

**Estudio biológico y genético de *Rhizoctonia solani* Kühn en genotipos comerciales de papa
(*Solanum tuberosum* L.) en el departamento de Nariño.**

Jessica Andrea Descanse Vallejo

Universidad de Nariño

Centro de Investigaciones en Ciencias Agrarias

Maestría en Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción de Cultivos

San Juan de Pasto

2022

**Estudio biológico y genético de *Rhizoctonia solani* Kühn en genotipos comerciales de papa
(*Solanum tuberosum* L.) en el departamento de Nariño.**

Jessica Andrea Descanse Vallejo

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Magíster en
Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción de Cultivos**

Presidente de Tesis:

Claudia Salazar González I. A., Ph.D

Universidad de Nariño

Centro de Investigaciones en Ciencias Agrarias

Maestría en Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción de Cultivos

San Juan de Pasto

2022

Nota de Responsabilidad

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1° del Acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Carlos Betancourth García I.A. Ph.D.

Jurado

Bertha Lucia Castro I.A. Ph.D.

Jurado

Luz Estela Lagos Mora Biol. M.Sc.

Jurado

Claudia Salazar González I.A. Ph.D.

Presidente

San Juan de Pasto,

Dedicatoria

A Dios que es el centro de mi existir y todo se lo debo a Él.

A Luis, que es el amor que me acompaña en todo momento y

me regala fuerza para lograr cada objetivo.

A mi madre, Pastora Vallejo la mujer que me enseñó el verdadero valor

de luchar por mis sueños, y su amor inagotable nunca termina.

y a todos mis seres amados y amigos que me han acompañado en este caminar.

Agradecimientos

A la doctora Claudia Elizabeth Salazar González por la dirección de este proyecto y guía en las actividades a realizar.

Al doctor Carlos Arturo Betancourth García por su apoyo constante en todo el proceso.

Al profesor Benjamín Sañudo Ing. Agrónomo por su compañía, amistad, dedicación y apoyo en todo el proceso realizado.

A Keily Muñoz Ing. Agrónomo por su gran amistad, compañía y apoyo.

Al ingeniero Félix Arteaga por la búsqueda y acompañamiento de los ensayos realizados.

Al ingeniero Carlos Flórez por el apoyo y acompañamiento.

A la bióloga Diana Burbano David por su compañía en el proceso molecular de esta investigación.

Al Laboratorio de sanidad vegetal GRISAV por permitirme desarrollar todas las actividades propuestas en esta investigación.

A la Gobernación De Nariño y Fundación CEIBA por la financiación de estudio de la maestría en Ciencias agrarias.

A la profesora Claudia Quiroz por su compañía y apoyo.

A mis jurados la Bertha Lucia Castro Ph.D y

Luz Estela Lagos MsC por sus conocimientos impartidos en el desarrollo de este trabajo.

A Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este trabajo.

Resumen

El cultivo de papa en Nariño presenta un número significativo de genotipos comerciales, pero diversos problemas fitosanitarios afectan su producción y rendimiento. La costra negra de la papa, ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn, es una enfermedad que ataca el desarrollo del cultivo, generando bajos rendimientos y mala calidad del tubérculo. Esta investigación tuvo como objetivo determinar en dos fases el daño ocasionado por *R. solani*, en tres municipios productores de papa del departamento de Nariño (Pasto, Túquerres e Ipiales) e identificar que grupos anastomóticos de este fitopatógeno están afectando los genotipos comerciales. La fase de campo, permitió evaluar la incidencia en emergencia y brotación, incidencia en cosecha y rendimiento comercial de *R. solani* en cinco genotipos comerciales (Diacol Capiro, Roja Huila, Pastusa Suprema, ICA Unica y Superior) mediante un diseño de bloques completos al azar, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. El análisis estadístico se hizo por medio de un análisis de varianza combinado (ANOVA). La fase de laboratorio, donde se caracterizó el patógeno molecular y biológicamente se llevó a cabo en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño, mediante la colección de tubérculos infectados por *R. solani*, de fincas productoras de papa, de siete municipios (Túquerres, Pasto, Ipiales, Sapuyes, Ospina, Tangua y Pupiales).

El análisis de varianza, indico que existieron diferencias estadísticas en la interacción genotipo*ambiente para las variables de incidencia en cosecha y rendimiento. Para la variable de incidencia en emergencia y brotación solo hubo diferencias estadísticas para los factores genotipo y ambiente. De acuerdo, a los resultados observados, la variable incidencia en emergencia y brotación en Túquerres, obtuvo el mayor porcentaje (36,04%) con diferencias estadísticas frente a Pasto (30,70%) e Ipiales (31,98 %). La variable de incidencia en cosecha, permitió identificar que el genotipo Roja Huila en el municipio de Túquerres fue el más afectado, alcanzando un porcentaje de

incidencia en cosecha de 15,75 % y en la evaluación del rendimiento los genotipos Superior y Diacol Capiro presentaron el mejor comportamiento en el municipio Pasto con valores de 22,37 t ha⁻¹ y 20,12 t ha⁻¹, respectivamente. En la fase de laboratorio, de acuerdo, al NCBI las 50 cepas estudiadas presentaron un porcentaje de similitud del 99% frente a las secuencias evaluadas, 48 de estas pertenecieron al grupo AG3 PT y 2 al grupo AG2, manifestando que el AG3 PT es el grupo de anastomosis que se encuentra atacando los cinco genotipos comerciales de papa en Nariño.

Abstract

The potato crop in Nariño has a significant number of commercial genotypes, but several phytosanitary problems affect its production and yield. Potato black scab, caused by the fungus *Rhizoctonia solani* Kühn, is a disease that attacks the development of the crop, causing low yields and poor tuber quality. The objective of this research was to determine in two phases the damage caused by *R. solani* in three potato-producing municipalities in the department of Nariño (Pasto, Túquerres and Ipiales) and to identify which anastomotic groups of this phytopathogen are affecting commercial genotypes. The field phase evaluated the incidence in emergence and sprouting, incidence in harvest and commercial yield of *R. solani* in five commercial genotypes (Diacol Capiro, Roja Huila, Pastusa Suprema, ICA Unica and Superior) using a randomized complete block design, with five treatments and four replications. The statistical analysis was done by means of a combined analysis of variance (ANOVA). The laboratory phase, where the pathogen was characterized molecularly and biologically, was carried out at the Plant Health Laboratory of the University of Nariño, through the collection of *R. solani* infected tubers from potato farms in seven municipalities (Túquerres, Pasto, Ipiales, Sapuyes, Ospina, Tangua and Pupiales).

The analysis of variance indicated that there were statistical differences in the genotype*environment interaction for the variables of incidence in harvest and yield. For the variable of incidence in emergence and sprouting, there were only statistical differences for the genotype and environment factors. According to the results observed, the variable incidence in emergence and sprouting in Túquerres obtained the highest percentage (36.04%) with statistical differences compared to Pasto (30.70%) and Ipiales (31.98%). The harvest incidence variable identified that the Roja Huila genotype in the municipality of Túquerres was the most affected, reaching a harvest incidence percentage of

15.75%, and in the evaluation of yield, the Superior and Diacol Capiro genotypes showed the best performance in the municipality of Pasto with values of 22, 37 t ha⁻¹ and 20.12 t ha⁻¹, respectively. In the laboratory phase, according to NCBI, the 50 strains studied showed a percentage of similarity of 99% to the sequences evaluated, 48 of these belonged to the AG3 PT group and 2 to the AG2 group, showing that AG3 PT is the anastomosis group that is attacking the five commercial potato genotypes in Nariño.

