre aislados se calculó utilizando el método de unión de vecinos (NJ) (Saitou y Nei 1987) bajo el modelo de dos parámetros de Kimura. (Kimura 1980) como modelo de sustitución, omitiendo todos los sitios con espacios vacíos. Para fines de comparación, se obtuvieron de GenBank secuencias de ADN ITS de otros aislados de AG conocidos y se utilizaron para la filogenia. El análisis Bootstrap se realizó

utilizando 1000 pseudoréplicas del conjunto de datos. La secuencia de *Botryobasidium simile* (número de acceso de GenBank GEL2348) se utilizó como grupo externo para la raíz.

Las pruebas de patogenicidad para cada aislado se realizaron mediante la inoculación de 5 semillas de frijol común variedad azufrado higuera sembradas en macetas de 2 kg, con suelo agrícola. Un total de 50 ml de una suspensión de micelio ajustada a una concentración de 1×10^5 fragmentos de micelio/ml se colocaron directamente sobre las semillas. Como control se utilizaron cinco semillas de frijol común azufrado higuera sin inocular. Todas las plantas se mantuvieron en un invernadero durante 15 días a temperaturas que oscilan entre 22 y 32°C. Para cada tratamiento se hicieron cuatro repeticiones. Los porcentajes de germinación se evaluaron a los 10 días después de la siembra y los síntomas de pudrición de la raíz, cancro del tallo en las plántulas y secadera a los 30 días después de la siembra,. La prueba de patogenicidad se realizó dos veces con resultados similares. Los hongos se reaislaron de las raíces infectadas y se encontró que eran morfológicamente idénticos a los aislados utilizados para la inoculación, cumpliendo así los postulados de Koch. Para evaluar la severidad en las raíces e hipocótilos de cada planta se evaluaron usando una escala ordinal del 0 al 5, desarrollada por Cardoso y Echandi (1997). Se realizó un Test de Kruskal Wallis, con una $P > 0.05$. con el programa Infostat.

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En recorridos en campo, los síntomas observados en los cultivos de frijol común en los municipios del Fuerte, Ahome y Guasave fueron secadera de planta, lesiones corchosas en base de tallo, canchales oscuros y pudriciones de raíz (Figura 1), tal como los describe Woodhall y colaboradores (2008) para *Rhizoctonia* spp.

Se obtuvieron 71 aislados los cuales se nombraron desde FAVF400 hasta FAVF470. Las colonias de los aislados de plantas de frijol con síntomas de secadera mostraron un crecimiento micelial algodonoso de color blanco a marrón, tornando el medio a color ámbar. El micelio de los aislados es septado, hialino, con constricción en la célula basal, formando ramas en ángulo recto, hifas de 5-8 μm de ancho y esclerocios de 1-3 mm de diámetro, sin presencia de esporas (Figura 2), características típicas de *R. solani* (Sneh *et al.*, 1991; Wantanabe, 2002; Zitter *et al.*, 2004). La tinción de núcleos reveló la presencia de aislados multinucleados únicamente y en la prueba de anastomosis todos los aislados se anastomosaron entre sí clasificándose en la categoría C3 y C2 (figura 3), según Carling *et al.*, 1988 y MacNish *et al.*, 1993.



Figura 4. Síntomas en plantas de frijol en campo. A. Secadera de planta de frijol. B. Cancros onscuros en base de tallo y raíz. C. Lesiones corchosas.

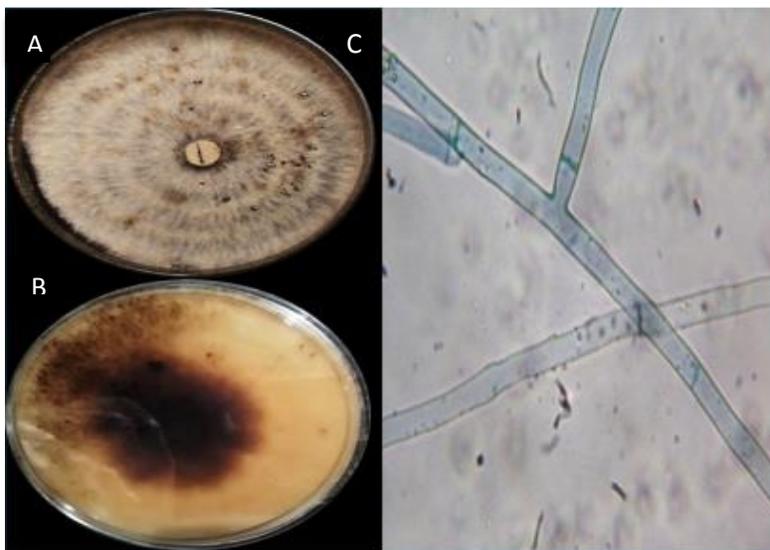


Figura 5. Morfología de las colonias y coloración del medio en PDA de *Rhizoctonia* spp. A. Micelio algodonoso y microesclerocios sobre superficie en PDA. B. Cambio de color del medio de cultivo. C. Micelio septado, constricción en la célula basal y formación de ángulo recto.

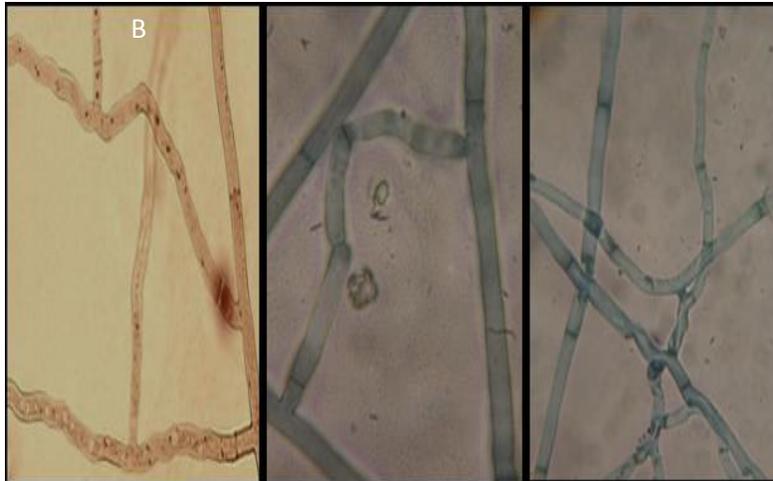


Figura 6. Tinción de núcleos y reacción de anastomosis. A. Hifas multinucleadas. B. Fusión de la pared, membranas fusionadas, el punto de anastomosis no es muy frecuente. El diámetro de anastomosis casi siempre es igual que el de la hifa. Reacción de anastomosis C3, positiva, indica que los aislados confrontados corresponden al mismo AG. C. Conexión de paredes obvia, no se sabe si hay intercambio de membranas. Células adyacentes mueren, el diámetro de la fusión es muy angosto. Reacción de anastomosis C2, positiva, indica que los aislados confrontados corresponden al mismo AG pero diferente subgrupo.

La identificación molecular de 63 aislados, a partir de los fragmentos parciales de la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (*rpb2*), con los pares de cebadores RBP2-980F Y RPB2-7Cr, permitió determinar que las 63 secuencias tenían un 99-100% de similitud a *Rhizoctonia solani* con secuencias homólogas de NCBI. El análisis filogenético, se realizó con las secuencias de los aislados de *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia oryzae-sative* y *Botryobasidium simile*. Se procesó una matriz integrada por las regiones RPB2 de 84 aislados, incluyendo los del presente estudio y 21 cepas de referencia. Este análisis estableció la identidad de un solo grupo de anastomosis para *Rhizoctonia solani* AG-4, y dos

subgrupos de este; donde 54 aislados resultaron pertenecer al AG-4 HGI y 9 aislados al subgrupo AG-4 HGIII (Figura 4).

En México estos subgrupos de anastomosis han sido reportados en plantas cultivables como Jamaica, papa, chile y tomate (Moreno, *et al.*, 2013; Ortega *et al.*, 2022), pero no en frijol común, Sin embargo estudios en otros países productores de frijol, reportan la presencia de los grupos de anastomosis AG-1, AG-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-9, AG-10 y AG-11. En el norte del estado de Sinaloa, México, los resultados mostraron que todos los aislados de *R. solani* obtenidos de cultivos de frijol común en los municipios del Fuerte, Ahome, y Guasave pertenecen al grupo de anastomosis AG-4, esto concordando con informes anteriores indicando que *R. Solani* AG-4 es el AG predominante en las áreas de producción de frijol causando pudrición de la raíz y secadera de plantas en todo el mundo seguido de AG-1 y AG-2 (Gülsüm *et al.*, 2024). Los subgrupos HGI Y HGIII fueron los más prevalentes.

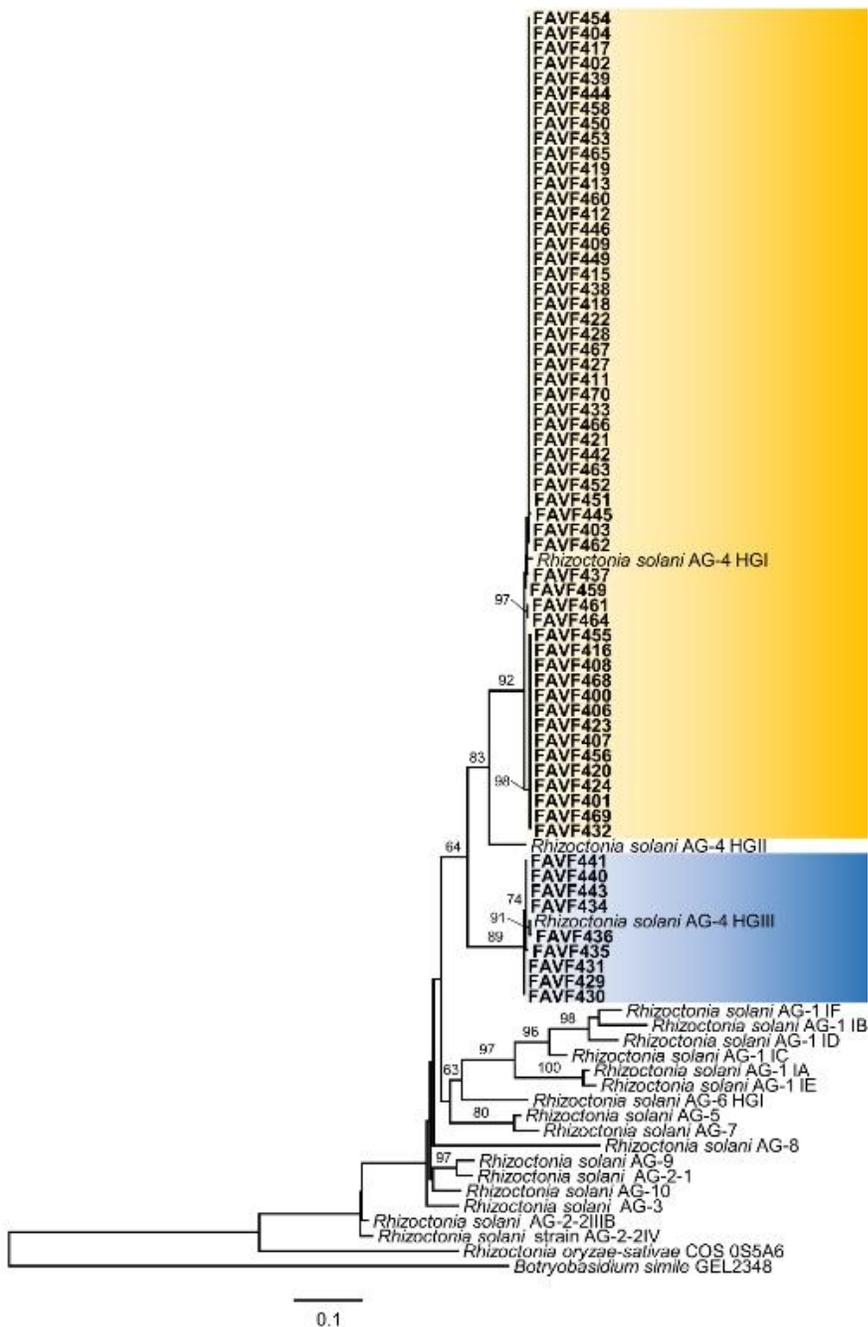


Figura 7. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes RPB2 de 63 aislados de *Rhizoctonia* spp. (en negritas) representativos de 70 obtenidos de plantas de frijol con síntomas de secadera y pudrición de raíz. Bootstrap de 1000 réplicas; grupo externo: *Botryobasidium simile*. AG=Grupo anastomósico.

En la prueba de patogenicidad todos los aislados resultaron patogénicos, afectando directamente el proceso de germinación de las semillas de frijol hasta en un 100% comparado con los testigos (figura 5). Los síntomas asociados a la rizoctoniasis incidieron a los 10 días después de la inoculación, las plantas infectadas presentaron pudrición de raíz, canchales oscuros en raíz e hipocótilo, lesiones corchosas y secadera. Los tratamientos aplicados tuvieron diferencias significativas comparadas con el control (figura 6), siendo el subgrupo HGI el más severo.

Esto demuestra que los hongos aislados de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI y HGIII son agentes causales de pudrición radicular y secadera de frijol en el norte de Sinaloa. Los resultados del porcentaje germinación de semillas y la severidad de los aislados evidenciaron que estos patógenos son capaces de limitar el desarrollo del cultivo y debido a esto baja el rendimiento y la producción de este grano, derivando pérdidas económicas a causa de enfermedades radiculares en las regiones estudiadas.