Tabla de Contenido

	Pág
Resumen.....	7
Introducción	19
1. Objetivos	22
1.1 Objetivo general.....	22
1.2 Objetivos Específicos.....	22
2. Marco teórico	23
2.1 Origen de la papa (<i>S. tuberosum</i> L)	23
2.2 Aspectos generales	23
2.2.1 Contexto mundial de la papa (<i>S. tuberosum</i> L).....	23
2.2.2 Contexto nacional de la papa (<i>S. tuberosum</i> L).....	25
2.2.3 Contexto regional de la papa (<i>S. tuberosum</i> L).....	25
2.3 <i>Rhizocotonia solani</i>	27
2.3.1 <i>R. solani</i> en el cultivo de papa (<i>S. tuberosum</i> L.) a nivel mundial	28
2.3.2 <i>R. solani</i> en el cultivo de papa (<i>S. tuberosum</i> L.) a nivel nacional	29
2.3.4 <i>R. solani</i> en el cultivo de la papa (<i>S. tubersoum</i> L.) a nivel regional	29
2.4 Clasificación de <i>R. solani</i>	30
2.5 Ciclo de vida de <i>R. solani</i>	31

2.6 Síntomas de la enfermedad.....	32
2.7 Morfología de AG de <i>R. solani</i>	34
2.8 Biología de grupos anastomóticos de <i>R. solani</i>	35
2.8.1 Grupos anastomóticos relacionados con el cultivo de papa.....	37
2.9 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	38
2.9.1 Regiones Espaciadoras Internas Transcritas (ITS).....	39
2.10 Antecedentes de <i>R. solani</i>	40
3. Materiales y Métodos.....	44
3.1 Fase de Campo.....	44
3.2 Material vegetal.....	45
3.3 Área y diseño experimental.....	45
3.4 Manejo Agronómico.....	46
3.5 Variables de respuesta.....	48
3.7 Fase de laboratorio.....	50
3.8 Colección de material infectado con <i>Rhizoctonia</i>	50
3.9 Aislamiento de <i>R. solani</i>	51
3.10 Caracterización molecular de <i>R. solani</i>	51
3.11 Extracción de ADN.....	51
3.12 Amplificación de PCR con ITS.....	53

3.12 Procesamiento y análisis de la información.....	53
3.12 Determinación de AG por interacción de compatibilidad de hifas	54
4. Resultados y Discusión	58
4.1 Fase de campo.....	58
4.2 Variables evaluadas.....	58
4.3 Incidencia en emergencia y brotación	58
4.4 Incidencia en cosecha.....	61
4.5 Rendimiento	63
4.6 Fase de Laboratorio.....	65
4.7 Caracterización molecular de <i>R. solani</i>	69
4.8 Extracción y cuantificación de ADN	69
4.9 Análisis de la variabilidad mediante ITS	69
4.10 Caracterización biológica de <i>R. solani</i>	77
Conclusiones	80
Recomendaciones	81
Bibliografía	82

Lista de tablas

Tabla 1. Características agronómicas de genotipos comerciales de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)..	26
Tabla 2. Categorías para la determinación de compatibilidad de hifas (Macnish, Carling, & Braunard, 1993).....	35
Tabla 3. Diámetros para la evaluación del rendimiento comercial en tres municipios productores de papa.....	49
Tabla 4. Aislamientos de <i>R. solani</i> en municipios productores del departamento Nariño de cinco genotipos comerciales de papa.....	67
Tabla 5. Análisis de varianza variable incidencia en genotipos comerciales del departamento de Nariño	59
Tabla 6. Comparación de porcentajes de incidencia en emergencia y brotación de <i>R. solani</i> en los genotipos comerciales de papa en el departamento de Nariño	61
Tabla 7. Análisis de varianza variable Incidencia en cosecha (Muñequeo) en genotipos comerciales de papa del departamento de Nariño	61
Tabla 8. Comparación de porcentajes de incidencia en cosecha de <i>R. solani</i> en los genotipos comerciales de papa en el departamento de Nariño.	63
Tabla 9. Análisis de varianza variable rendimiento comercial para los genotipos comerciales de papa en Nariño.....	63
Tabla 10. Comparación del rendimiento comercial de <i>R. solani</i> en genotipos de papa comercial en el departamento de Nariño.....	64

Tabla 11. Coordenadas de la colección de cepas de *R. solani* de siete municipios productores de papas comerciales de Nariño, los códigos a continuación (SP) (R), (C), (U) y (S) pertenecen a los siguientes genotipos comerciales respectivamente Parda Suprema, Roja Huila, Diacol Capiro, ICA Única y Superior, las accesiones de las secuencias para establecer el porcentaje de similitud se tomaron del Genbank..... 71

Tabla 12. Número de aislamientos pertenecientes a cada grupo de anastomosis de *Rhizoctonia solani* identificados mediante fusión de hifas 78

Lista de figuras

Figura 1. Producción mundial de papa.	24
Figura 3. Síntomas de la enfermedad <i>R. solani</i> Kühn. a) Ennegrecimiento cortical de raíz. b) Formación de tubérculos aéreos. c) Encrespamiento de las hojas. d) Retorcimiento y quemazón del tallo. e) Deformación de tubérculos. f). Esclerocios en tubérculos.	33
Figura 4. a) Hifa septada con ramificación en ángulo recto. b) Núcleos de la célula de <i>R. solani</i> . c) Coloración del micelio de aislamientos de <i>R. solani</i> de aislamientos de papa (<i>S. tuberosum</i> L.)	34
Figura 4. Distribución aleatoria de los tratamientos bajo un diseño de bloques completos al azar BCA con cuatro repeticiones.	46
Figura 5. Municipios productores de papa con alta incidencia del patógeno <i>R. solani</i> (a) Túquerres, (b) Pasto, (c) Ipiales, (d) Sapuyes, (e) Ospina, (f)Tangua (g) Pupiales.	50
Figura 6. Proceso para la determinación de compatibilidad de hifas, tapones miceliales, tinción con safranina, C0. No relación genética. Diferentes AGs, Reacción C3. Fusión perfecta. El mismo AG. Clones, Reacción C2. Fusión con muerte celular. C1 Reacción contacto.	55
Figura 7. Montaje de los ensayos de las pruebas macroscópicas de <i>R. solani</i> , donde A corresponde a los aislamientos a identificar y B a un aislamiento AG3 -PT previamente caracterizado molecularmente.	57
Figura 8. Identificación de lesiones en tallos de plantas, genotipo Roja Huila.	58
Figura 9. Deformación de tubérculos.	58
Figura 10. Aislamientos de <i>R. solani</i> de cinco genotipos comerciales de papa (<i>S. tuberosum</i> L.)....	66

Figura 11. Amplificación de las bandas del producto de PCR de cepas de *R. solani*. 70

Figura 12. Árbol filogenético de *R. solani* de genotipos comerciales de papa del departamento de Nariño. 76

Figura 13. Fuerte reacción de mechón de enfrentamiento de *R. solani*. 78

Lista de Anexos

Anexo A. Preparación y siembra de ensayos de variedades comerciales de papa en el semestre B del 2020.	99
Anexo B. Evaluación de las variables en campo.	100

Introducción

En Colombia el cultivo de la papa es de los más importantes, con un consumo per cápita de 57 Kg/persona/año, donde el 93% de la producción del país se destina a consumo en fresco y el 7% a procesamiento industrial. Las variedades más sembradas son Pastusa Superior, Parda Pastusa, Diacol Capiro (R-12), Única, Rubí y Criolla (Berdugo, 2018). Este cultivo involucra a 25,000 familias, de la cual se derivan 3,600,000 jornales anuales y 350,000 empleos indirectos. Es el mayor empleador del sector rural por el alto requerimiento de mano de obra, donde la mayor participación es de los mismos integrantes del núcleo familiar (Gobernación de Nariño, 2019).

En Colombia se produce entre 2,700,000 y 3,000,000 de toneladas de papa al año, cultivadas en 123,000 ha aproximadamente, con un rendimiento de 22,24 t ha⁻¹. Estas hectáreas se encuentran distribuidas en Cundinamarca, Boyacá, Nariño, Antioquia y los Santanderes los cuales contribuyen al 96% de la producción total nacional, mientras el restante lo complementan las regiones de Cauca, Tolima y Caldas (Fedepapa, 2020).

Nariño se ubica dentro de los departamentos con mayor participación en el subsector papa, aportando el 19 % del agregado nacional, y su área cultivada oscila alrededor de 26,394 ha, con una producción de 541,412 toneladas y un rendimiento de 22,37 t ha⁻¹ (Fedepapa, 2020). En Nariño el 50% de los municipios son productores de este tubérculo y abastecen el consumo total departamental y el 93% del consumo de los departamentos del Valle, Risaralda, Quindío y Caldas (Gobernación de Nariño, 2019).

La papa, es atacada por diversas plagas y enfermedades que ocasionan daños y pérdidas económicas significativas, y la costra negra de la papa ocasionada por el hongo *R. solani*, es una patología que se encuentra atacando el cultivo de papa en el departamento de Nariño. Este

fitopatógeno ocasiona varios disturbios en la planta, desde la germinación de los tubérculos, raíces, tallos hasta la formación de tubérculos aéreos, lesiones, estrangulamiento de los tallos, deformación de tubérculos y esclerocios que se forman adheridos a la superficie de los tubérculos (INIA-Remuhue, 2017), limitando la producción por hectárea y demeritando la calidad del cultivo (Berdugo, 2018).

El complejo *R. solani* se divide en catorce grupos de anastomosis (AG1 al AG13 y AG-BI) (Carling *et al.*, 2002) cuya principal característica es la capacidad de fusión de hifas, y en Colombia el grupo AG-3 es el agente causal de la rizoctoniasis, siendo el grupo de anastomosis más recurrente en tubérculos de papa (Ferrucho, 2011). Este patógeno ocasiona el 20% de mortalidad de plantas con porcentajes de incidencia y severidad de tubérculos infectados de 25% y 31 % respectivamente (Arcos *et al.*, 2015).