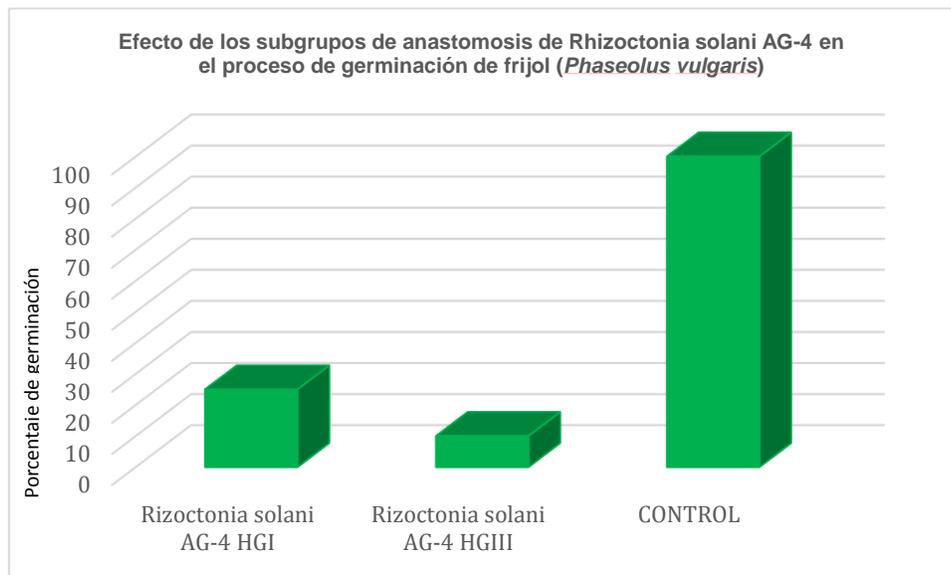
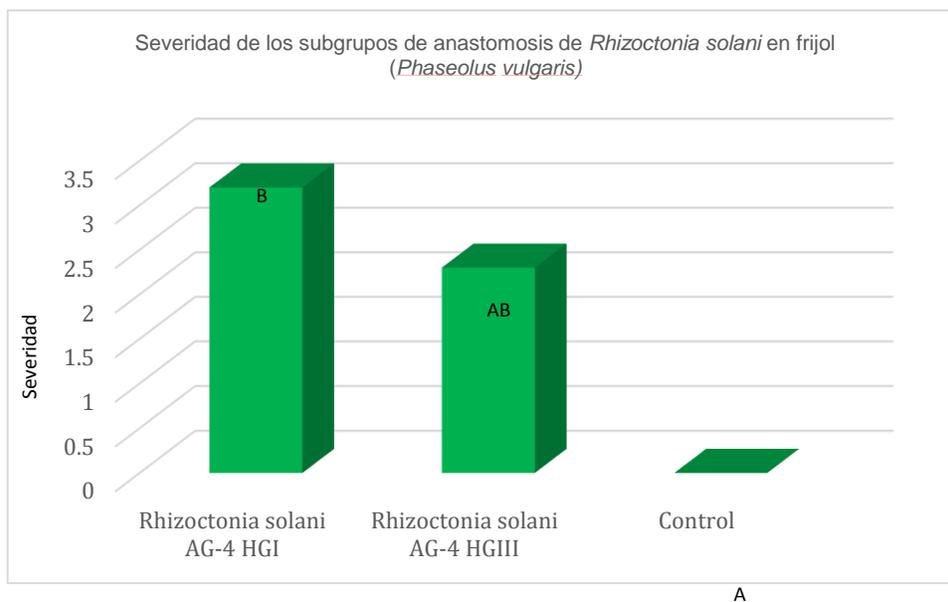


Figura 8. Porcentaje de germinación de semillas de frijol**Figura 9. Severidad de los subgrupos de anastomosis. Medias con una letra en común no son significativamente diferente ($P > 0.05$).**

2.4 CONCLUSIÓN

En forma natural *Rhizoctonia solani* se encontró ocasionando lesiones corchosas, canchales negros, pudriciones de raíz y secadera de plantas en los cultivos de frijol en el norte de Sinaloa, particularmente en los municipios de Ahome, el Fuerte y Guasave.

El grupo de anastomosis que está presente en el cultivo de frijol en el norte de Sinaloa es el AG-4 y sus subgrupos HGI y HGIII.

Las pruebas de patogenicidad indicaron que ambos grupos de *anastomosis* causan enfermedad en el frijol, siendo sumamente severos evitando la germinación de las semillas y generando la manifestación de síntomas como la secadera de plantas.

Estudios futuros deberán de centrarse en la búsqueda de variedades de frijol resistente a la rhizoctoniasis, en el control de la enfermedad y patogenicidad en otros cultivos, para generar una estrategia en el manejo contra los diferentes grupos y subgrupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani*.

CAPITULO 3. PRIMER REPORTE DE *Ceratobasidium* SP. (AG-A Y AG-G) CAUSANTE DE PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CÁNCER DEL TALLO EN FRIJOL COMÚN EN MÉXICO

El frijol (*Phaseollus vulgaris*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial por su valor nutricional. México siembra 269,581.60 ha de las cuales son siniestradas más de 8,000 ha, por la incidencia de enfermedades (SIAP, 2021). En el ciclo otoño-invierno 2020-2021, se revisaron 31 sitios de frijol, en Sinaloa, al noroeste de México. Las plantas mostraban un crecimiento deficiente en campo, diversos grados de atrofia, un cancro negro y decoloración de marrón a marrón oscuro en base de tallo e hipocotíleo, y ausencia de raíces secundarias y pelos absorbentes. Del tejido sintomático de plantas enfermas se tomaron pequeños fragmentos del borde de las lesiones, los cuales se desinfectaron con NaOCl al 1% durante 2 min, se enjuagaron con agua estéril y luego se colocaron en agar papa dextrosa (PDA) a temperatura ambiente $\pm 2^{\circ}\text{C}$. Se identificaron 90 aislamientos de hongos tomados de puntas de hifas individuales como *Rhizoctonia* spp. Según los

rasgos morfológicos (Sneh et al. 1991). La tinción nuclear con Safranina O al 0.03%+KOH al 3% mostró que el 2.2% de los aislados presentaron dos núcleos por célula hifal. El diámetro promedio de las hifas fue de 4,79 μm . No se formaron esclerocios después de 20 días en PDA a 25°C. Las características morfológicas de los aislados se parecían a las de *Rhizoctonias* binucleadas (BNR). La identidad de especie se confirmó con extracciones de ADN genómico de los aislados, se amplificó por PCR parte del gen RPB2, y los productos amplificados se secuenciaron. Las identidades de las secuencias resultantes se confirmaron mediante análisis BLAST. Una de las secuencias tienen un 93.89% de identidad a las de *Ceratobasidium* sp. AG-A accesión MT126788.1 y otra un 95.62% a *Ceratobasidium* sp. AG-G accesión DQ301701.1 en GenBank. Los aislados se identificaron como BNR AG-A y AG-G. Para confirmar la patogenicidad del aislado, se inocularon cinco plantas con 4 repeticiones de frijol variedad azufrado higuera con una suspensión micelial. Se utilizaron cinco plantas no inoculadas como controles negativos. Las plantas se colocaron en bolsas negras con una mezcla de suelo agrícola más arena en un proporción 2:1 a temperatura ambiente (día / noche) con un fotoperiodo de 12 h. Los síntomas comenzaron a aparecer en las plantas inoculadas 15 días después de la inoculación. Todas las plantas inoculadas mostraron los mismos síntomas descritos anteriormente. Se volvió a aislar el hongo y se confirmó que era *Rhizoctonia* sp. El *Ceratobasidium* sp. es uno de los patógenos más comunes asociados con la pudrición de la raíz y sería una amenaza para la producción de frijol en todo el mundo. Hasta donde sabemos, este es el primer informe de BNR AG-A y AG-G causante de la pudrición de la raíz de frijol en México. A partir de ahora, los productores deberán considerar este patógeno para el manejo de suelo y el cultivo.

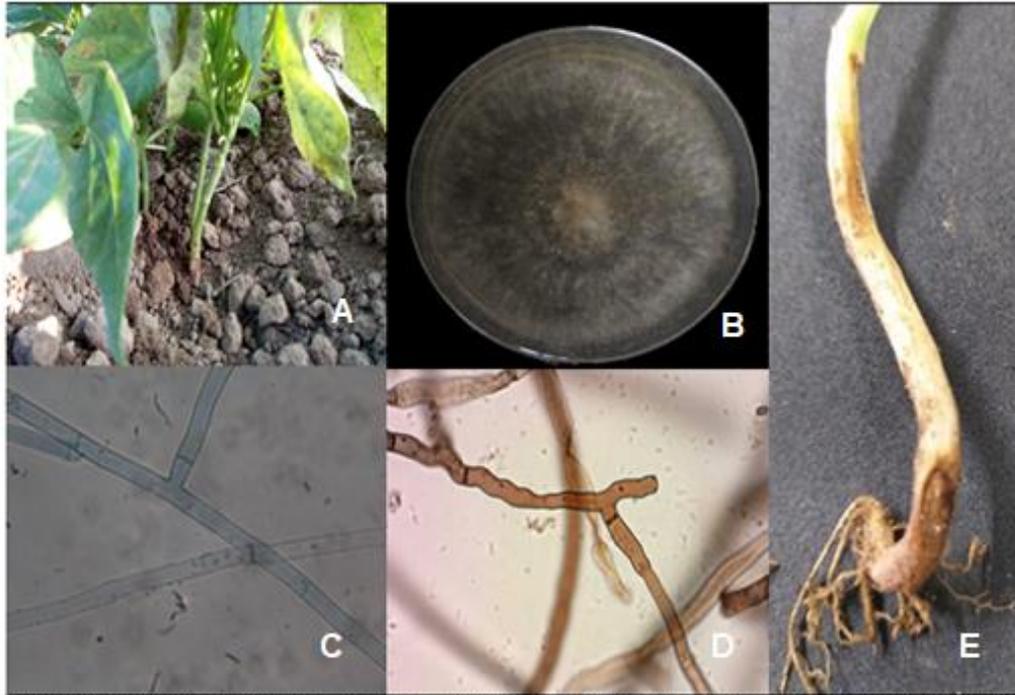


Figura 10. Aislado de *Rhizoctonia* binucleada identificado como *Ceratobasidium* AG-A. A, síntoma de frijol en campo. B, morfología de la colonia de 20 días en PDA. C, micelio formando ángulo recto y con constricción en célula basal. D, hifas binucleadas teñidas con safranina O. E, cancro y manchas marrones en base de tallo y raíz .desarrollados en prueba de patogenicidad.



Figura 11. Aislado de *Rhizoctonia* binucleada identificado como *Ceratobasidium* AG-G. A morfología de la colonia de 20 días en PDA. B, micelio formando ángulo recto y con constricción en célula basal. C, canchros oscuros en base de tallo en plantas de frijol. D, cancro y manchas marrones en base de tallo y raíz desarrollados en prueba de patogenicidad comparadas con una planta testigo.

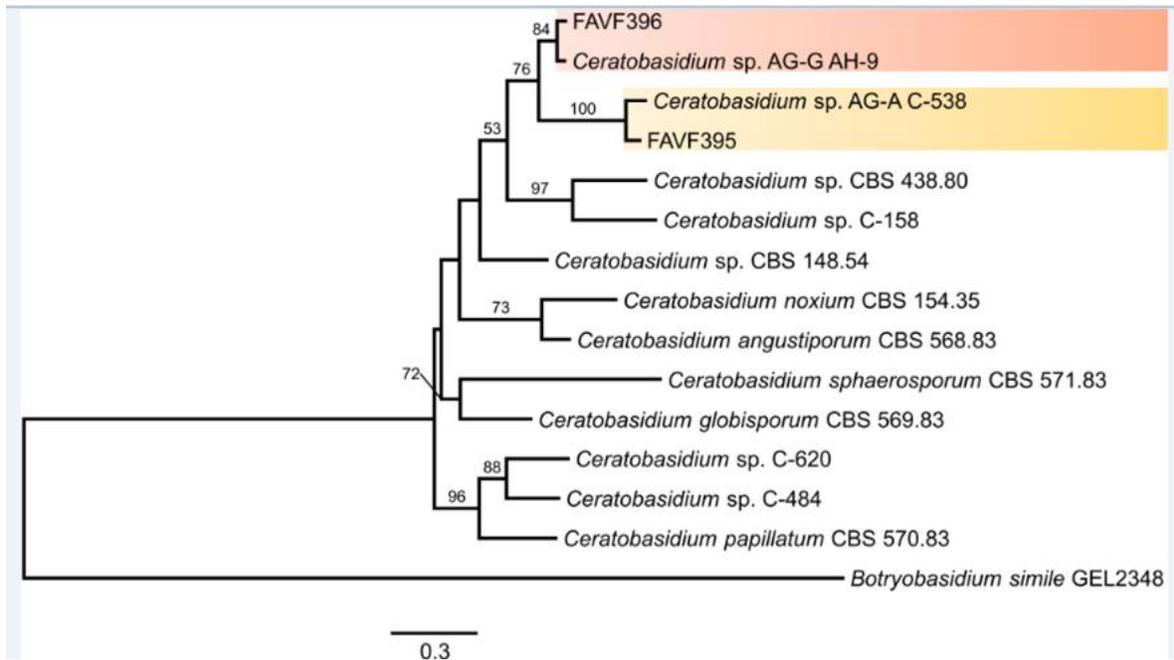


Figura 12. Arbol filogenético de *Ceratobasidium*. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes ITS Y RPB2 de 2 aislados de *Rhizoctonia* spp. (en negritas) de plantas de frijol con síntomas de secadera y pudrición de raíz. Bootstrap de 1000 réplicas; grupo externo: *Botryobasidium simile*. AG=Grupo anastomósico.

CAPITULO 4. CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Rhizoctonia* CAUSANTES DE LA MANCHA BANDEADA DE LA VAINA DEL MAÍZ EN EL NORTE DE SINALOA

RESUMEN

El estado de Sinaloa produce anualmente mas de 37 millones de toneladas de maíz, posicionandose en el primer lugar a nivel nacional, sin embargo su rendimiento se ve limitado por hongos fitopatogenos, entre ellos el género *Rhizoctonia*. El objetivo de este estudio fue caracterizar mediante morfología, análisis de secuencias de ADN y patogenicidad aislados de *Rhizoctonia* asociados a maíz con síntomas de mancha bandeada de la hoja en lotes comerciales del norte de Sinaloa. Durante 2021-2022, se recolectaron plantas enfermas en los municipios de Ahome, el Fuerte y Guasave, obteniendo 27 aislados. La caracterización morfológica en PDA mostró colonias con micelio blanquecino a café, se observó la liberación de pigmento en el medio, esclerocios amorfos, rojos y cafés, con un diámetro <1 mm, caracteres descritos para *Rhizoctonia*. Para la caracterización molecular, se extrajo ADN genómico, se amplificó por PCR parte del gen RPB2, y los productos amplificados se secuenciaron. El análisis filogenético confirmó la identificación de 18 aislados como *Rhizoctonia zea*, y 9 aislados como *Rhizoctonia solani*. Los aislados de *R. solani* corresponden al grupo de anastomosis (AG): AG-4. 3 de ellos corresponden al subgrupo de anastomosis AG-4 HGI y el 6 al subgrupo AG-4 HGIII. La patogenicidad y severidad de los aislados se evaluó en plantas de maíz a los 44 días después de la siembra, mostrando diferencias significativas con el control en una prueba de Tukey ($p > 0.05$). Todos los aislados reprodujeron los síntomas típico de la enfermedad, pero *Rhizoctonia zea* fue el más patogenico.

Palabras clave: anastomosis, RPB2, severidad

ABSTRACT

The state of Sinaloa produces more than 37 million tons of corn annually, ranking first at the national level, however its yield is limited by phytopathogenic fungi, including the genus *Rhizoctonia*. The objective of this study was to characterize, through morphology, DNA sequence analysis and pathogenicity, *Rhizoctonia* isolates associated with corn with banded leaf spot symptoms in commercial plots in northern Sinaloa. During 2021-2022, diseased plants were collected in the municipalities of Ahome, El Fuerte and Guasave, obtaining 27 isolates. The morphological characterization in PDA showed colonies with whitish to brown mycelium, the release of pigment in the medium was observed, amorphous, red and brown sclerotia, with a diameter <1 mm, characters described for *Rhizoctonia*. For molecular characterization, genomic DNA was extracted, part of the RPB2 gene was amplified by PCR, and the amplified products were sequenced. Phylogenetic analysis confirmed the identification of 18 isolates as *Rhizoctonia zea*, and 9 isolates as *Rhizoctonia solani*. The *R. solani* isolates correspond to the anastomosis group (AG): AG-4. 3 of them correspond to the anastomosis subgroup AG-4 HGI and 6 to the AG-4 HGIII subgroup. The pathogenicity and severity of the isolates were evaluated in corn plants at 44 days after sowing, showing significant differences with the control in a Tukey test ($p>0.05$). All isolates reproduced the typical symptoms of the disease, but *Rhizoctonia zea* was the most pathogenic.

Keywords: anastomosis, RPB2, severity

4.1 INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cultivos de importancia económica, por su productividad y adaptabilidad, se cultiva en todo el mundo, forma parte de la dieta humana y animal (Minaya y Reyes, 2016). Es el cereal más producido a nivel mundial, con una producción estimada de alrededor de 1,240 millones de toneladas métricas, esto lo coloca por delante del trigo y el arroz (STATISTA, 2024).

México es el tercer mayor productor de este grano, después de Estados Unidos y Croacia, cuya producción anual es de 27,549,917.53 toneladas (SIAP, 2023). El Estado de Sinaloa produce 6,656,330.77 toneladas, lo que lo posiciona como el principal de este cultivo (SIAP, 2023), aunque la producción se ve limitada por una serie de factores adversos, tanto ambientales como biológicos. En estos últimos destacan enfermedades que ocasionan pérdidas en el maíz, como la pudrición del tallo y raíces, ocasionadas por un complejo de hongos fitopatógenos como: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Phytium*, *Phitophthora*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia* (CIMMYT, 2004).

Los últimos años, en las parcelas de maíz en el norte de Sinaloa, se ha venido presentado una mancha bandeada en la vaina de la hoja de maíz, la cual se ha convertido en un problema latente y severo, ocasionando clorosis y debilitamiento de las plantas. El organismo causal de la enfermedad ha sido estudiado previamente en otros países, como Filipinas (Mauis y Quimio, 2006) y la India (Singh y Harlapu, 2014), donde reportan a *R. solani* asociada a la mancha bandeada de la hoja y la vaina del maíz. En China, reportan a *R. solani* (AG-1 I A, AG-1 I C, AG-2, AG-3, AG-4 y AG-5); *R. zea* y *Rhizoctonia* binucleada AG-A y AG-K (Zhang y Chen, 1986; Li *et al.*, 1998; Yang, *et al.*, 2014). El AG-2 de *R. solani* estuvo implicado en la pudrición de la raíz del maíz y AG-4 en la necrosis del hipocótilo, mientras que *R. zea* fue menos virulento que AG-2 y AG-4 de *R. solani*, causó lesiones de color marrón claro en las raíces primarias y laterales (Telmadarrehei, *et al.* 2011) y una podredumbre esclerocial del maíz.

En Argentina, estudios basados en la morfología de las hifas y colonias, la condición nuclear y la reacción de la anastomosis, identificaron a *R.zeae* como agente causal de la mancha de la vaina del maíz (Gutierrez *et al.*,2007).

En el norte de Sinaloa, se observaron algunos síntomas diferentes a las descritas. Por ejemplo, las lesiones fueron más oscuras que las descritas previamente por Telmadarrehei, *et. al.* 2011, y de color rojizo a marrón oscuro. Además, se observaron esclerocios muy pequeños, rojizos amorfos en las lesiones y el desarrollo de las mismas fue más lento. El clima es muy cálido y húmedo en el norte de Sinaloa y la morfología y virulencia de las especies de *Rhizoctonia* puede diferir en las regiones.

En consecuencia, nuestros objetivos en este estudio fueron identificar las especies de *Rhizoctonia* asociadas con la enfermedad de la mancha bandeada de la vaina del maíz y determinar la patogenicidad de los aislados de maíz.

4.2 MATERIALES Y METODOS

4.2.1 Toma de muestras y aislamiento del hongo

Se inspeccionaron 30 campos comerciales de maíz en los municipios de Ahome, el Fuerte y Guasave. Del 01 de noviembre de 2021 al 15 de marzo de 2022. Se recolectaron plantas que presentaban síntomas similares a los inducidos por *Rhizoctonia*, dos plantas de cada esquina y el centro, totalizando 10 muestras por cada campo. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas y se transportaron al laboratorio en una hielera a 8-10°C. Se obtuvieron fragmentos (0.5 X 0.5 cm) del tejido afectado, principalmente en la vaina de la hoja basal y el primer nudo. Se desinfectaron en condiciones asépticas en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% durante 3 min, luego se lavaron durante 3 min en agua destilada estéril y se secaron en papel de filtro Whatman No. 1. Luego, los fragmentos se colocaron en un diámetro de 90 mm de agar agua al 1,5% (WA) modificado con sulfato de estreptomicina (Sigma Aldrich a 50 mg/litro) (Muzhinji, et al., 2015). Los aislamientos se transfirieron a placas Petri con agar agua (WA) y se incubaron durante 24 horas a 25 °C; Posteriormente, bajo un microscopio de disección, se transfirió una punta de hifa de cada aislado a PDA (Sneh, 1996). Los aislados se coservaron en tubos de PDA inclinados con aceite mineral (Ohkura, et al., 2009).

4.2.2 Caracterización nuclear

Para el conteo de núcleos por célula hifal, fue necesario, reactivar los aislados de *Rhizoctonia*, se colocaron trozos de 5 mm en cajas Petri con PDA y se incubaron durante 3 días a 25°C. El margen de las colonias se transfirió a un portaobjetos, donde se mezcló el micelio con NaOH al 3% y Safranina O (Kronland y Stanghellini, 1988). Luego se examinaron las células de cada aislado en busca de núcleos con un aumento de 40X utilizando un microscopio de campo claro. Se contó el número de núcleos de las cepas en al menos 20 células de hifas jóvenes por cada aislado. (Sneh, et al., 1991).

4.2.3 Morfología de colonias y características esclerociales de *Rhizoctonia* spp.

Para analizar el patrón de crecimiento de los aislados de *Rhizoctonia* de maíz, se transfirió a cada uno de ellos a cajas Petri con PDA y se incubaron a 25C° durante 25 días. En ese lapso se documentaron el color de las colonias, el diámetro y color de los esclerocios mediante observación visual (Singh, *et al.* 2015).

4.2.4 Extracción de ADN genómico y amplificación por PCR

Para la identificación molecular, se extrajo ADN genómico de cada uno de los dos aislados, La extracción de ADN se realizó a partir de 50 a 100 mg de micelio por el método CTAB (Murray y Thompson, 1980; Doyle y Doyle, 1990; Porebski *et al.*, 1997). y se amplificaron fragmentos parciales de la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (*rpb2*), y se secuenciaron con los pares de cebadores RBP2-980F (5'-TGYCCIGCIGARACICCHGARGG-3') Y RPB2-7Cr (5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3') (Liu *et al.*, 1999; Reeb *et al.* ., 2004), respectivamente.

Posteriormente se secuenció la muestra. Los datos de las secuencias obtenidas se compararon mediante búsqueda BLAST en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para determinar el AG de los aislados individuales. Las secuencias se alinearon con el algoritmo Clustal W integrado en el paquete de software MEGA 6.0 (Tamura *et al.* 2013) y la relación filogenética entre aislados se calculó utilizando el método de unión de vecinos (NJ) (Saitou y Nei 1987) bajo el modelo de dos parámetros de Kimura. (Kimura 1980) como modelo de sustitución, omitiendo todos los sitios con espacios vacíos. Para fines de comparación, se obtuvieron de GenBank secuencias de ADNr ITS de otros aislados de AG conocidos y se utilizaron para la filogenia. El análisis Bootstrap se realizó utilizando 1000 pseudoréplicas del conjunto de datos. La secuencia de

Botryobasidium simile (número de acceso de GenBank GEL2348) se utilizó como grupo externo para la raíz.

4.2.5 Pruebas de patogenicidad

La patogenicidad de los aislados de *Rhizoctonia* spp. se realizó en macetas con suelo estéril, por maceta se colocó una semilla de maíz y se dejó crecer durante un mes después de la siembra. Para el experimento se utilizaron 27 tratamientos, que representaron a cada uno de los aislados) y el testigo, cada maceta representaba una unidad experimental. Por tratamiento se hicieron cuatro réplicas (4 macetas, cada una con una semilla). Plantas de maíz de un mes de edad se inocularon en la vaina de la hoja basal siguiendo los procedimientos previamente descritos (Perdomo, et al., 2007). Se incluyeron controles no infectados en cada prueba de patogenicidad. La temperatura del suelo durante los experimentos de invernadero varió de 20 a 35 C° y de 16 a 27 C° en el primer y segundo experimento, respectivamente.

Los tratamientos se dispusieron en un diseño completamente aleatorizado. Las plantas inoculadas y no inoculadas se fertilizaron una vez por semana con fertilizante Miracle-Gro (The Scotts Company LLC; Marysville, Ohio, EE. UU.) siguiendo las recomendaciones del fabricante y se regaron según fuera necesario. El grado de patogenicidad de los aislados se evaluó 14 días después de la inoculación y se calculó con base al área de la vaina de hoja afectada (AVHA); para ello se utilizó una hoja de plástico transparente cuadrada de 7 X 7 cm con cuadros de 0.5 X 0.5 cm. la cual se colocó sobre las lesiones cuantificando el número de puntos sobre las mismas siguiendo el procedimiento Zadoks & Schein (1979).

Los datos obtenidos del área afectada por tizón de la vaina de la hoja del maíz (cm²) se analizaron utilizando ANOVA y la separación de medias siguiendo la prueba de Tukey, como se describió previamente (Little y Hills 1973). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando INFOSTAD.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Aislamiento de *Rhizoctonia* spp. maíz

La incidencia de *Rhizoctonia* se presentó en los 30 campos comerciales de maíz muestreados en el norte de Sinaloa, desde noviembre de 2021 hasta marzo de 2022, en un rango de 15, 40 y 70%, respectivamente, 2-3 semanas antes de la cosecha del elote. Se realizaron cinco aislamientos del hongo de cada campo, finalmente, se seleccionaron 27 aislados los cuales se nombraron como FAVF475 hasta FAVF501 (tabla 1).

En recorridos en campo, los síntomas observados en los cultivos de maíz en los municipios del Fuerte, Ahome y Guasave fueron manchas bandeadas en la vaina de la hoja (Figura 13A), tal como los describe Perdomo (2007) y, Medina y colaboradores (2012) para *Rhizoctonia* spp., además asociado a esto también se encontraron canchros oscuros y pudriciones de raíz (Figura 13B)



Figura 13. Síntomas generados por *Rhizoctonia* en campo A. Mancha bandeada en la primera vaina de la hoja de maíz. B. Cancro oscuro en raíz.

4.3.2 Caracterización Morfológica

Los aislados de *Rhizoctonia* mostraron un crecimiento micelial hialino a las 24 horas y después de las 96 horas el micelio tomaba un color blanco y café, y tornaban el medio de cultivo a un color ámbar (figura 14A). Todos los aislados formaron esclerocios de forma irregular algunos de color rojo y café (cuadro 4).

El micelio de los aislados es septado, hialino, con constricción en la célula basal, formando ramas en ángulo recto, hifas con un diámetro de 3-5 μm de ancho y esclerocios de <1 mm de diámetro, sin presencia de esporas (figura 14B), características típicas del género *Rhizoctonia* spp. (Sneh *et al.*, 1991). La tinción de núcleos reveló la presencia de aislados multinucleadas únicamente (figura 14C).

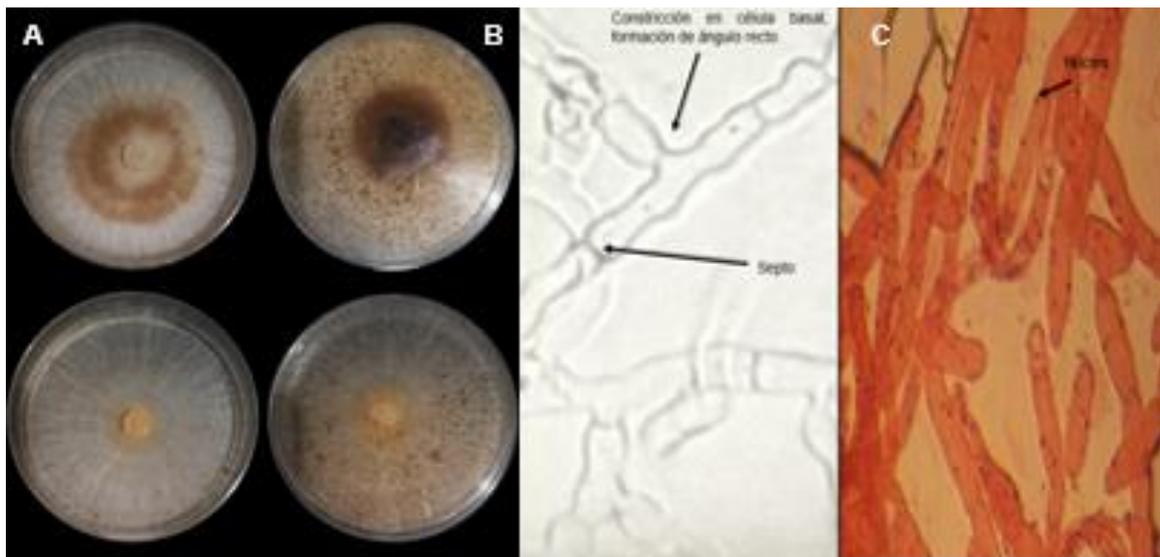


Figura 14. Morfología colonial de los aislados de *Rhizoctonia* spp. de maíz. A. Colonias con micelio blanco y café, formación de esclerocios rojos y café, cambio de color del medio. B. Micelio septado, con constricción en célula basal, ramificaciones con formación de ángulos rectos. C. Hifas multinucleadas.