La baja tecnificación del cultivo de la papa y el uso de semilla no certificada en campo hace que los problemas fitosanitarios se incrementen (Fedepapa, 2019). Debido a los altos costos para obtener semilla certificada el productor realiza su propia selección, pero al tener poco conocimiento utiliza semilla afectada por *R. solani* generando daños en la calidad de cosecha, baja rentabilidad y poca competitividad (Fedepapa, 2018).

Los daños ocasionados por esta enfermedad en variedades comerciales en Nariño, ha llevado a que el agricultor para su control haga uso de fungicidas químicos con el mismo punto de actuación, generando resultados infructuosos en el control de este patógeno (Betancourth *et al.*, 2020). Por tal razón, es necesario desarrollar nuevas alternativas que puedan integrarse en programas de manejo de esta enfermedad y una de ellas es determinar la reacción de resistencia o susceptibilidad de genotipos al ataque de *R. solani* (Cachipiendo *et al.*, 2020).

Para determinar los daños ocasionados por el hongo, se sembraron cinco genotipos comerciales en tres municipios del departamento de Nariño (Pasto, Túquerres e Ipiales) susceptibles al ataque de *R.*

solani, para evaluar la incidencia en emergencia y brotación, incidencia en cosecha y porcentaje de rendimiento. La identificación de este patógeno y sus daños en el cultivo de papa, generara mayor conocimiento para un control previsible, minimizando los costos de producción del cultivo y el uso indiscriminado de agroquímicos que con el tiempo puede generar daños en la salud del productor y sus familias.

Las técnicas de laboratorio con fundamento en biología molecular aplicadas en programas de prevención, control y tratamiento es una opción en la lucha contra las enfermedades infecciosas (Merchan *et al.*, 2017). Para ello, se realizará la caracterización de los principales GA presentes, mediante marcadores ITS y pruebas biológicas de compatibilidad de hifas, de 50 cepas de *R. solani* procedentes de cinco genotipos comerciales de papa de municipios productores del Sur del departamento de Nariño.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar el daño ocasionado por *R. solani* en municipios productores de papa del departamento de Nariño e identificar que grupos anastomóticos de este fitopatógeno están afectando los genotipos comerciales.

1.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la incidencia y rendimiento comercial del ataque de *R. solani*, en cinco genotipos comerciales de papa, en tres municipios Pasto, Túquerres e Ipiales del departamento de Nariño.
2. Caracterizar molecular y biológicamente grupos anastomóticos de *R. solani* procedentes de cinco genotipos comerciales de papa (*S. tuberosum* L.) en el departamento de Nariño.

2. Marco teórico

2.1 Origen de la papa (*S. tuberosum* L)

Las primeras papas cultivadas fueron escogidas entre 6,000 y 10,000 años atrás en los Andes (Spooner, 2005). Estudios señalan que las especies silvestres de cultivares nativos demuestran que la papa tuvo origen único en una vasta región al norte del lago Titicaca, a partir de miembros del complejo de *S. brevicaula* (Jacobs, 2007), acompañadas de procesos de duplicación cromosómica que dieron origen a las formas tetraploides, conocidas como *S. andigena* o grupo Andigena. Este grupo se caracteriza por ser tetraploide y altamente polimórfico, y desde el punto de vista genético es considerado como el más relacionado con *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* (Rodríguez, 2009).

2.2 Aspectos generales

2.2.1 Contexto mundial de la papa (*S. tuberosum* L)

La papa se cultiva en más de 150 países de todo el mundo (Figura 1) (FAO, 2020). A nivel mundial ocupa el tercer lugar como producto alimenticio con 397,000,000 de toneladas, después del trigo con 749,000,000 de toneladas y el arroz con 740,000,000 de toneladas (Agronegocios, 2018). La papa es uno de los cultivos más importantes de Asia, y contribuye a la seguridad alimentaria y a los ingresos de millones de familias en todo el mundo (CIP, 2019).

China es el mayor productor de papa a nivel global, con más de 91,000,000 de toneladas cosechadas en 2019, seguido por la India con una producción total de 50,000,000 de toneladas con una caída en su cosecha total de alrededor de 1,000,000 de toneladas originadas principalmente por las fuertes granizadas que se presentaron en todo el país al final del año 2019 (Fedepapa & FNFP, 2021).

La papa es un alimento con un alto poder nutritivo, que desempeña funciones energéticas debido a su alto contenido en almidón, así como funciones reguladoras del organismo por su elevado contenido

en vitaminas, minerales y fibra. La concentración de azúcares sencillos es baja, los más importantes son la glucosa, fructosa y sacarosa. La proteína de la papa presenta un valor biológico superior a la de los cereales lo cual se debe a su mayor contenido en lisina, aminoácido limitante en la proteína de los cereales (CIP, 2019).

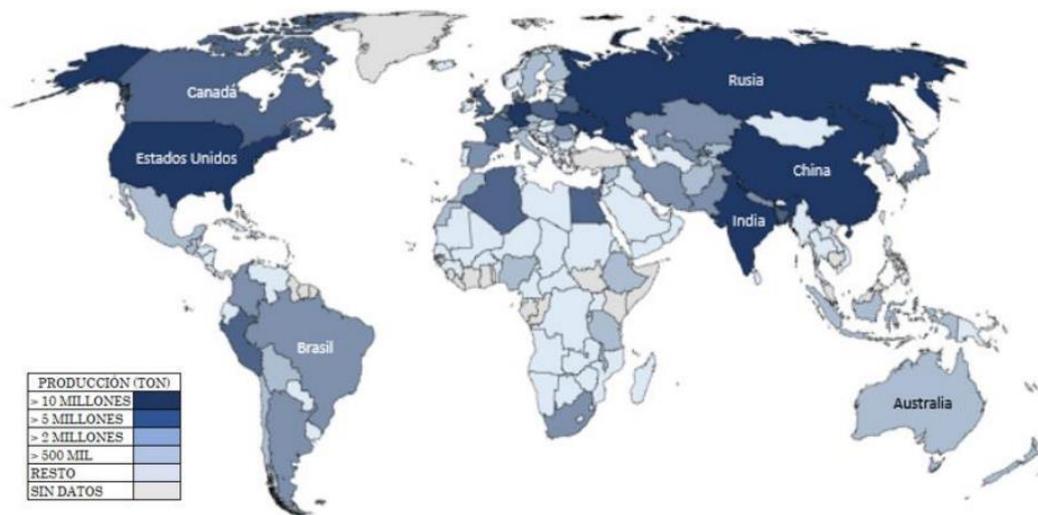


Figura 1. Producción mundial de papa.

Fuente. FAO, 2020.

Sesenta y tres variedades relacionadas con el CIP se cultivan en 1,43 millones de ha, el 19% de la superficie total dedicada a la producción de papa, por 2,93 millones de familias de agricultores, principalmente en China. Las variedades más populares combinan las características de sabor y cocina deseadas por los agricultores y consumidores con rasgos que aumentan la resistencia a las enfermedades y la tolerancia al calor y la sequía (CIP, 2019).

Debido a la amplia gama de altitudes en que *S. tuberosum* se cultiva tanto en continente americano como en el viejo mundo, dando como resultado una gran diversidad morfológica en los tubérculos (colores, formas y sabores). La existencia de variedades con ciclos de vida de diferente duración, así como la de numerosas variedades locales con características agronómicas sobresalientes (resistencia a enfermedades), que indican claramente la prominente variación genética de sus poblaciones. Así como también, la presencia de poblaciones silvestres presentes en distintas regiones de América, dan la pauta para un mejor aprovechamiento de genotipos que se puedan incluir en el mejoramiento genético de esta especie (Cortez & Hurtado, 2002).

2.2.2 Contexto nacional de la papa (*S. tuberosum* L)

En Colombia, la papa es considerada como uno de los tesoros alimenticios que proporciona el campo nacional, ocupa la posición 25 a nivel internacional en producción y se destaca por su alta productividad que se encuentra por encima del promedio global en toneladas por hectárea, al registrar un rendimiento de 21,52 toneladas para el año 2019, presentando un aumento en la producción promedio por hectárea de 0,6% con respecto al año 2018. (Fedepapa & FNFP, 2021). La producción nacional en el año 2018 fue de 2,78 millones de toneladas, 1% más que el año anterior, cuya producción se situó en 2,75 millones de toneladas (Fedepapa, 2020). Este aumento fue causado por una mayor cantidad de lluvias que mejoró la disponibilidad de agua, lo que conllevó a mejorar los rendimientos, que pasaron de 20,8 a 21,4 toneladas por hectárea en el 2018, que corresponde a 3% más que en el 2017 (Banco de la República, 2019).