Cuadro 4. Características morfológicas de *Rhizoctonia* spp. de maíz

Aislado	Tiempo de colonización en el medio (días)	de Color del micelio	Diámetro del micelio (µm)	Numero de núcleos por célula hifal	Color del esclerocio	Forma del esclerocio
FAVF475	2.75 AB	Blanco	3.50	5.60	Rojo	Irregular
FAVF476	4.50 B	Crema	3.20	8.10	Café	Irregular
FAVF477	2.50 A	Blanco	3.50	6.10	Rojo	Irregular
FAVF478	3.50 AB	Blanco	3.35	8.40	Rojo	Irregular
FAVF479	2.50 A	Blanco	4.00	6.20	Rojo	Irregular
FAVF480	2.75 AB	Blanco	4.55	6.45	Rojo	Irregular
FAVF481	3.00 AB	Crema	3.95	5.20	Café	Irregular
FAVF482	3.00 AB	Blanco	3.55	6.15	Rojo	Irregular
FAVF483	3.25 AB	Blanco	3.65	6.50	Rojo	Irregular
FAVF484	3.00 AB	Blanco	3.35	6.70	Rojo	Irregular
FAVF485	3.00 AB	Blanco	3.70	6.75	Rojo	Irregular
FAVF486	3.25 AB	Blanco	3.80	6.35	Rojo	Irregular
FAVF487	3.50 AB	Blanco	3.90	7.20	Rojo	Irregular
FAVF488	2.75 AB	Blanco	3.80	6.86	Rojo	Irregular
FAVF489	2.75 AB	Blanco	4.05	6.90	Rojo	Irregular
FAVF490	3.25 AB	Blanco	4.60	6.90	Rojo	Irregular
FAVF491	3.50 AB	Blanco	4.25	7.20	Rojo	Irregular
FAVF492	3.50 AB	Crema	4.20	7.70	Café	Irregular
FAVF493	3.50 AB	Blanco	4.15	6.80	Rojo	Irregular
FAVF494	3.25 AB	Crema	4.65	7.00	Café	Irregular
FAVF495	4.50 B	Crema	4.70	6.95	Café	Irregular
FAVF496	3.75 AB	Crema	4.00	7.15	Café	Irregular
FAVF497	4.25 AB	Blanco	4.50	6.65	Rojo	Irregular
FAVF498	4.50 B	Blanco	3.85	6.95	Rojo	Irregular
FAVF499	4.50 B	Crema	3.90	6.85	Café	Irregular
FAVF500	3.75 AB	Crema	4.00	6.85	Café	Irregular
FAVF501	4.00 AB	Crema	3.85	7.00	Café	Irregular

4.3.3 Identificación molecular

Fragmentos parciales de la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (*rpb2*), con los pares de cebadores RBP2-980F Y RPB2-7Cr, permitieron determinar que los 27 aislados secuenciados de maíz tenían un 99-100% de similitud con el género *Rhizoctonia* spp. con secuencias homólogas de NCBI. El análisis filogenético, se realizó con las secuencias de los aislados de *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia zea* y *Botryobasidium simile*. Se procesó una matriz integrada por las regiones RPB2 de 42 aislados, incluyendo los del presente estudio y 15 cepas de referencia. Este análisis estableció la identidad de dos especies, donde 18 de los aislados corresponden a *Rhizoctonia zea* y el resto a *Rhizoctonia solani* con un solo grupo de anastomosis AG-4, y dos subgrupos de este; donde 3 aislados resultaron pertenecer al AG-4 HGI y 6 aislados al subgrupo AG-4 HGIII (Figura 15).

En países como estados unidos, Canadá, Europa, Japón, Turquía y Venezuela, se han reportado a *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia zea* infectando a un amplio rango de hospedantes entre ellos el maíz (Demirci & Kordali, 1999; Vojvodic *et al.*, 2021). Estudios en México han registrado la presencia de *Rhizoctonia solani* AG-4 subgrupos de anastomosis HGI y HGIII incidiendo en cultivos como Jamaica, papa, chile, tomate y sandía (Montero, *et al.*, 2013; Ortega *et al.*, 2022), pero no en maíz. Sin embargo, investigaciones en otros países productores de maíz, reportan infección por los grupos de anastomosis AG-1, AG-2, AG-4, AG-5, AG-6 y AG-11 (Ohkura *et al.*, 2009). En el norte del estado de Sinaloa, México, este es el primer reporte donde se identifica a las especies *Rhizoctonia zea* y *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI y HGIII infectando a maíz, generando la mancha bandeada y pudrición de raíces en los municipios del Fuerte, Ahome, y Guasave.

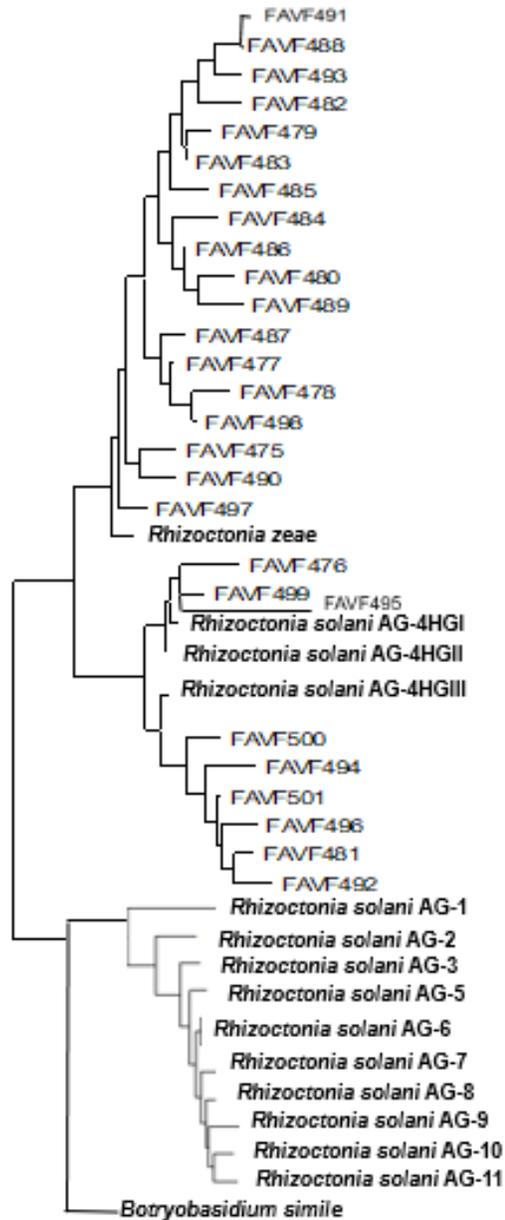


Figura 15. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes RPB2 de 27 aislados de *Rhizoctonia* spp. obtenidos de plantas de maíz con síntomas de mancha bandeada de la vaina y pudrición de raíz. Bootstrap de 1000 réplicas; grupo externo: *Botryobasidium simile*. AG=Grupo anastomósico.

4.3.4 Pruebas de patogenicidad

En la prueba de patogenicidad todos los aislados resultaron patogénicos. Los síntomas asociados a *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia zea* incidieron a los 14 días después de la inoculación, las plantas infectadas presentaron un atizomamiento en la vaina de la hoja, y pudrición de la misma. Los tratamientos aplicados tuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) comparadas con el control (figura 16), siendo los aislados FAVF488, FAVF 491 Y FAVF493 los más severos, mismos que fueron identificados como *Rhizoctonia zea*.

Esto demuestra que los hongos aislados de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI y HGIII y *Rhizoctonia zea* son agentes causales de la mancha bandeada de la vaina del maíz en el norte de Sinaloa. La severidad de los aislados evidenció que estos patógenos son capaces de limitar el desarrollo del cultivo y debido a esto baja el rendimiento y la producción de este grano, derivando pérdidas económicas a causa de enfermedades radicales en las regiones estudiadas.

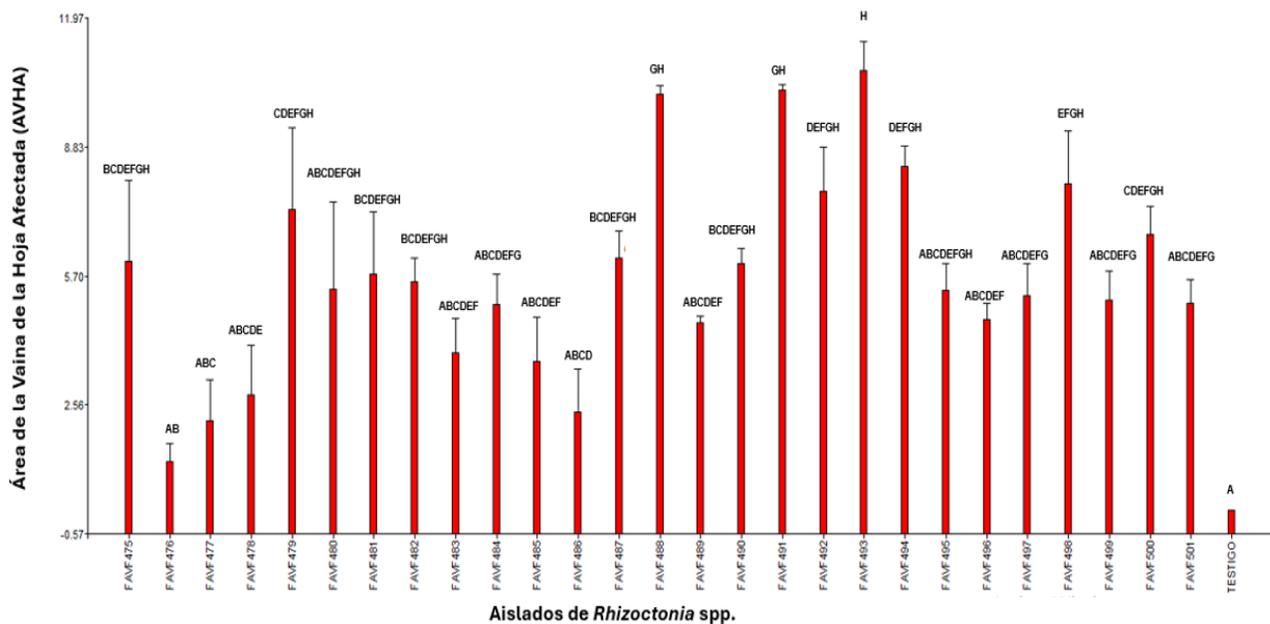


Figura 16. Patogenicidad de los aislados de *Rhizoctonia* de maíz

4.4 CONCLUSIÓN

Las especies *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia zea* se encontraron ocasionando manchas bandeadas atizonadas en las vainas de la hoja basal, canchros negros y pudriciones de raíz en los cultivos de maíz en el norte de Sinaloa, en los municipios de Ahome, el Fuerte y Guasave.

El grupo de anastomosis de *Rhizoctonia solani* que está presente en el cultivo de maíz en el norte de Sinaloa es el AG-4 y sus subgrupos HGI y HGIII.

Las pruebas de patogenicidad indicaron que ambas especies causan enfermedad en el maíz, siendo sumamente severos manifestando la mancha bandeada del maíz.

Estudios futuros deberán de centrarse en el control de la enfermedad y patogenicidad en otros cultivos, para generar una estrategia en el manejo contra los diferentes grupos y subgrupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* y *Rhizoctonia zea*.

CAPITULO 5. PRIMER REPORTE DE *Rhizoctonia solani* AG-7 CAUSANTE DE PUDRICIÓN DE LA RAÍZ DEL FRIJOL COMÚN EN MÉXICO

RESUMEN

Lotes de frijol (*Phaseolus vulgaris*), en el norte Sinaloa, en 2020 presenta síntomas de pudrición de raíz y secadera de planta, con incidencia hasta de un 35% por parcela. El presente estudio se estableció con el objetivo de identificar a través de la secuenciación del ITS y RPB2 a los patógenos asociados a la pudrición de raíz en frijol. Para ello se seleccionaron plantas con síntomas, de cultivos de frijol en Ahome, Sinaloa, México. Se tomaron muestras de los avances de lesión de las raíces de las plantas y se aislaron hongos con características morfológicas típicas de *Rhizoctonia* spp. presentaron micelio septado, hialino, con formación de un ángulo recto y constricción de la célula basal, no producen esporas, y forman esclerocios. Los postulados de Koch se realizaron en maceta, el inóculo se puso junto con la semilla al momento de la siembra, para evaluar el efecto en germinación y severidad en plántula. Una vez demostrada su patogenicidad se identificaron molecularmente los aislados FAVF397 y FAVF 398 como *Rhizoctonia solani* AG-7. Este grupo de anastomosis se reporta por primera vez en frijol en Sinaloa. Estos hallazgos representan un aporte científico en beneficio de pequeñas comunidades agrícolas de México.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, espaciador transcrito interno ITS, ARN polimerasa II RPB2, grupo de anastomosis AG-7.

En México se siembran anualmente más de un millón de hectáreas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) para consumo, mismas que se limitan por la incidencia de enfermedades que ocasionan la muerte de la planta. En noviembre de 2020, se

observaron síntomas de pudrición de raíz en dos campos de frijol (cv. Azufrado Higuera) ubicados en el municipio de Ahome, Sinaloa, México. Las plantas enfermas mostraron crecimiento reducido, cancro café oscuro en la base del tallo, pudrición de la raíz, además de ausencia de raíces secundarias. La incidencia de la enfermedad en campo se estimó hasta en un 35%. Para el aislamiento de hongos, las raíces sintomáticas se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 min, se enjuagaron dos veces con agua destilada esteril y se secaron en papel filtro estéril. Se colocaron pequeños fragmentos de raíces enfermas en medio PDA y se incubaron a 25°C por 48 h. Se obtuvieron 10 colonias similares a *Rhizoctonia*, las cuales se purificaron mediante el método de punta de hifa. Las colonias en PDA fueron inicialmente blancas y posteriormente se tornaron a color marrón, las hifas fueron septadas, de 4.6 a 5.3 µm y se ramificaron en ángulo recto con un septo cerca del punto de ramificación. La examinación microscópica por tinción con safranina-O mostró un rango de 2 a 10 núcleos por célula.