2.2.3 Contexto regional de la papa (*S. tuberosum* L)

La principal fuente económica del Departamento de Nariño es la Agricultura, según el Censo Nacional Agropecuario, el área rural dispersa con uso agrícola es de 703,447 ha. (ADR, 2018). En el

Departamento de Nariño del total de área sembrada 254,157 ha, el 30,6% es para tubérculos y plátanos seguidos por la siembra de diversidad de frutales con el 29,9% (Gobernación de Nariño, 2019). De acuerdo a la UPRA, Nariño Cuenta con un área de más de 255,000 ha para la siembra de papa, con un rendimiento promedio de 22,37 t ha⁻¹(Fedepapa & FNFP, 2021). Entre, las variedades de papa cultivadas en el departamento de Nariño están: Diacol Capiro, ICA Única, Superior, Pastusa Suprema y Roja Huila, sus características agronómicas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1.

Características agronómicas de genotipos comerciales de papa (S. tuberosum L.)

Genotipos	Características agronómicas
Diacol Capiro	Amplia adaptación (1800 a 3200 m de altitud).
	Se cultiva en todas las regiones de Colombia y en el Ecuador en zona norte y centro.
	Maduración: relativamente semitardía (165 días a 2600 m de altitud). Rendimiento: en condiciones óptimas de cultivo es superior a las 40 t ha ⁻¹ (Ñutzes, 2010).
ICA Única	Adaptación amplia (2000 a 3500 m de altitud).
	Se cultiva principalmente en Boyacá. En el Ecuador se encuentra distribuida en las zonas norte y centro.
	Maduración: relativamente semitardía (165 días a 2600 m de altitud). Rendimiento: en condiciones óptimas de cultivo es superior a las 40 t ha ⁻¹ (Ñutzes, 2010)
Superior	Se adapta entre 2500 y 3200 msnm.
	Maduración: relativamente tardía (165 días a 2600 msnm). Rendimiento en condiciones óptimas de cultivo es superior a 45 t ha ⁻¹ . (Ñutzes, 2010)
	Adaptabilidad 2500 a 3200 msnm

Pastusa Suprema	Maduración: relativamente tardía (165 días, 2600 msnm) Rendimiento en condiciones óptimas de cultivo es superior a 45 t ha ⁻¹ Nústez et. al (2009).
Roja Huila	Adaptabilidad 2400 a 3200 msnm Es relativamente tardía (165 días, 2600 msnm) Rendimiento en condiciones óptimas de cultivo es superior a 40 t ha ⁻¹

Fuente. Este estudio

Las principales plagas que atacan el cultivo de la papa y limitan la calidad del tubérculo son el Gusano Blanco (*Premnotrypes vorax* (Hustache) y la Polilla Guatemalteca (*Tecia solanivora*), cuyas larvas generan perforaciones. La enfermedad más limitante en el cultivo de la papa es la gota (*Phytophthora infestans*), que se alimenta de las sustancias producidas por las hojas, generando la pérdida de las estructuras encargadas de la fotosíntesis y la disminución en la producción; sin embargo, en los últimos años la costra de la papa (*R. solani*) es una enfermedad que viene cobrando importancia por las pérdidas económicas que ocasiona en el cultivo de la papa (Berdugo, 2018), debido a que las plantas infectadas tienden a producir una gran cantidad de tubérculos deformes, con protuberancias y partiduras y además la formación de esclerocios en la superficie de los tubérculos, hace que se afecte su apariencia y calidad (Chavarro *et al.*, 2018).

2.3 *Rhizoctonia solani*

Hace más de 100 años, el señor Julius Khün observó un hongo en tubérculos de papa enfermos y lo nombró *Rhizoctonia solani* (Parmeter, 1970). *R. solani*, causa una amplia gama de enfermedades de plantas de importancia comercial. En el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) este patógeno puede llegar a ocasionar un 89 % de incidencia, generando necrosis del tallo a nivel del cuello en plántulas emergidas, lo que produce una reducción significativa del vigor de estas (Chang yui, 2018), en arroz

(*Oryza sativa*) alcanzo una incidencia del 100% (Vasquez, 2021), debilitando y disminuyendo la producción.

R. solani es el patógeno responsable del damping off y el parche desnudo de cereales alcanzando una incidencia del 37 % (Perafan, 2002), generando grandes pérdidas en la calidad de cosecha. Entre otras afectaciones ocasionadas por *R. solani* está la pudrición de la raíz de la remolacha (*Beta vulgaris*), donde llego a producir el 100% de incidencia con alta severidad si el grupo AG4 se encontraba presente (Berdugo *et al.*, 2012).

2.3.1 *R. solani* en el cultivo de papa (*S. tuberosum* L.) a nivel mundial

A nivel mundial, *R. solani* se encuentra atacando el cultivo de la papa, y de acuerdo a estudios realizados por Yang 2017 encontraron que *R. solani* es el agente causal de la costra negra de la papa en China, las pruebas de patogenicidad mostraron que los aislados AG-3 y AG-5 tuvieron la mayor virulencia. En cultivos de papa en Sudafrica, los grupos de *R. solani* presente fueron el AG3-PT, AG 2-2IIB, AG 4HG-I, AG4HG-III y AG5, siendo el grupo AG3 el más predominante. En Venezuela, de la rizoctoniasis, presentó un serio problema en los cultivos de papa, identificando que el comportamiento variable de los aislamientos fue similar en los estados evaluados, lo que indicó que no hubo un efecto significativo de la localidad sobre las diferencias mostradas entre ellos. La presencia de AG-3 y AG-2.1 de *R. solani* fue confirmada a través de la técnica de la rDNAITS. La virulencia mostrada por las diferentes cepas evaluadas estuvo muy influenciada por la temperatura (Escalona, 2012).

En Irán, se encontró que el chancro del tallo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) causados por *R. solani* Kühn es una enfermedad importante y epidémica. Las pruebas de patogenicidad mostraron que todos los aislamientos fueron patógenos en papa; sin embargo, se observó variabilidad de virulencia entre los aislamientos. Según el análisis de secuencia de la región ITS-rDNA, de los 30 aislamientos

estudiados en su totalidad se asignaron al grupo de anastomosis (AG) y todos se asignaron a AG-3 PT (Esfahani., 2020).

2.3.2 *R. solani* en el cultivo de papa (*S. tuberosum* L.) a nivel nacional

En Colombia *R. solani* se encuentra atacando cultivos de papa en diferentes departamentos, Ferrucho para el año 2013 encontró que el grupo AG3 es el agente causal de la rizoctoniasis en municipios productores de papa como son, Boyaca, Cundinamarca, Antioquia y Nariño, donde destaca que las poblaciones de *R. solani* AG-3 en Colombia son muy diversas, tanto en características genéticas como fenotípicas, En el año 2018, Chavarro y colaboradores destacaron la importancia a de la clasificación de *R. solani* en municipios productores de papa tales como, Antioquia, Cundinamarca y Boyacá donde se logró determinar que el 86 % (35 aislamientos) pertenecen al grupo AG-3, el 9 % (cuatro aislamientos) corresponde al grupo AG2-1 y el 5 % restante (dos aislamientos) posiblemente del grupo AG-1.

Chavarro y colaboradores en sus estudios más recientes, para el 2021 destacan que los grandes problemas que genera *R. solani* en cultivos de papa en Colombia están siendo ocasionados por *R. solani* grupo AG3-PT y destaca en su estudio que este patógeno está afectando la calidad del cultivo de la papa y el rendimiento. El objetivo de su investigación, fue determinar la diversidad genética de *R. solani* GA-3PT mediante la restricción enzimática de la región ribosomal (RFLP) ITS-5.8S, permitiendo diferenciar e identificar los grupos de anastomosis GA-3PT y GA2-1. Su análisis les permitió confirmar que el GA-3PT es el principal agente causal y de origen etiológico de la enfermedad en Colombia.

2.3.4 *R. solani* en el cultivo de la papa (*S. tuberosum* L.) a nivel regional

En Nariño, de acuerdo al estudio desarrollado por Ferrucho 2011, de las cepas evaluadas mediante la caracterización molecular, se identificó que, de cuarenta y cuatro cepas aisladas de variedad Pastusa,

cuarenta pertenecieron al grupo AG3, dos cepas a AGE, una cepa fue AGI, y una de las cepas evaluadas no fue identificada. Ferrucho resalta que el grupo anastomótico que afecta el cultivo de papa en Nariño es el AG3-PT.

Betancourth y colaboradores en el año 2022, en su estudio eficacia de biofungicidas para el manejo de la costra negra (*R. solani* Kühn) de la papa en Nariño, identificaron que el fungicida Pentiopirad, y los controles biológicos *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* presentaron características promisorias para el manejo de *R. solani* en el cultivo de papa. Betancorth *et al.*, 2021, en su estudio morfología y patogenicidad de *R. solani* asociado con la costra negra de la papa en Nariño, identificaron que las hifas de *R. solani* tuvieron una media de 9,7 μm , y el número de núcleos osciló entre 7,2 - 8,2, sin diferencias estadísticas. Veinticuatro aislamientos causaron 100% de infección en las plantas. Los resultados mostraron una alta susceptibilidad de la variedad de papa *S. tuberosum* Grupo Phureja en la primera etapa del desarrollo de la planta.

2.4 Clasificación de *R. solani*

R. solani, pertenece a la Clase Hyphomycetes phylum Basidiomycota, Orden Agonomycetales, Género Agonomycetaceae, Familia *Rhizoctonia* y especie *Rhizoctonia solani* Kühn (Agris, 2007). La fase asexual es patógena y se caracteriza por la producción nula de esporas, más bien, se da la formación de micelio de color marrón.

A nivel microscópico, se puede observar cómo las ramificaciones crecen formando un ángulo recto con la hifa principal y un septo cerca de ella (Castro & Contreras, 2011); además, las hifas poseen varios núcleos (Epifanio, 2017). Cuando existe humedad y elevadas temperaturas, el hongo entra en fase sexual y se lo conoce como *Thanatephorus cucumeris* dando lugar a la formación de basidioesporas, aunque esto no ocurre a menudo (Robalino, 2018).

2.5 Ciclo de vida de *R. solani*

El ciclo biológico de *R. solani*, presenta dos fases (Figura 2). La primera sucede en la etapa de crecimiento donde infecta a tallos, brotes y estolones a través de alguna herida, dando lugar a la formación de canchales y estrangulamiento (Acuña & Araya, 2017). En la segunda fase, los tubérculos son atacados por los esclerocios presentes en el suelo. Este proceso se da gracias a diferentes enzimas extracelulares que degradan pectina, cutina y celulosa de la pared celular, destruyendo así las células del vegetal y colonizando el tejido marchito (Beltrán *et al.*, 2011).

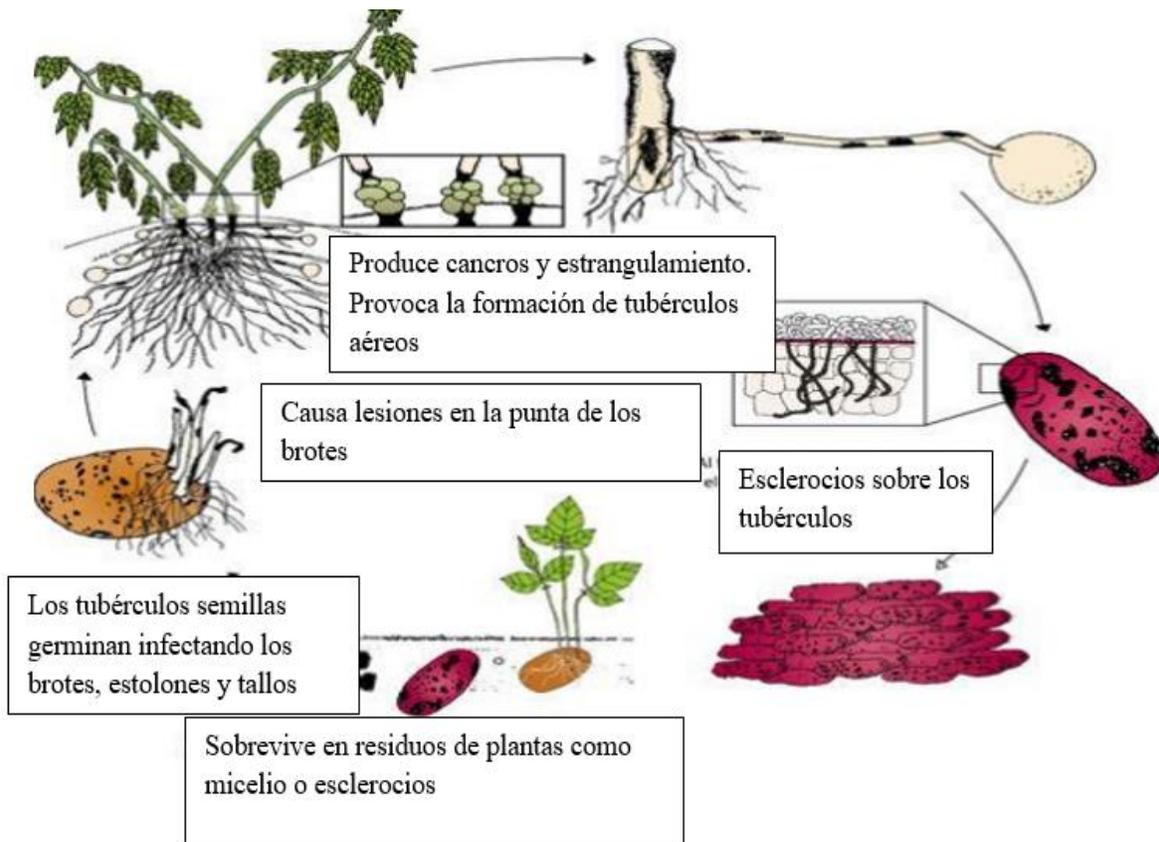


Figura 2. Descripción del ciclo de vida de *R. solani*.

Fuente. (INIA-Remuhue, 2017)

Las condiciones óptimas para su crecimiento son alta humedad del suelo y una temperatura de 18°C, siendo la mínima 8°C y la máxima 35°C; es de fácil propagación mediante agua de riego, suelo y tubérculos contaminados (Acuña & Tejada, 2018).

2.6 Síntomas de la enfermedad

Uno de los síntomas es la necrosis o chancros de color marrón en la base de los brotes (Figura 3a), que, dependiendo del grado de la lesión, originan el debilitamiento de la planta y el retraso de su desarrollo. Adicionalmente, produce la formación de tubérculos aéreos (Figura 3b) y hojas enroscadas de coloración púrpura (Figura 3c) (Acuña & Araya, 2017).

En tallos y estolones, se observan canchales cafés con hendiduras (Figura 3d), que conforme van creciendo producen estrangulamiento. En el caso de los estolones, al ser infectados en etapa temprana, producen deformaciones del tubérculo (Figura 3e), e incluso no se alcanza la formación de estos (Acuña & Tejada, 2018).

En tubérculos (Figura 3f), los síntomas son evidentes, se observa esclerocios o costras negras de forma irregular localizadas en la superficie. Los esclerocios son masas de hifas endurecidas que dan lugar a la formación del micelio (Castro & Contreras, 2011).

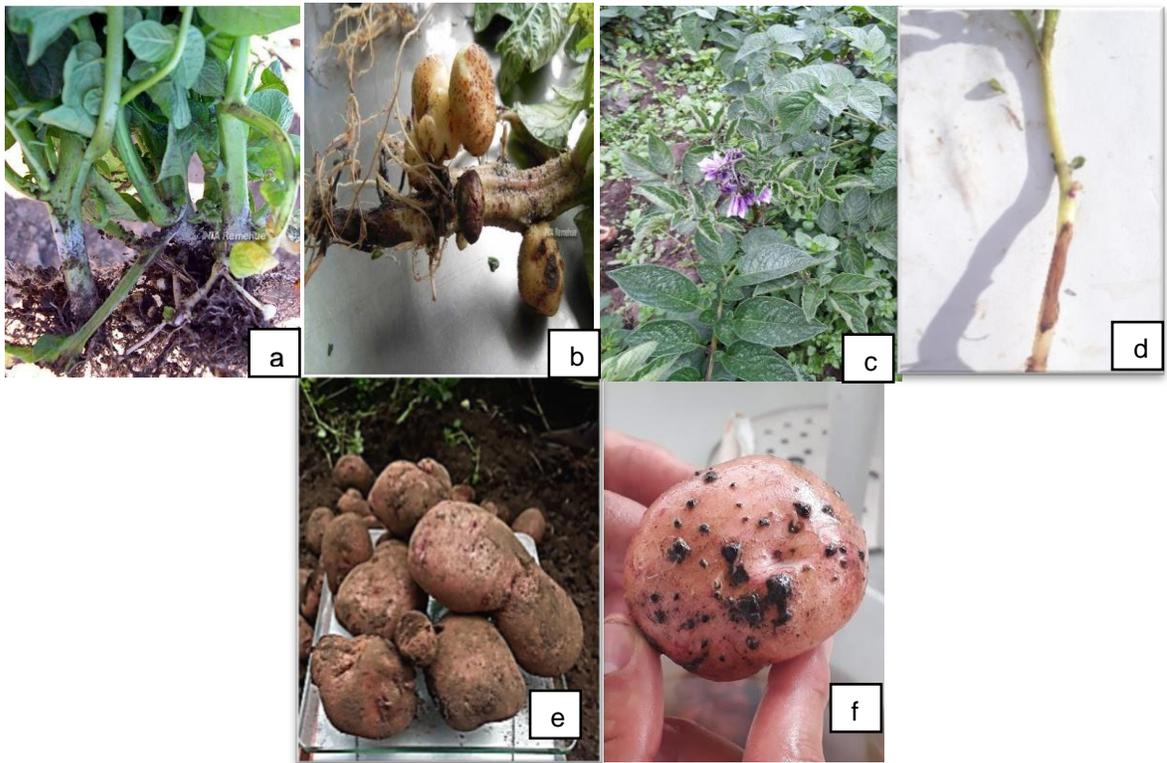


Figura 3. Síntomas de la enfermedad *R. solani* Kühn. a) Ennegrecimiento cortical de raíz. b) Formación de tubérculos aéreos. c) Encrespamiento de las hojas. d) Retorcimiento y quemazón del tallo. e) Deformación de tubérculos. f). Esclerocios en tubérculos.