Las características morfológicas de los aislados obtenidos coincidieron con las de *Rhizoctonia solani*. Dos aislados representativos se usaron para las pruebas moleculares y de patogenicidad. Los aislados fueron depositados en la Colección de Cultivos de Hongos Fitopatógenos de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte de la Universidad Autónoma de Sinaloa (No. de Acceso FAVF397 y FAVF398). Para la identificación molecular, se extrajo el ADN genómico de cada aislado, se amplificó la región del espaciador transcrito interno (ITS) y los fragmentos parciales de la segunda subunidad más grande del gen de la ARN polimerasa II (RPB2), y se secuenciaron con los pares de iniciadores ITS5 /ITS4 (White et al. 1990) y RBP2-980F/RPB2-7cR (Liu et al. 1999), respectivamente. Las secuencias se depositaron en el GenBank (números de acceso OR590793 y OR590801 para ITS y SUB14697714.1 y SUB14697714.2 para RPB2). Un árbol filogenético basado en Máxima Verosimilitud que incluyó datos combinados de secuencias ITS y RPB2 publicados para diversos grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* fue generado. El árbol filogenético agrupó a los aislados FAVF397 y FAVF398 dentro del clado AG 7. Las pruebas de patogenicidad para cada aislado se realizaron mediante la inoculación de 10 plántulas sanas de frijol

común (de 15 días de edad) cultivadas en macetas. Un total de 50 ml de una suspensión de micelio ajustada a una concentración de 1×10^5 fragmentos miceliales/ml se colocaron directamente sobre la base del tallo de cada planta. Como control se utilizaron cinco plántulas de frijol común sin inocular. Todas las plantas se mantuvieron en un invernadero durante 15 días a temperaturas que oscilaron entre 22 y 32°C. Los síntomas de pudrición de la raíz y cancro del tallo se observaron en las plántulas inoculadas después de 10 días, mientras que las plantas de control permanecieron asintomáticas. La prueba de patogenicidad se realizó dos veces con resultados similares. Los hongos se reislaron a partir de las raíces infectadas y se encontró que fueron morfológicamente idénticos a los aislados utilizados para la inoculación, cumpliendo así los postulados de Koch. En consecuencia, la identificación mediante morfología y análisis de secuencias confirmó que el patógeno causante es *R. solani* AG-7. Este patógeno, fue reportado por primera vez en algodón en Georgia, EE. UU. y Egipto (Baird *et al.*, 1997; 2000; Abd-Elsalam *et al.*, 2009), en soya en Taiwán (Yu *et al.*, 2021) y en papa en México (Carling *et al.*, 1998). Para nuestro conocimiento, este es el primer reporte de *Rhizoctonia solani* AG-7 causando pudrición de raíz en frijol en México. Mismo que ayudará a generar nuevas estrategias de control para la enfermedad en el cultivo de frijol.

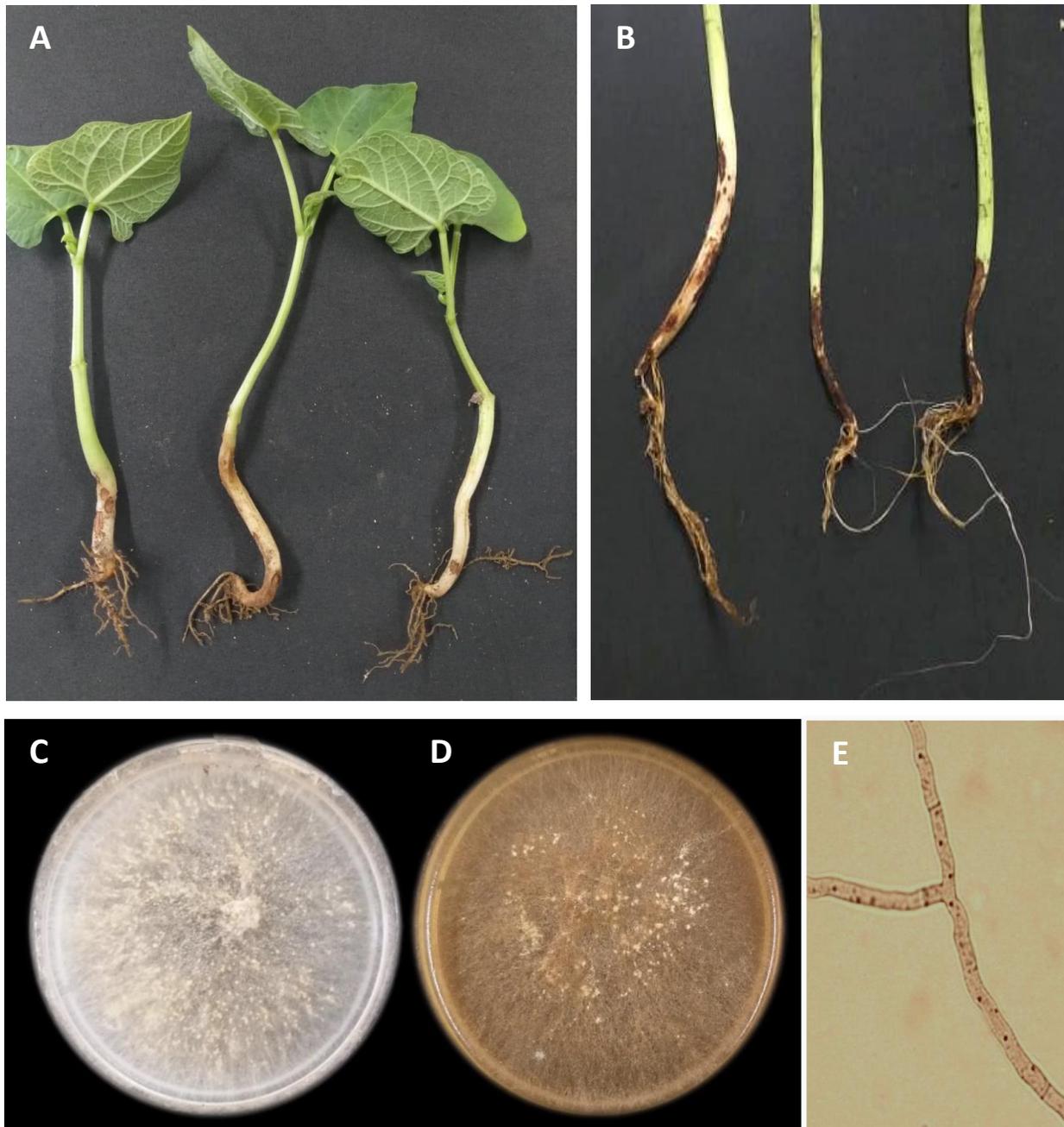


Figura 17. *Rhizoctonia solani* AG-7 causante de pudrición de la raíz del frijol común. **A.** Síntomas en tallos y raíces infectados naturalmente. **B.** Síntomas en plantas inoculadas artificialmente, 30 días después de la inoculación. **C.** Colonia en PDA después de 7 días a 25 °C en oscuridad. **D.** Colonia en PDA después de 20 días. **E.** Hifas teñidas con Safranina-O que muestran células multinucleadas.

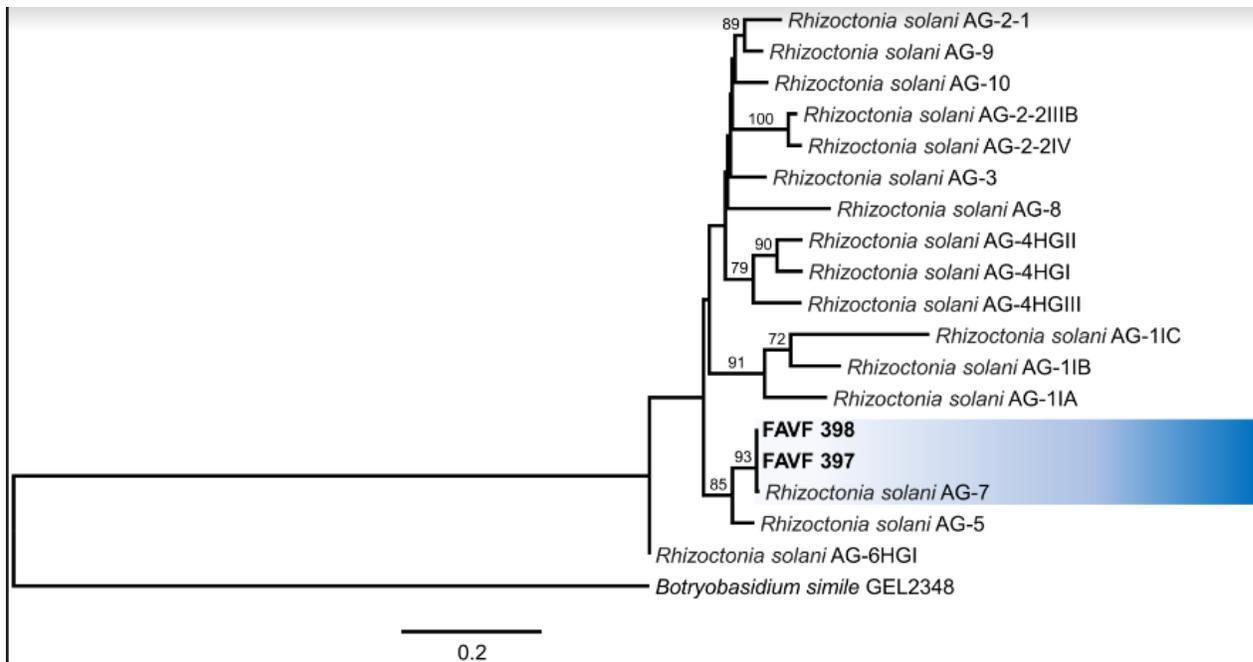


Figura 18. Filogenia por MV de las secuencias concatenadas de los genes ITS y RPB2 de 2 aislados de *Rhizoctonia* spp. obtenidos de plantas de frijol con síntomas de secadera y pudrición de raíz.

Bootstrap de 1000 réplicas; grupo externo: *Botryobasidium simile*. AG=Grupo anastomósico.

CAPITULO 6. SENSIBILIDAD A FUNGICIDAS QUÍMICOS DE ESPECIES DE *Rhizoctonia* DE FRIJOL Y MAÍZ

RESUMEN

En la región norte de Sinaloa, el hongo *Rhizoctonia spp.* causa secadera de planta y pudrición en frijol y maíz, afectando la germinación, el crecimiento y las raíces, lo que debilita y mata las plantas. Los agricultores suelen intentar controlar la enfermedad mediante la aplicación de fungicidas químicos; sin embargo, la efectividad de estos tratamientos es a menudo limitada. Esto se debe a la selección inapropiada de los fungicidas, una mala dosis durante la aplicación y la posible resistencia desarrollada por los patógenos a estos productos, entre otros factores. El propósito de este estudio fue evaluar la efectividad biológica *in vitro* de cuatro fungicidas sintéticos (Azoxystrobin, Benomilo, Metil tiofanato y Tebuconazol) convencionales sobre seis aislados de *Rhizoctonia spp.* El fungicida convencional tebuconazol mostró ser el más eficaz contra todas especies de *Rhizoctonia* evaluadas. La información sobre la sensibilidad de los aislados de *Rhizoctonia* a los fungicidas es esencial para el desarrollo de estrategias de control efectivas para la Rizoctoniasis y facilita el monitoreo de los aislados que presentan resistencia a los fungicidas en la población de patógenos.

Palabras claves: *Rhizoctonia*, Fungicidas, Rizoctoniasis, Tebuconazol

ABSTRACT

In the northern region of Sinaloa, the fungus *Rhizoctonia* spp. causes plant wilt and rot in beans and corn, affecting germination, growth and roots, which weakens and kills the plants. Farmers often try to control the disease by applying chemical fungicides; however, the effectiveness of these treatments is often limited. This is due to inappropriate selection of fungicides, poor dosage during application and possible resistance developed by pathogens to these products, among other factors. The purpose of this study was to evaluate the in vitro biological effectiveness of four conventional synthetic fungicides (Azoxystrobin, Benomyl, Thiophanate Methyl and Tebuconazole) on six *Rhizoctonia* spp. isolates. The conventional fungicide tebuconazole was shown to be the most effective against all *Rhizoctonia* species evaluated. Information on the sensitivity of *Rhizoctonia* isolates to fungicides is essential for the development of effective control strategies for *Rhizoctonia* and facilitates the monitoring of isolates showing resistance to fungicides in the pathogen population.

Keywords: *Rhizoctonia*, Fungicides, Rhizoctoniasis, Tebuconazole

6.1 INTRODUCCIÓN

El hongo *Rhizoctonia* es un patógeno de importancia económica que reduce la productividad de cultivos como frijol y maíz en Sinaloa y otras regiones de México y el mundo. Se clasifica en especies multinucleadas, como *R. solani* y *R. zeae*, y binucleadas, como *Rhizoctonia binucleada*. (Perdomo, 2007; González, 2013; Yang *et al.*, 2015).

En los cultivos de frijol y maíz, la infección por *Rhizoctonia* da lugar a lesiones costrosas y canchales oscuros en la base de los tallos y las raíces, afectando tanto el crecimiento como el rendimiento de las plantas (Rabago *et al.*, 2024).

Los productores de frijol y maíz emplean estrategias como rotación de cultivos, agentes de biocontrol y semillas certificadas libres de patógenos para controlar la *Rhizoctoniosis*. Sin embargo, el uso de fungicidas químicos sigue siendo la práctica más común en Sinaloa y otras regiones productoras. (Hernández *et al.*, 2018).

El uso de fungicidas no es una solución sostenible debido a su impacto ambiental y la resistencia que pueden desarrollar los patógenos, como se ha reportado en *R. solani* en arrozales de Luisiana (E.U) y Henan (China). Además, los distintos grupos de anastomosis (AG) de *Rhizoctonia* muestran sensibilidad variable a los fungicidas, según estudios realizados en varios países como; Estados Unidos, Francia y México (Muzhinji *et al.*, 2018).