Fuente. Este estudio

2.7 Morfología de AG de *R. solani*

La fusión de hifas, conocida como anastomosis, es una característica particular de esta especie (Carling, 1996). Esta condición se ha considerado para su clasificación en grupos de anastomosis (AGs), que difieren entre sí en filogenética, morfología, fisiología y patogenicidad (Muzhinji *et al.*, 2015). En la figura 4 se puede observar como las hifas son de color marrón oscuro (4c), septadas y multinucleadas (4a).

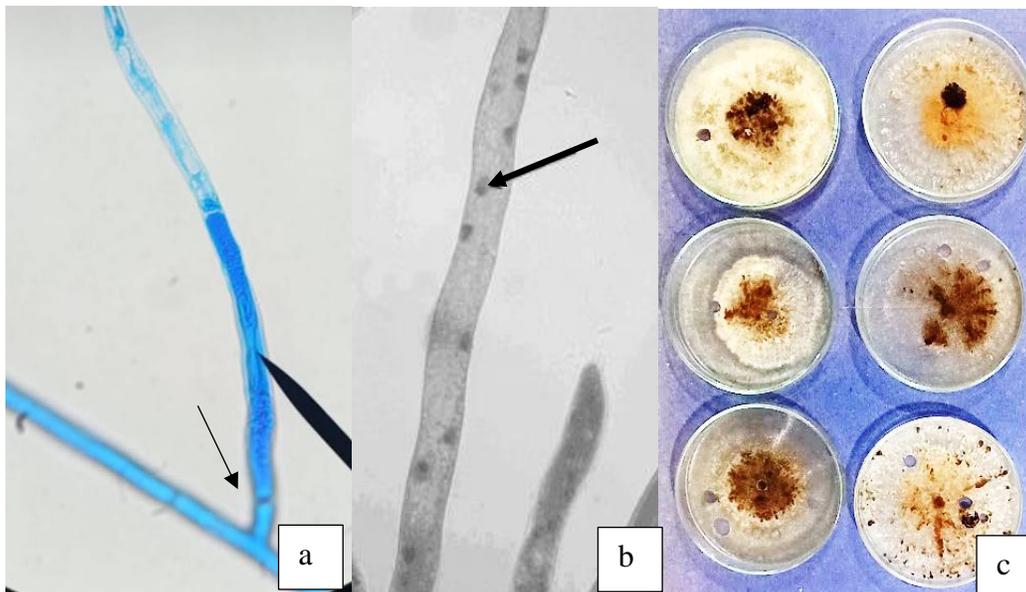


Figura 4. a) Hifa septada con ramificación en ángulo recto. b) Núcleos de la célula de *R. solani*. c) Coloración del micelio de aislamientos de *R. solani* de aislamientos de papa (*S. tuberosum* L.)

Fuente. Este estudio

Las características de las hifas, junto con la presencia de células multinucleadas, las cuales pueden presentar de 2 a 18 núcleos (Figura 4b) (Misawa y Kurose, 2018) y formación de células monilioides

descritas por Parmeter y Whitney (1970) como propias de *R. solani*, con características de los aislamientos, lo que permite clasificarlos dentro de esta especie (Giovannini *et al.*, 2005).

2.8 Biología de grupos anastomóticos de *R. solani*

La clasificación de *R. solani* ha sido compleja, por lo que se han propuesto diversos criterios (Tabla 2). Algunos de los más utilizados son la determinación de los grupos de anastomosis (AG) al que pertenecen los aislados y el grado de interacción entre las hifas. En relación a los grupos de anastomosis *R. solani* se ha clasificado con base en la compatibilidad de la fusión entre hifas. De esta manera, las hifas de aislamientos de AG iguales se fusionan, lo que sugiere la existencia de compatibilidad vegetativa, mientras que las de AG diferentes no presentan interacción (Ferrucho *et al.*, 2012).

Tabla 2.

Categorías para la determinación de compatibilidad de hifas (Macnish, Carling, & Braunard, 1993).

Reacción	Fenotipo	Relación genética entre los aislamientos
C0: No hay interacción	No hay reconocimiento entre las hifas	No existe relación genética entre los aislamientos. Pertenecen a diferentes AG.
C1: Ligero contacto hifal	No se evidencia contacto entre la pared o la membrana. Puede o no estar acompañada de muerte celular.	Aislamiento con relación genética muy distante. Pueden o no pertenecer al mismo AG.
C2: Reacción de muerte	Ocurre anastomosis entre las hifas, con muerte celular de las hifas anastomosadas y las adyacentes. Incompatibilidad somática evidente incluso a nivel macroscópico	Aislamientos genéticamente idénticos o muy relacionados. Pertenecen al mismo AG y pueden ser clones.

C3: Fusión perfecta	Anastomosis evidente entre las paredes y membranas. No hay muerte celular	Aislamientos genéticamente idénticos o muy relacionados pertenecen al mismo AG.
----------------------------	---	---

Fuente. Este estudio

De acuerdo a este criterio, *R. solani* se ha clasificado en 14 AG, del AG1 al AG13, que se anastomosan sólo con individuos del mismo grupo, y el AG-BI, que incluye aislados capaces de fusionarse entre ellos y con otros grupos (Ferrucho *et al.*, 2012). Otra clasificación, basada en los cambios citológicos en la zona de anastomosis, propone las categorías adicionales C0, C1, C2 y C3 para describir el grado de interacción entre las hifas en las reacciones de anastomosis (Cubeta & Vilgalys, 1997).

Si entre AG diferentes no existe interacción o existe muy poca reacción será C0 y C1 respectivamente, aunque se señala que C1 también puede observarse entre individuos de un mismo AG (Cubeta y Vilgalys, 1997).

Para aislamientos pertenecientes a igual AG se describen las reacciones C2 Y C3. La primera se denomina reacción de muerte, en la que los aislados se fusionan y ocurre la lisis de las células anastomadas, lo que indica incompatibilidad vegetativa entre individuos genéticamente diferentes (Carlin, 1996). La reacción C3, conocida como fusión perfecta, ocurre entre individuos genéticamente cercanos. Este caso que se produce cuando se enfrenta un aislado con el mismo (Carling 1996).

La reacción C2 es importante para definir individuos genéticamente diferentes dentro de una población, mientras C3 se espera que ocurra entre clones. A pesar de ello, el agrupamiento según la anastomosis no es completamente satisfactorio debido a que en ocasiones un aislado se anastomosa total o parcialmente con aislamientos demás de un grupo de anastomosis, algunos además pierden su capacidad de fusionarse (Carlin, 1996).

2.8.1 Grupos anastomóticos relacionados con el cultivo de papa

R. solani AG-3 ha sido reportado como el grupo de anastomosis más importante que afecta el cultivo de la papa en diferentes localidades del mundo. Convirtiéndose en la principal causa de rizoctoniasis dentro de cuatro grupos de anastomosis diferentes, aunque los AG-2-1, AG-2-2, y AG-9, también han sido asociados con papa y suelos recién cultivados con papa (Woodhall, *et al.*, 2007)

La diversidad y patogenicidad de los grupos de anastomosis de *Rhizoctonia* asociados con el cultivo de papa en Brasil dio a conocer que de 67 cepas de *Rhizocotonia*, veinticinco aislamientos (37,3%) pertenecían al grupo de anastomosis (AG) -3 PT, 20 (29,9%) a AG-4 HGI, 15 (22,4%) a AG-R, tres (4,5%) a AG-2- 1, tres (4,5%) para AG-A y uno (1,5%) para AG-1 IB (Inokuti *et al.*, 2019).

En la identificación, de los principales grupos anastomóticos de la Región Autónoma de Mongolia de China, se recolectó muestras de costra negra de 15 condados productores de papa. Los resultados del estudio indicaron que 45 cepas (73,77%), cuatro cepas (6,56%) y tres cepas (4,92%) pertenecían a los grupos de anastomosis AG-3, AG-1-IB y AG-2, respectivamente, mientras que nueve cepas (14,75%) no pertenecían a ninguno de los grupos de anastomosis anteriores (Cao C *et al.*, 2019).

En Colombia Chavarro 2012 encontró que, de los grupos anastomóticos presentes, el AG-3 es el agente causal de la rizoctoniasis siendo el grupo de anastomosis más recurrente en tubérculos de papa. Al realizar el análisis de una secuencia parcial de ADN para la región del espaciador transcrito Interno 2 (ITS-2) y estudiar la variabilidad genética de 121 secuencias de *Thanatephorus cucumeris* (anamorfo *Rhizoctonia solani*) se encontró que gran parte de los aislamientos pertenecían al grupo de anastomosis tres subgrupo tipo papa (AG-3 PT), y algunos fueron AG2-1 (Chavarro, 2012).

En la identificación de grupos de anastomosis por PCR y secuenciación de ADN ribosómico en localidades de Colombia, Ferrucho en su estudio obtuvo un total de 433 aislamientos de *R. solani* de los departamentos de Cundinamarca, Nariño, Antioquia, Boyacá, Santander y Norte de Santander de

los cuales 387 aislamientos fueron positivos para el AG-3 con los cebadores específicos. De Nariño se tomaron 44 cepas de *R. solani* donde 40 correspondieron al AG3, 2 a AG-E, 1 AG- I y una cepa no fue identificada, siendo el AG3 el grupo predominante y el agente causal de rizoctoniasis en el departamento de Nariño (Ferrucho, 2011).

2.9 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La técnica de Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR) es una poderosa herramienta que cumple con los requisitos de especificidad y sensibilidad que exigen la caracterización de los ácidos nucleicos, pudiendo detectar con ella de forma fácil la presencia de estas biomoléculas en una muestra, aun cuando sus cantidades se enmarcan en el orden de los picogramos (Harris S, 1997).

En 1983, Mullis desarrolló un procedimiento que permitía realizar copias de un fragmento de ADN de forma rápida y económica y que se denominó reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica supuso un gran avance para la universalización de las técnicas moleculares en los laboratorios de microbiología, por su sencillez y facilidad de aplicación. La PCR se basa en la repetición de tres procesos:

1. Desnaturalización: Consiste en separar la doble hebra de ADN y convertirla en hebra sencilla. Típicamente se usa una temperatura de 95°C - 97°C, por 15 a 40 segundos (el tiempo depende del tamaño del genoma).

2. Apareamiento de los iniciadores: Los cebadores “primers” previamente diseñados, reaccionan con la hebra sencilla de ADN y se pegan en lugares específicos por complementariedad de bases. Para esto, se baja la temperatura, esta y el tiempo puede variar entre cebadores según sea el caso.

3. Polimerización o Extensión: Una Polimerasa de ADN extiende los “primers”, en el espacio comprendido entre ambos “primers”, y coloca dinucleótidos trifosfatados (dNTP's) de 5'a 3' leyendo

el ADN de 3' a 5'. De esta forma sintetiza la secuencia complementaria de las hebras de ADN molde, se efectúa a 70°C por 1½ minutos (puede variar según sea necesario).

El proceso se lleva a cabo en un bloque térmico denominado termociclador. En cada repetición se duplica la cantidad de ADN específico, así en una reacción típica de 30–40 ciclos se generan 230–40 moléculas del DNA de interés (amplicones).

2.9.1 Regiones Espaciadoras Internas Transcritas (ITS)

Los genes ribosomales y los espacios entre ellos proveen claves diana atractivos para la detección molecular y estudios filogenéticos porque en ellos ocurre un alto número de copias, poseen secuencias conservadas como también variables y pueden ser amplificadas y secuenciadas con iniciadores universales basados en sus secuencias conservadas. Los genes 5.8S, 18S y 28S para el RNA ribosomal nuclear en hongos son organizados normalmente en tándem con repeticiones idénticas de 60-200 copias por genoma haploide (Henson y French, 1993).

A pesar de la conservación de los genes del RNA de los hongos, existe la variación suficiente en las secuencias para permitir su uso como sitios diana para la amplificación diferencial. Considerablemente, la variación de secuencia más grande es encontrada en los espacios internos transcritos (ITS), regiones entre los genes ARNr dentro de una unidad repetitiva de ARNr. Entonces, algún organismo o incluso cepas diferentes aisladas de un mismo organismo que tengan repeticiones del ADNr, pueden ser detectados específicamente por la selección de iniciadores basados en los espaciadores de las regiones variables (Henson y French, 1993).

Las regiones ITS son secuencias de ADN altamente específicas, que se encuentran entre los genes que codifican para el RNA ribosomal. Estas regiones son utilizadas en el estudio de poblaciones puesto que muestran diferencias evolutivas y permiten obtener una buena información filogenética y taxonómica de los individuos (Liu *et al.*, 1992).

La región del espaciador transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés) del gen ribosomal nuclear, es una de las regiones del genoma cuya variación es una valiosa fuente de caracteres informativos para la inferencia filogenética (Muñoz *et al.*, 2011). Por lo cual, estas regiones son de gran interés en el estudio de identificación y tipificación de especies, debido a que son fáciles de amplificar y alinear, tienen una alta tasa de mutación, y son relativamente pequeñas (Sanchez *et al.*, 2015).

Las zonas no codificantes (ITS1, ITS2 e IGS) son más variables porque acumulan mayor número de mutaciones y tienen gran interés en la identificación y tipificación de especies fúngicas. White y colaboradores en 1990 diseñaron y describieron cebadores específicos para amplificar y secuenciar varios segmentos del ADNr mitocondrial y nuclear de hongos, lo que abrió la posibilidad de realizar estudios filogenéticos con el uso de estos genes. La diversidad intraespecífica en el DNAr nuclear es común en hongos; en estudios de polimorfismo en esta región para varias especies fúngicas han mostrado que el ADNr nuclear es adecuado para el análisis de la relación genética a nivel de género y especie (Liu *et al.*, 1992).

2.10 Antecedentes de *R. solani*

Lees, *et al.*, (2002) realizaron ensayos cuantitativos de PCR en tiempo real para la detección e identificación de *Rhizoctonia solani* AG-3 en papa y suelo. En la detección de *Rhizoctonia solani* AG3 fueron analizados ensayos de sensibilidad y especificidad; desarrollaron indicadores específicos a partir de la región ITS para la detección por PCR convencional y PCR en Tiempo Real.

Budge, *et al.*, (2009), desarrollaron iniciadores a partir de la región ITS y del gen β -Tubulina para detectar a 11 diferentes grupos de anastomosis de *R. solani* por PCR en Tiempo Real. Adicionalmente, logran detectar en suelo niveles de 10^{-7} g esclerocio/g suelo de AG 2-1, combinando un kit de extracción de ADN de alimentos con un procesador magnético de partículas.

Muzhinji, *et al* (2015), realizaron la identificación de Grupos de anastomosis y patogenicidad de *R. solani* y *R. solani* binucleada del cultivo de papa en Sudáfrica. El material a utilizar fue de 112 aislados de *R. solani* y 19 aislados de *Rhizoctonia* binucleada (BNR) de plantas de papa enfermas, caracterizándolas por AG y patogenicidad. La identidad de AG de los aislamientos se confirmó mediante el análisis filogenético de la región espaciadora transcrita interna del ADN ribosómico. Los aislados de *R. solani* recuperados se identificaron con AG 3-PT, AG 2-2IIIB, AG 4HG-I, AG 4HG-III y AG 5, mientras que los aislados de BNR pertenecían a AG A y AG R. *R. solani* AG 3-PT fue el AG más predominante y se presentó en todas las regiones de cultivo de papa. Un experimento en condiciones de invernadero con aislamientos representativos de diferentes AG mostró diferencias en la agresividad entre y dentro de AG. Los aislamientos de AG 2-2IIIB, AG 4HG-III y AG R fueron los más agresivos en causar cáncer de tallo, mientras que AG 3-PT, AG 5 y AG R causaron cascarilla negra.

Mohamed, *et al.*, (2018), identificaron molecularmente los aislamientos de *R. solani* AG-3 por las regiones ITS y marcadores de repetición de secuencia simple (ISSR). Veintiséis aislamientos de *R. solani* fueron utilizados en el estudio de cuatro regiones productoras de papa de Arabia Saudita. Todos los aislamientos se inocularon en el cultivo de papa y se registraron observaciones sobre el porcentaje de incidencia de la enfermedad. La extracción de ADN genómico de los aislamientos de *R. solani* AG-3 se utilizó mediante cebadores de PCR e ISSR específicos y sensibles. El tamaño de ampliación de los tres cebadores ISSR varió de 0,3 a 2,8 Kb en aislamientos. Usando los tres cebadores, los probados los aislamientos se separaron sobre la base de coeficientes de similitud genética (GSC). El rango del GSC comenzaba en 0.62 y terminaba en 1.00. En el análisis de promedios aritméticos del método de pares y grupos no ponderados (UPGMA), los aislamientos de *R. solani* agrupados en cinco grupos. Este método proporcionó una detección rápida y confiable de aislados de *R. solani* AG-3. La

caracterización molecular tiene una gran variación genética en la población de *R. solani* AG-3, sin ninguna correlación entre agresividad, regiones geográficas y variación genética basada en marcadores ISSR.