El FRAC (2024) advierte que el uso repetido de fungicidas con modo de acción único aumenta el riesgo de insensibilidad de los patógenos. Por ello, el monitoreo constante de la sensibilidad es clave para detectar tempranamente casos de resistencia.

Este estudio evaluó la respuesta *in vitro* de aislados de *Rhizoctonia* de frijol y maíz a diversos fungicidas químicos. Los resultados proporcionarán bases para entender su sensibilidad y contribuirán al desarrollo de estrategias de manejo más efectivas.

6.2 MATERIALES Y MÉTODO

6.2.1 Origen de los Aislados de *Rhizoctonia*

Los aislados de *Rhizoctonia* fueron recolectados en el ciclo otoño-invierno 2020-2021 en el norte de Sinaloa, sometidos a pruebas de patogenicidad e identificación, y conservados a 25°C. Se reactivaron en medio PDA y se estudiaron seis especies provenientes de frijol y maíz: *R. solani* AG-4 HGI, *R. solani* AG-4 HGIII, *R. solani* AG-7, *R. binucleada* AG-A, *R. binucleada* AG-G y *R. zea*.

6.2.3 Prueba de Sensibilidad a Fungicidas

Se evaluó la efectividad de cuatro fungicidas comerciales: azoxystrobin, benomilo, metil tiofanato y tebuconazol, para el control de las especies *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI, *Rhizoctonia solani* AG-4 HGIII, *Rhizoctonia solani* AG-7, *Rhizoctonia binucleada* AG-A, *Rhizoctonia binucleada* AG-G y *Rhizoctonia zea*.

Las dosis comerciales de cada fungicida se incorporaron en medio PDA recién esterilizado a 45°C, que luego se vertió en cajas Petri esterilizadas de 8 cm de diámetro. Una vez solidificado el medio, se colocó en el centro de cada caja una rodaja de 0.8 cm de micelio-agar de cada especie.

El tratamiento control consistió en PDA sin fungicida. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, utilizando cajas Petri inoculadas con el hongo como unidad experimental. Se aplicaron cuatro tratamientos y el control, con tres repeticiones por tratamiento y una réplica adicional del experimento.

El efecto de los tratamientos se evaluó midiendo el radio de la colonia (cm) del hongo a las 24, 48 y 72 horas. Los datos fueron transformados para homogenizar varianzas (Little y Hills, 1989) y analizados mediante ANOVA. Las medias se compararon con la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$) usando InfoStat/L, y la susceptibilidad de los aislados se determinó mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La efectividad biológica de los fungicidas convencionales evaluados, a las 24, 48 y 72 horas, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. En medio con Tebuconazol se registró el menor radio de la colonia ($p < 0.05$) en los aislados *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI, AG-4 HGIII, AG-7, *Rhizoctonia binucleada* AG-A, AG-G y *Rhizoctonia zaeae*, misma que fueron susceptibles a este fungicida, de acuerdo con los resultados de Pérez y colaboradores (2019), quienes reportaron que el género *Rhizoctonia* es susceptible a dicho producto.

Rhizoctonia solani AG-4 HGIII y *Rhizoctonia solani* AG-7, mostraron sensibilidad a todos los fungicidas evaluados. Por el contrario, *Rhizoctonia zaeae* y *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI demostraron tolerancia al Metil tiofanato y Benomilo. Asimismo, *Rhizoctonia binucleada* AG-A y AG-G presentaron tolerancia al Azoxystrobin. En los cultivos sin fungicida, los hongos ocuparon por completo las cajas a las 72 horas.

Las especies tolerantes a fungicidas mostraron un comportamiento similar al control sin presentar diferencias significativas (Cuadro 5). Estos resultados coinciden con los hallazgos de Albuquerque y Gusqui (2018), quienes documentaron la tolerancia de aislados de *Rhizoctonia* al Azoxystrobin. Sin embargo, los trabajos de Muzhinji y colaboradores (2018) reportaron la susceptibilidad de los aislados de *Rhizoctonia* a este mismo fungicida en condiciones *in vitro*, lo que subraya la variabilidad genética del patógeno.

Cuadro 5. Efectividad biológica de diferentes concentraciones de fungicidas a especies de *Rhizoctonia* de maíz y frijol.

Especie de <i>Rhizoctonia</i>	Fungicida químico (I.A)	24 horas de exposición	48 horas de exposición	72 horas de exposición
<i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGI	Metil tiofanato	1.56 B	2.27 B	2.83 B
	Azoxystrobin	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Benomilo	0.70 A	1.22 AB	1.56 AB
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.58 B	2.10 B	2.63 B
<i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGIII	Metil tiofanato	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Azoxystrobin	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Benomilo	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.44 B	2.44 B	3.00 B
<i>Rhizoctonia solani</i> AG-7	Metil tiofanato	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Azoxystrobin	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Benomilo	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.51 B	2.44 B	2.92 B
<i>Rhizoctonia binucleada</i> AG-A	Metil tiofanato	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Azoxystrobin	0.70 A	0.83 AB	1.62 AB
	Benomilo	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.22 B	1.59 B	2.64 B
<i>Rhizoctonia binucleada</i> AG-G	Metil tiofanato	0.70 A	0.77 AB	0.77 AB
	Azoxystrobin	0.70 A	0.89 AB	1.26 AB
	Benomilo	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.00 AB	1.54 B	3.00 B
<i>Rhizoctonia zeae</i>	Metil tiofanato	1.18 B	1.94 B	2.66 B
	Azoxystrobin	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Benomilo	1.03 AB	1.35 AB	1.81 AB
	Tebuconazol	0.70 A	0.70 A	0.70 A
	Control	1.00 AB	1.89 B	2.69 B

Radio de la colonia (cm) a las 24, 48 y 72 horas. Aislados de *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI, *Rhizoctonia solani* AG-4 HGIII, *Rhizoctonia solani* AG-7, *Rhizoctonia binucleada* AG-A, *Rhizoctonia binucleada* AG-G y *Rhizoctonia zeae*. Los datos se transformaron a raíz cuadrada ($\sqrt{x+0.5}$) antes de su análisis. Medias con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes Kruskal Wallis $P < 0.05$.

A las 92 horas, el Tebuconazol logró un 100% de inhibición del crecimiento de todos los aislados, mientras que los demás tratamientos mostraron resultados variables (figura 19). Esto coincide con lo señalado por González (2013) sobre la heterogeneidad de *Rhizoctonia*, que le permite adaptarse a diferentes condiciones.

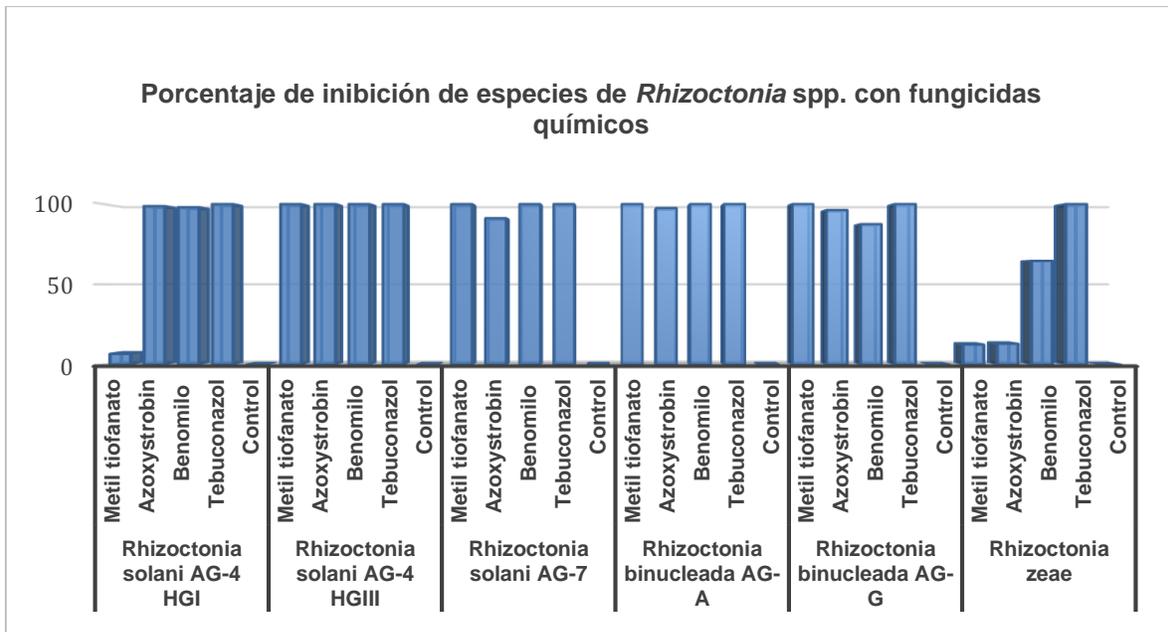


Figura 19. Porcentaje de inhibición de los aislados *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI, AG-4 HGIII, AG-7, *Rhizoctonia binucleada* AG-A, AG-G y *Rhizoctonia zeae* de frijol y maíz con fungicidas químicos convencionales.

6.3 CONCLUSIONES

El estudio destaca la variabilidad en la efectividad de fungicidas frente a diferentes especies de *Rhizoctonia*. El Tebuconazol fue el más efectivo, inhibiendo completamente el crecimiento en 92 horas, mientras que algunos aislados mostraron tolerancia a fungicidas como Metil tiofanato, Benomilo y Azoxystrobin. Esto evidencia la diversidad genética de los aislados, que puede afectar su adaptación y respuesta a los tratamientos. Se enfatiza la necesidad de vigilancia continua y estrategias integradas para manejar esta enfermedad, así como la selección adecuada de fungicidas según la especie y la concentración para optimizar su control en cultivos agrícolas.

CAPITULO 7. CONCLUSIONES GENERALES

Se observó que *Rhizoctonia solani* AG-4 Subgrupos HGI y HGIII están asociadas de manera natural con la secadera del frijol y el maíz, mientras que *Rhizoctonia zea* se encontró únicamente asociada con el atizonamiento de la vaina de la hoja basal del maíz. Por otro lado, *Rhizoctonia solani* AG-7 y *Ceratobasidium* sp. fueron identificados exclusivamente en lesiones costrosas en la base del tallo del frijol.

Las pruebas de patogenicidad demostraron que las especies de *Rhizoctonia* son capaces de inducir enfermedades en sus respectivos hospedantes originales. Además, los ensayos de inoculación cruzada evidenciaron que dichas especies tienen la capacidad de atacar diferentes tipos de hospedantes.

La facultad de estas especies para infectar diversos hospedantes limita la efectividad de la rotación de cultivos como estrategia para el manejo de la enfermedad.

En el cultivo de frijol y maíz en el norte de Sinaloa, el grupo de anastomosis predominante corresponde al AG-4, junto con sus subgrupos HGI y HGIII.

Estudios de sensibilidad *in vitro* de fungicidas químicos denotan la variabilidad en la efectividad de estos frente a *Rhizoctonia*. Sin embargo el Tebuconazol puede ser una buena alternativa para el control de estas especies.

Es recomendable que los estudios futuros se enfoquen en la identificación de cultivos con potencial para ser incluidos en la rotación de cultivos, la vigilancia continua y estrategias integradas para manejar esta enfermedad, así como la selección adecuada de fungicidas y el uso de organismos de control biológico. Con el fin de desarrollar estrategias eficaces para el manejo de la enfermedad causada por las diversas especies de *Rhizoctonia*.

CAPITULO 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abd-Elsalam K A, Moawad R, El-maboud-Aly A A. 2009. First Report of *Rhizoctonia solani* AG-7 on Cotton in Egypt. *Journal of Phytopathology* 158(4):307 – 309. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01611.x>
2. Agrios, G.N. 1997. Control of Plant Diseases. In *Plant Pathology*, 4th Edition, Academic Press, San Diego, 200-216.
3. Agrios, G.N. 2005 *Fitopatología*. Segunda edición. Editorial LIMUSA. Eds. Grupo noriega. México. D. F. México. 838pp.
4. Adams, G. C. 1988. *Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani)*, a Species Complex of Wide Host Range. *Plant Pathol.* 6: 535-552. Doi 10.1016/B978-0-12-033706-4.50040-2
5. Alburqueque, D. & R. Gusqui. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa* 25 (2): 489-498. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>
6. Anderson, N. A. 1982. The Genetics and Pathology of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 20:329-347. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.20.090182.001553>
7. Anderson, N. A. 1984. Variation and Heterokaryosis in *Rhizoctonia solani*. *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*, Cambridge University Press, Inglaterra, pp. 367-382. Variation and heterokaryosis in *Rhizoctonia solani*
8. Baird R. E., Carling D. E. 1997. First Report of *Rhizoctonia solani* AG-7 in Georgia. *PDIS*. 81.7:832B. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.7.832B
9. Baird R. E., Batson W, Carling D, Scruggs M. 2000. First Report of *Rhizoctonia solani* AG-7 on Cotton in Mississippi. *PDIS*.84.10:1156B. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.10.1156B>
10. Bandoni, R. J. 1979. Safranina O as a rapid nuclear stain for fungi. *Micologia* 71: 873-874. <https://doi.org/10.1080/00275514.1979.12021088>

11. Brouder, S. M., & Gomez-Macpherson, H. (2014). The impact of conservation agriculture on smallholder agricultural yields: A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 187, 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.08.010>
12. Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. *Plant and Soil*, 252(1), 55-128. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes | Plant and Soil
13. Burpee, L.; Sanders, P. L.; Cole, H. 1980a. Sherwood: «Anastomosis Groups Among Isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and Related Fungi», *Mycologia* 72:689-701. DOI: 10.1094/Phyto-70-843.
14. Cardoso, J. E. y Echandi, E. 1997. Biological control of *Rhizoctonia* root rots snap bean with binucleate *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 74, 692- 694p.
15. Carling D E, Brainard K A, Virgen-Calleros G, Olalde-Portugal V. 1998. First Report of *Rhizoctonia solani* AG-7 on Potato in Mexico. PDIS.82.1.127C. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.1.127C
16. Carling, D. E.; Kuninaga, S. 1990. «DNA Base Sequence Homology in *Rhizoctonia solani* Kuhn: inter and Intragroup Relatedness of Anastomosis Group-9», *Phytopathology* 80:1362-1364. [Phyto80n12_1362.pdf](#)
17. Carling, D. E.; Sumner, D. R. 1992. *Rhizoctonia*. *Methods in Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, APS Press, St. Paul Minnesota, EE.UU., , pp. 157-165.
18. Carling. D. E. 1996. «Grouping in *Rhizoctonia solani* by Hyfal Anastomosis Reaction», Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, pp. 37-47. Grouping in *Rhizoctonia Solani* by Hyphal Anastomosis Reaction | SpringerLink
19. Carling, D.E., Kuninaga, S., Brainard, K.A. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. *Phytopathology* 92, 43–50. DOI: 10.1094/PHYTO.2002.92.1.43

20. CGIAR (2021). Overview of the global production of beans. Consultative Group on International Agricultural Research. Recuperado de: <https://cgspace.cgiar.org>
21. Chavarro-Mesa. E., Ceresini. P. C., Ramos-Molina, L. M. Pereira. D.A.S. Schurt, D.A. Vieira, J.R., Jr., Poloni. N.M., and Mc Donald B.A. 2015. The Urochloa foliar blight and collar rot pathogen *Rhizoctonia solani* AG-1 IA emerged in South America via hot shift from rice. *Phytopathology* 105:1475-1486. PHYTO04150093R 1475..1486
22. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (2019). Plagas y enfermedades en cultivos leguminosos: Mecanismos de infección y control. Consultative Group on International Agricultural Research. Recuperado de: <https://ciat.cgiar.org>
23. Cubeta, M. A.; Vilgalys, R. 1997. «Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex», *Phytopathology* 87(4):480-484. DOI: 10.1094/PHYTO.1997.87.4.480
24. Cubeta, M. A.; Vilgalys, R. 2000. «*Rhizoctonia*», *Encyclopedia of Microbiology*, Academic Press 4. pp. 109-117. DOI: 10.1094/PHYTO.1997.87.4.480
25. Demirci E. & Kordali S. 1999. *Rhizoctonia* Species and Anastomosis Groups from Corn Kernels in Turkey. *Plant disease*. Vol. 83 No 3. DOI: 10.1094/PDIS.1999.83.9.879C
26. Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15. Isolation of plant DNA from fesh tissue – ScienceOpen
27. FAO (2020). Statistical Yearbook of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Italia. Recuperado de STATISTICAL YEARBOOK WORLD FOOD AND AGRICULTURE 2020
28. FAO (2021). Integrated Pest and Disease Management in Legumes. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado de: <https://www.fao.org>

29. Fiers, M., Edel-Hermann, V. y Héraud C. 2011 Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* associated with potato tubers in France. *Mycologia* 103: 1230–1244. DOI: 10.3852/10-231
30. Gobierno de México. (2023). *Estadísticas agrícolas de Sinaloa*. Recuperado de: <https://estadisticas.sinaloa.gob.mx>
31. González D. 2013. Identification, molecular characterization, and evolution of group I introns at the expansion segment D11 of 28S rDNA in *Rhizoctonia* species. *Fungal Biology* 117: 623-637. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.06.006>
32. González, D.; Carling, D. E., Kuninaga, S., Vilgalys, R., Cubeta, M. 2001. «Ribosomal DNA Systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* Anamorphs», *Mycologia* 93 (6):1138-1150, EE.UU. Ribosomal DNA systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* anamorphs | Semantic Scholar
33. González-García, M. (2008). Reseña de "Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia*" *Fitosanidad*, vol. 12, núm. 3, septiembre, 2008, pp. 147-159 Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209115572003>
34. González, V., Portal-Onco, M. A., Rubio-Susan, V. 2006. «Review. Biology and systematics of the form Genus *Rhizoctonia*», *Spanish Journal of Agricultural Research* 4 (1):55-79. *Rhizoctonia.pdf*
35. Gülsüm-Palacioğlu A., Beyza-Cankara, B., Harun-Bayraktar, B. y Göksel-Özer C. 2024. Genetic and pathogenic characterization of *Rhizoctonia solani* AG-4 isolates obtained from common bean. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. Volumen131. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102277>.
36. Hane, J.K., Anderson, J.P., Williams, A.H., Sperschneider, J., Singh, K.B. 2014. Genome sequencing and comparative genomics of the broad hostrange pathogen *Rhizoctonia solani* AG8. *PLoS Genetics* 10, 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004281>
37. Hernández-Pérez, D., Díaz-Castellanos, M., Quiñones-Ramos, R., Santos-Bermúdez, R., Portal-González, N., Herrera-Isla, L. (2018). Control de

- Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales. Revista Centro Agrícola. Vol.45, No.2, abril-junio, 55-60.
38. Index Mundi (2023). Global corn production statistics. Recuperado de: <https://www.indexmundi.com>
39. Kammerer, S. J., Burpee, L. L., and Harmon, P. F. 2011. Identification of a new *Waitea circinata* variety causing basal leaf blight of seashore paspalum. Plant Dis. 95:515-522. Table 1
40. Kanetis, L., Tsimouris, D. y Christoforou, M. 2016. Characterization of *Rhizoctonia solani* Associated with Black Scurf in Cyprus. Plant Dis (8):1591-1598. DOI: 10.1094/PDIS-10-15-1238-RE
41. Kimura. 1980. Teoría neutralista de la evolución molecular.
42. Kronland, W. C. and M. E. Stangellini. 1988. Clean slide technique for the observation of anastomosis an nuclei condition of *Rhizoctonia solani*. Phytopatology, 78:820-822. DOI: 10.1094/Phyto-78-820.
43. Li, H. R., Wu, B. C. y Yan S.Q. 1998. Aetiology of *Rhizoctonia* in sheath blight of maize in Sichuan. Plant Pathology 47: 16–21. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1998.00201.x>
44. Little, T. M. y Hills, F. J. 1989. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. trillas 2a edición. México, D. F. 125-143 pp.
45. Liu, Z. L., Sinclair J. B. 1993. «Differentiation of Intraspecific Groups Within Anastomosis Group I of *Rhizoctonia solani* Using Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer and Isozyme Analysis», *Can. J. Plant pathol.* 12:376-382, Canadá, 1993. <https://doi.org/10.1080/07060669309501923>
46. Liu, Y. Whelen, S. y Hall, B. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. Molecular Biology and Evolution 16: 1799e1808. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026092
47. Lobell, D. B., Schlenker, W., & Costa-Roberts, J. (2011). Climate trends and global crop production since 1980. *Science*, 333(6042), 616-620. DOI: 10.1126/science.1204531

48. López-Cruz, V., Paz-González, A., Fornet-Hernández, E., Núñez-Tablada, R., Ricardo-Palacio, S. 2013. Incidencia y Distribución de *Rhizoctonia solani* Kühn, en el cultivo de *Vigna unguiculata* L. Walp. (frijol caupí). Ciencias Holguín, vol. XIX, núm. 3, pp. 1-10.
49. MacNish, G. C., Carling, D. E. y Brainard K. A. 1993. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from Bare Patches by Pectic Isozyme (Zymogram) and Anastomosis Techniques. *Phytopathology* 83:922- 927. DOI:10.1094/PHYTO-83-922
50. Minaya Huerta E. y Reyes Huamán E. 2017. Identificación y caracterización del agente causal de la pudrición de la raíz y tallo del maíz (*zea mays* L.). Aporte Santiaguino. 9 (1), 69-80. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:91829085>
51. Montero-Tavera, V., Guerrero-Aguilar, B. Z., Anaya-López, J. L., Martínez-Martínez, T. O., Guevara-Olvera, L. y González-Chavira, M. M. 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 4 (7): 1043-1054. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México
52. Muis, A., and Quimio, A. J. 2006. Biological control of banded leaf and sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* kuhn) in corn with formulated bacillus subtilis br23. Indonesian Journal of Agricultural Potato Diseases. NIVAP HOLLAND. 280p.
53. Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 8(19):4321-4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321
54. Muzhinji, N., Truter, M., Whoodhall, J. W. y Van der Waals J.E. 2015. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* from potatoes in South Africa. *Plant Dis*. 99: 1790-1802. DOI:10.1094/PDIS-02-15-0236-RE
55. Navarrete-Maya, R., Trejo-Albarrán, E., Navarrete-Maya, J., Prudencio-Sains J.M. y Acosta-Gallegos, J. A. (2009). Reacción de genotipos de frijol a

- Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero*. Agricultura Técnica en México Vol. 35 Núm.4.
56. Nerey, Y., Van Beneden, S., Franca, S., Jiménez, A., Cupull, R. (et al.). 2010. Influence of soil type and indigenous pathogenic fungus on bean hypocotyls rot caused by *Rhizoctonia solani* AG4 HGI in Cuba. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 797-803. DOI:10.1016/J.SOILBIO.2010.01.015
57. Ogoshi, A. 1987. «Ecology and Pathogenicity of Anastomosis and Intraspecific Groups of *Rhizoctonia solani* Kunh, *Annu. Rev. Phytopathol.* 25:125-143, E.U.A. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.25.090187.001013>
58. Ogoshi, A., Oniki, M., Araki, T., Ui T. 1983a. «Studies of the Anastomosis Groups of Binucleate *Rhizoctonia* and Their Perfect States», *Journal of the Faculty of Agriculture* 61(2):244-260. ID: 56468748
59. Ogoshi, A., Oniki, M., Araki, T., Ui T. 1983b. «Anastomosis Groups of Binucleate *Rhizoctonia* in Japan and North America and Their Perfect States», *Trans Mycol. Soc.* 24: 79-87. ID: 56468748
60. Ohkura, M., Abawi, G. S., Smart, C. D., and Hodge, K. T. 2009. Diversity and aggressiveness of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like fungi of vegetables in New York. *Plant Dis.* 93:615-624. Doi:10.1094/ PDIS-93-6-0615
61. Ortega-Acosta, S. A., Palemón-Alberto, F., Terrones-Salgado, J., Molina-Gayosso, E., Romero-Ramírez, Y., Toribio-jimenez, J., Villar-Luna, E., Barcenás-Santana, D., Juárez-López, P., Cruz-Lagunas, B. y Reyes-García, G. 2022. First report of *Rhizoctonia solani* AG-4 HG-I causing fruit rot on tomato in Mexico. *Plant. Dis.* 106:1531. DOI: 10.1094/PDIS-09-21-2005-PDN
62. Parmeter, J. R. 1970. *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology, University of California Press. Berkeley, CA, EE.UU.
63. Perdomo, R., Hernández, A., González, A., Pineda, J., Alezones, J. 2007. «Caracterización y evaluación de virulencia en aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kuhn, causante de la mancha bandeada en maíz», *Interciencia* 32:48-55. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932108>

64. Pérez-Rodríguez, L. R., Pérez-Moreno, L., Guzmán-Mendoza, R., Sanzón-Gómez, D., & Belmonte-Vargas, J. R. (2019). Sensibilidad *in vitro* de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades en fresa a controladores biológicos y fungicidas, en el estado de Guanajuato, México. *Acta Universitaria* 29, e2339. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2339>
65. Porebski, S.; Bailey, L. G. and Baum, B. R. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Reporter*. 15(1):8-15.
66. Programa de Maíz del CIMMYT. 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Cuarta edición. México, D.F.: CIMMYT.
67. Rabago-zavala, K., Valenzuela-Escoboza, F.V., Mora-Romero, G.A., Lizarraga-Sanchez, G.J. & Tovar-Pedraza, J.M.(2022). First report of *Ceratobasidium* sp. (AG-A y AG-G) causing rootrot and stem canker of common bean in Mexico. *Plant. Dis.* 107-958. DOI: 10.1094/PDIS-06-22-1317-PDN
68. Rabago-zavala, K., Valenzuela-Escoboza, B.E., Lizarraga-Sanchez, G.J. & Valenzuela-Escoboza, F.V (2024). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Rhizoctonia solani* isolate associated whit been drying in Northern Sinaloa, Mexico. *Agro Productividad*. <https://doi.org/10.32854/agrop.v17i11.3143>.
69. Reeb, V., Lutzoni, F. y Roux, C. 2004. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 1036-1060. DOI: 10.1016/j.ympev.2004.04.012
70. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2023). *Producción Nacional de Maíz en Sinaloa*. Recuperado de: <https://www.gob.mx>
71. Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*:4(4):406-25.

72. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, México (SIAP). 2020. Producción agrícola anual. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. (Consulta, abril del 2020).
73. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, México (SIAP). 2022. Producción agrícola anual. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. (Consulta, abril del 2022).
74. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, México (SIAP). 2023. Producción agrícola anual. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. (Consulta, abril del 2024).
75. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, México (SIAP). 2024. Producción agrícola anual. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. (Consulta, abril del 2024).
76. Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Sneh, B. 2006. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience* 47, 299–316. DOI: 10.1007/S10267-006-0320-X
77. Singh R, Murti S, Mehilalm, Tomer A, Prasad D. 2015. Virulence Diversity in *Rhizoctonia Solani* Causing Sheath Blight in Rice. *J Plant Pathol Microb* 6: 296. doi:10.4172/2157-7471.1000296
78. Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species, The American Phytopathological Society, APS Press, EE.UU. <https://doi.org/10.1017/S0021859600074323>
79. Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S., Dijst, G. 1996. *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, Netherlands. 578p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-2901-7>
80. Sneh, S. 2011. *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.
81. Statista .2024. Maíz: producción en Estados Unidos 2011-2022 | Statista. <http://es.statista.com/estadisticas/517323/produccion-de-maiz-en-los-ee-uu/>

82. Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
83. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A. y Kumar, S. 2013. MEGA Molecular evolutionary genetics analysis versión 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
84. Telmadarrehei, T., Ghambury, M. A. T., Rahimian, H., Rezazadeh, A., and Javadi, M. A. 2011. Isolation and some pathologic properties of *Rhizoctonia zeae* from cultural soils of Golestan y Mazandarán provinces, Iran. *World Applied Sciences Journal* 14:374-377. 2-libre.pdf
85. Tomaso-Peterson, M., y Trevathan, L. E. 2007. Characterization of *Rhizoctonia*-like fungi isolated from agronomic crops and turfgrasses in Mississippi. *Plant Dis.* 91:260-265.
86. Valentin-Torres, S., Vargas, M. M., Godoy-Lutz, G., Porch, T. G. y Beaver J. B. 2016. Isolates of *Rhizoctonia solani* can produce both web blight and root rot symptoms on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Dis* 100:1351-1357. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1270-RE>
87. Vilgalys, R., González D. 1990a. «Organization of Ribosomal DNA in the Basidiomycete *Thanatephorus praticola*», *Curr. Genet.* 18:277-280, Alemania. DOI: 10.1007/BF00318394
88. Vilgalys, R., González D. 1990b. «Ribosomal DNA Restriction Fragment Length Polymorphisms in *Rhizoctonia solani*», *Molecular Plant Pathology* 80 (2):151-158, E.U. DOI:10.1094/PHYTO-80-151
89. Vilgalys, R., Cubeta, M. 1994. «Molecular Systematics and Population Biology of *Rhizoctonia*», *Annual Review of Phytopathology* 32:135-155, EE.UU. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.32.090194.001031>
90. Wantanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultures Fungi and Key to Species. Second edition. CRC Press. New York Washington, D.C. 500 p.

91. Woodhall, J. W., Lees, A. K., Edwards, S. G. y Jenkinson P. 2008. Infection of potato by *Rhizoctonia solani*: effect of anastomosis group. *Plant Pathology* 57, 897–905. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2008.01889.x
92. Yang, Y. G., Zhao, C., Guo, Z. J., and Wu, X. H. 2014. Anastomosis groups and pathogenicity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with stem canker of potato in China. *Journal of Plant Pathology* 139:535-544.
93. Yang, X.B. 2015. *Rhizoctonia* damping-off and root rot. In: Hartman GL, Sinclair JB, Rupe JC, eds. *Compendium of Soybean Diseases*. St Paul, MN, USA: APS Press, 80–2.
94. Yang, Y.G., Zhao, C., Guo, Z., Wu, X. H. 2015. Characterization of the new anastomosis group (AG-W) of binucleate *Rhizoctonia*, causal agent for potato stem canker. *Plant Dis.* 99:1757-1763.
95. Yu-Cheng L, Min-Nan T, Hao-Xun C. 2021. First Report of Soybean Seedling Disease caused by *Rhizoctonia solani* AG-7 in Taiwan. PDIS-01-21-0036-PDN. DOI: 10.1094/PDIS-01-21-0036-PDN
96. Zadoks, J. C. and Schein, R. D. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press. 427 p.
97. Zhang DH, Chen YX, 1986. Anastomosis grouping of binucleate *Rhizoctonia* (Chinese with English abstract). *Chinese Journal of Plant Pathology* 16, 139–44.
98. Zitter, T.A., Hopkins, D.L. y Thomas, C.E. 2004. *Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas*. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. 88 p.
99. Zizumbo-Villarreal, D., & Colunga-GarcíaMarín, P. (2010). Origin of agriculture and plant domestication in West Mesoamerica. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57(6), 813-825. DOI: 10.1007/s10722-009-9521-4

CAPITULO 8. ANEXOS

Anexo 1. Nota científica de Primer reporte de *Ceratobasidium* en México

Disease Note

Diseases Caused by Fungi and Fungus-Like Organisms

First Report of *Ceratobasidium* sp. (AG-A and AG-G) Causing Root Rot and Stem Canker of Common Bean in Mexico

K. Rabago-Zavala,¹ F. A. Valenzuela-Escoboza,¹ G. A. Mora-Romero,² G. J. Lizárraga-Sánchez,³ and J. M. Tovar-Pedraza⁴ 

¹ Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa, Ahome 81110, Sinaloa, Mexico

² Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis, Unidad de Investigación en Ambiente y Salud, Los Mochis 81223, Sinaloa, Mexico

³ Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Los Mochis 81223, Sinaloa, Mexico

⁴ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Coordinación Regional Culiacán, Laboratorio de Fitopatología, Culiacán 80110, Sinaloa, Mexico

Plant Dis. 107:958, 2023; published online as <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-22-1317-PDN>. Accepted for publication 3 August 2022.

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), is a grain legume widely cultivated worldwide for its edible dry seeds and pods. In February 2021, root rot symptoms were observed in two common bean (cv. Azufrado Higuera) fields in Ahome (25.9619°N, 109.3342°W) and Guasave (25.7165°N, 108.7850°W) municipalities in Sinaloa, Mexico. Diseased plants showed reduced growth, dark brown canker at the base of the stem, root rot, and the absence of secondary roots. The disease incidence was estimated at up to 35%. For fungal isolation, symptomatic roots were surface sterilized with 1% sodium hypochlorite for 2 min, rinsed with sterilized distilled water two times, and blotted dry on sterile filter paper. Small fragments of diseased roots were placed on PDA medium and incubated at 25°C in darkness for 3 days. *Rhizoctonia*-like colonies were consistently obtained, and 10 isolates were purified by the hyphal-tip method. Colonies on PDA were white initially and then turned brown after 15 days of incubation. The septate hyphae were 3.9 to 6.3 µm wide and branched at right angles with a septum near the point of branching. Microscopic examination by Safranin-O staining showed two nuclei per cell. The morphological features of the isolates resembled those of *Ceratobasidium* (Sneh et al. 1991). The two *Ceratobasidium* isolates were selected for molecular analysis and pathogenicity tests. The isolates were deposited in the Culture Collection of Phytopathogenic Fungi of the Faculty of Agriculture of Fuerte Valley at the Sinaloa Autonomous University

(accession nos. FAVF395 and FAVF396). For molecular identification, genomic DNA from each of the isolates was extracted, and the internal transcribed spacer (ITS) region and partial fragments of the second largest subunit of RNA polymerase II (*rpb2*) gene were amplified and sequenced with the primer pairs ITS5/ITS4 (White et al. 1990) and RBP2-980F/RPB2-7cR (Liu et al. 1999), respectively. The ITS sequences (accession nos. ON630914 and ON630915) showed 99.66 and 99.01% identity with *Ceratobasidium* sp. (AG-A) from the United States (OM045887) and *Ceratobasidium* sp. (AG-G) from China (HM623627), respectively. The *rpb2* sequences (OM258171 and OM258172) showed 94.10 and 95.74% identity with *Ceratobasidium* sp. (AG-A) from Serbia (MT1267888) and *Ceratobasidium* sp. (AG-G) from Japan (DQ301701), respectively. A phylogenetic tree based on maximum likelihood and including combined ITS and *rpb2* sequence datasets for *Ceratobasidium* spp. was generated. The phylogenetic tree grouped FAVF395 and FAVF396 within the *Ceratobasidium* sp. AG-A and AG-G clades, respectively. Pathogenicity tests for each isolate were performed by inoculating 10 healthy common bean seedlings (15 days old) grown in pots with 50 ml of a mycelial suspension adjusted to a concentration of 1×10^5 mycelial fragments/ml directly placed on the stem base of each plant. Five uninoculated common bean seedlings were used as controls. All plants were kept in a greenhouse for 15 days at 22 to 32°C. Root rot and stem canker symptoms appeared on inoculated seedlings after 10 days, but control plants remained symptomless. Fungi were reisolated from the infected roots and found to be morphologically identical to the isolates used for inoculation, fulfilling Koch's postulates. *Ceratobasidium* sp. has been previously reported as the causal agent of root rot of watermelon in Sonora, Mexico (Parr and Rossman 2022; Meza-Moller et al. 2014). To our knowledge, this is the first report of *Ceratobasidium* sp. causing root rot of common bean in Mexico. Further monitoring should be performed to quantify yield impacts and develop effective management strategies for this disease.

References:

- Farr, D. F., and Rossman, A. Y. 2022. Fungal Databases, Syst. Mycol. Microbiol. Lab., USDA-ARS. Retrieved 15 March 2022 from <https://nsl.ars-grin.gov/fungal-databases/>
- Liu, Y. J., et al. 1999. Mol. Biol. Evol. 16:1799.
- Meza-Moller, A., et al. 2014. Plant Dis. 98:487.
- Sneh, B., et al. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- White, T. J., et al. 1990. Page 315 in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, CA.

The author(s) declare no conflict of interest.

e-Xtra

Keywords: fungi, pathogenicity, *Phaseolus vulgaris*, phylogeny

Anexo 2. Primera hoja del Artículo: Caracterización morfológica, molecular y patogénica de aislados de *Rhizoctonia* spp. de frijol y maíz en el norte de Sinaloa.

Morphological, Molecular, and Pathogenic Characterization of *Rhizoctonia solani* Isolates Associated with Bean Drying in Northern Sinaloa, Mexico

Rahago-Zavala, Karen¹; López-Valenzuela, Blanca E.¹; Lizárraga-Sánchez, Glenda J.²; Valenzuela-Escoboza, Fernando A.^{3*}

¹ Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa, Juan José Ríos, 81110, Sinaloa, México.

² Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Los Mochis, 81223, Sinaloa, México.

* Correspondence: fernando.vzla@focf.mx

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to characterize, using morphology, DNA sequence analysis, and pathogenicity, *R. solani* isolates associated with bean plants with root rot symptoms in commercial plots in northern Sinaloa.

Design/methodology/approach: During the 2020-2021 cycle, diseased plants infected by *Rhizoctonia* were collected in the municipalities of Ahome, El Fuerte, and Guasave. Pure fungal isolates were obtained in specific media; which were morphologically characterized in PDA medium and preserved. Subsequently, the pathogenicity of the isolates was evaluated and they were molecularly identified. Genomic DNA was extracted from the isolates, part of the RPB2 gene was amplified by PCR, and the amplified products were sequenced.

Results: Phylogenetic analysis with RPB2 sequence data confirmed the identification of 63 isolates as *R. solani* and allowed them to be assigned to the anastomosis group (AG): AG-4. Of the total isolates analyzed, 86% correspond to the AG-4 HG1 anastomosis subgroup and 14% to the AG-4 HGIII subgroup. In pathogenicity, the percentage of germination and severity of the isolates were evaluated, showing different levels of pathogenicity.

Limitations of the study/implications: None.

Findings/conclusions: *Rhizoctonia solani* AG-4 anastomosis subgroups HG1 and HGIII are associated with bean drying in northern Sinaloa. Therefore, this study will serve as a basis for other studies that generate control strategies for this pathogen.

Keywords: pathogenicity, sclerotia, RPB2, phylogenetic analysis, anastomosis.

Citation: Rahago-Zavala, K., López-Valenzuela, B. E., Lizárraga-Sánchez, G. J., & Valenzuela-Escoboza, F. A. (2024). Morphological, Molecular, and Pathogenic Characterization of *Rhizoctonia solani* Isolates Associated with Bean Drying in Northern Sinaloa, Mexico. *Agro Productividad*. <https://doi.org/10.32854/agp.v17i1.1141>

Academic Editor: Jorge Carlos Siqueira

Associate Editor: Dra. Lucero del Mar Ruiz Pineda

Guest Editor: Daniel Alejandro Cabera Zamudio

Received: May 06, 2024.

Accepted: September 10, 2024.

Published on line: December XX, 2024.

Agro Productividad, 17(1) suplemento, Noviembre, 2024, pp. 253-262.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



INTRODUCTION

The production of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most significant agricultural activities in Mexico's economy. The annual income generated by bean cultivation in the country ranges around 17 million pesos, with a production exceeding 965 thousand tons (SIAP, 2022). The main bean-producing states are Zacatecas and Sinaloa. Bean agricultural



Anexo 3. Alcohol etílico al 70%

En una probeta de 100 ml, se midieron 70 ml de alcohol etílico, y se colocaron en un matraz de 100 ml, posteriormente se aforó con agua destilada. La mezcla se homogenizó y se guardó para su uso.

Alcohol etílico (etanol)	70 ml
Agua destilada	30 l

Anexo 4. Cloro 3:1

La preparación de esta dilución constó de colocar $\frac{3}{4}$ partes de agua destilada del volumen total a preparar, y $\frac{1}{4}$ parte de hipoclorito de sodio.

Para preparar 100 mililitros de cloro 3:1, se necesitan medir 75ml de agua destilada y añadir 25 ml de hipoclorito de sodio, luego se homogeniza a mezcla y se coloca en un recipiente con tapa para su posterior uso.

Hipoclorito de sodio	25 ml
Agua destilada	75 l

Anexo 5. PDA (Papa Dextrosa Agar)

En un frasco de cristal de un litro con tapa rosca se coloca un volumen de 250 ml de agua destilada, posteriormente se pesa en una balanza granataría 39 gr de medio PDA, y se agrega dentro del frasco con agua, el cual se agita fuertemente hasta disolver el medio, luego se afora el frasco y se homogeniza bien. Una vez preparado el medio se esteriliza a 121°C por 15 minutos.

PDA	39 gr
Agua destilada	1Lt.

Anexo 6. AA (Agar Agua)

En un frasco de cristal de un litro con tapa rosca se coloca un volumen de 250 ml de agua destilada, posteriormente se pesa en una balanza granataría 16 gr de medio agar bacteriológico, y se agrega dentro del frasco con agua, el cual se agita fuertemente hasta disolver el medio, luego se afora el frasco y se homogeniza bien. Una vez preparado el medio se esteriliza a 121°C por 15 minutos.

Agar Bacteriológico	16 gr
Agua destilada	1Lt.

Anexo 7 K OH 3%

En un frasco ámbar con tapa se colocan 97 ml de agua destilada más 3 ml de hidróxido de potasio, la dilución se homogeniza y se conserva a temperatura ambiente para su uso.

Hidróxido de potasio	3 ml
Agua destilada	97 l

Anexo 8. Safranina O 0.03%

En un frasco ámbar con tapa se colocan 100 ml de agua destilada a la cual se le agregan 0.03 gr de safranina O, se homogeniza la muestra y se conserva el reactivo a temperatura ambiente hasta su uso.

Safranina O	0.03 gr
Agua destilada	100

Anexo 9. Azul de tripano

En un frasco ámbar con tapa se colocan 100 ml de agua destilada a la cual se le agregan 0.05 gr de azul de tripano, se homogeniza la muestra y se conserva el reactivo a temperatura ambiente hasta su uso.

Azul de tripano	0.05 gr
Agua destilada	100

Anexo 10. PBD (caldo dextrosa y papa)

En un frasco de cristal de 1000 ml se ponen 250 ml de agua destilada y luego se pesan 5 gr de peptona y 3 gr de dextrosa por separado y se adhieren al frasco, el cual se agita vigorosamente hasta disolver los medios y luego se afora a un litro; y se llenan tubos de ensaye de rosca de 20 mililitros con 10 ml del medio, se cierran ligeramente y se esterilizan a 121°C por 15 minutos

Peptone	5 gr
Dextrose	3 gr
Agua destilada	1000 ml