Alghuthaymi, (2018). en su investigación Cultural, Anastomosis, and Universally Primed PCR Typing of *Rhizoctonia solani* from Potato, Identificó mediante la tipificación de anastomosis, caracteres morfológicos y el método molecular que los aislamientos muestreados de cultivos de papa pertenecen a AG-1, AG-3 y AG-7.

RP1, RP2, RP3 y RP4 son aislamientos que podrían clasificarse en otros grupos de anastomosis (AG) o tal vez podrían ser nuevos grupos de anastomosis. La huella digital de PCR universalmente cebada (UP-PCR) se utilizó para evaluar la diversidad genética de los AG de *R. solani* que infectan la papa y otros hospedantes. La mayoría de los aislamientos que representan varios AG se agruparon en diferentes subgrupos utilizando los tres cebadores. Los grupos moleculares de los aislamientos no correspondían a regiones agroecológicas o estados y cultivos de origen. En el estudio actual, los marcadores UP-PCR no pudieron identificar y diferenciar claramente los aislamientos de *R. solani*. No hubo relación entre el origen geográfico de los aislamientos y la agrupación de aislamientos en función de la diversidad genética. Basado en la caracterización cultural, la tipificación de grupos de anastomosis y la UP-PCR, no hay conclusiones claras sobre los grupos de anastomosis no identificados de la papa.

Chunmei., (2019). Evaluaron un total de 148 muestras de costra negra de papa recolectadas de 15 condados de papa en la Región Autónoma de Mongolia Interior de China. Las cepas de *Rhizoctonia solani* recolectadas se agruparon en tres tipos: crecimiento rápido, crecimiento lento y crecimiento medio, en función de la tasa de crecimiento micelial. La mayoría de los hongos aislados eran de tipos de crecimiento rápido y medio. Para examinar los grupos de anastomosis de la cepa de *R. solani*, las

cepas aisladas se cultivaron conjuntamente con cepas estándar de anastomosis en vidrio de portaobjetos estéril, y se observó la aparición de fusión micelial al microscopio. Los resultados del examen indicaron que 45 cepas (73,77%), cuatro cepas (6,56%) y tres cepas (4,92%) pertenecían a los grupos de anastomosis AG-3, AG-1-IB y AG-2, respectivamente. mientras que nueve cepas (14,75%) no pertenecían a ninguno de los grupos de anastomosis anteriores. Los resultados mostraron que todos los hongos probados fueron capaces de causar síntomas típicos de la costra negra de la papa en los tubérculos y el tallo. Además, se encontró que la tasa de crecimiento del micelio se correlacionó positivamente con su patogenicidad.

Gualoto y Andrade en el 2019, evaluaron la resistencia de genotipos de papa a *Rhizoctonia* sp. y *Pectobacterium* spp, utilizando genotipos testigos para cada ensayo con un diseño completamente al azar y un arreglo factorial 6 x 2 en los dos ensayos. En invernadero evaluaron el porcentaje de incidencia de *Rhizoctonia* sp. en tubérculos, donde Superchola, UCE-Premium e INIAP-Natividad presentaron el rango de susceptibilidad más alta de incidencia en tubérculos seguida de UCE-Allipacha, INIAP-Victoria e INIAP-Puca Shungo que tuvieron un menor porcentaje. En laboratorio se midió la pudrición de *Pectobacterium* spp., donde INIAP-Santa Catalina e INIAP-Victoria presentaron un rango mayor de pudrición en tubérculos con 19,07 ml y 18,50 ml respectivamente, mientras que UCE-Premium presentó el menor volumen de pudrición de tubérculo con 8,42 ml. En conclusión, se pudo observar que todos los genotipos evaluados presentaron variación genética a *Rhizoctonia* sp. y *Pectobacterium* spp.

3. Materiales y Métodos

Para dar cumplimiento a los objetivos propuestos la investigación se realizó en dos fases: la fase de campo y la fase de laboratorio

3.1 Fase de Campo

Esta investigación se llevó a cabo en fincas productoras de papa con registros históricos de alta incidencia de la enfermedad denominada costra negra o rizoctoniasis durante el segundo semestre agrícola del año 2020- 2021, el desarrollo del cultivo fue desde el mes de agosto del 2020 hasta el mes de febrero del 2021. Se incluyeron predios ubicados en tres municipios (Pasto, Túquerres e Ipiales) del departamento de Nariño donde se detallan en la Tabla 3 las condiciones climáticas de acuerdo al IDEAM 2020.

Tabla 3.

Condiciones climáticas de tres municipios productores de papa (Solanum tuberosum L.)

Condiciones climáticas de las zonas				
Municipios	Ubicación	Altura m.s.n.m	Precipitación mm/año	Humedad relativa
Pasto	1°16'53" Lat. N, 77°33'12"	2710	1197	81
Ipiales	0°50'45" Lat. N, 77°38'58" Long. W	2945	1138	82
Túquerres	1°05'02" Lat. N, 77°33'58" Long. W	2843	1321	84

Fuente. Este estudio

3.2 Material vegetal

En los lotes seleccionados, se sembraron cinco genotipos comerciales de papa: Diacol Capiro, ICA Única, Superior, Pastusa Suprema y Roja Huila, procedentes de semilla seleccionada de agricultores de la zona sur del departamento de Nariño, libres del patógeno.

3.3 Área y diseño experimental

El ensayo de campo se realizó bajo un diseño de bloques completos al azar (BCA), con cinco tratamientos, T1 Diacol capiro, T2 Roja Húila, T3 Pastusa Suprema, T4 Superior y T5 ICA Única. Se incluyeron, con cuatro repeticiones, en un área de 442 m², y cada unidad experimental estuvo conformada por 3,2 m de largo por 4,8 m de ancho que equivale a un área útil de 15,36 m² separadas por calles de 1,0 m. Cada unidad experimental tuvo cuatro surcos y en cada surco se sembraron 10 tubérculos, separados a 0,40 m (Figura 4).



Figura 4. Distribución aleatoria de los tratamientos bajo un diseño de bloques completos al azar BCA con cuatro repeticiones.

Fuente. Este estudio

3.4 Manejo Agronómico

En cada municipio donde se realizaron los ensayos de estudio del ataque de *R. solani* en genotipos comerciales de papa, se realizó el siguiente manejo agronómico:

El manejo de arvenses se realizó con control químico mediante la aplicación de tres Lha⁻¹ de glifosato, transcurrido un mes se realizó la preparación del terreno con rastra de tiro y arado de cincel, en la última pasada se incorporaron 3 bultos de cal dolomita. Veinte días después, se trazó con estacas

la distancia de los surcos y se realizó el surcado en cada lote experimental de los tres municipios a evaluar.

La fertilización de los ensayos se realizó técnicamente, mediante dos aplicaciones de fertilizante, la primera en etapa de emergencia con la fórmula química 13-26-6 y la segunda en etapa de formación de tallos con la fórmula química 15-15-15, cada aplicación se realizó con una dosis de 500 kg.ha⁻¹. El primer aporte se realizó a los treinta días después de la siembra junto con la segunda aplicación de abono utilizando la fórmula química de 15-15-15 y luego a los quince días de establecido el cultivo se realizó el segundo aporte.

El manejo sanitario se realizó con aplicaciones cada diez días después de la emergencia total, realizando una rotación entre Fosetil aluminio (3,0 g/L de agua), Propamocarb (2 cc/L de agua) y Dimetomorf (2,0 g/L de agua) para el control de goma (*Phytophthora infestans*) y simultáneamente para el manejo de plagas de la parte aérea y subterránea, se emplearon las fórmulas comerciales: Tiametoxan más Lambdaihalotrina (1,0 cc/L de agua), Dimetoato (1,5 cc por litro), Thyciclan Hidrogenoxalato (1,5 cc/L de agua) y Metomyl (20 cc/L de agua), principalmente de plagas como el gusano blanco (*Premnotypes vorax*), polilla de la papa (*Tecia solanivora* y *Phthorimaea operculella*), Chisa (*Ancognatha scarabaeoides* y *Phyllophaga obsoleta*), mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) y trips (*Frankliniella tuberosi* y *Thrips palmi*).

Objetivo 1: Evaluación de la incidencia y rendimiento comercial del ataque de *R. solani* en cinco genotipos comerciales de papa en tres municipios (Pasto, Túquerres e Ipiales) del departamento de Nariño.

3.5 Variables de respuesta

Incidencia de *R. solani* en emergencia y brotación

Para determinar esta variable, en cada parcela experimental a los 30 días de sembrado el ensayo se evaluó en los dos surcos centrales, observando plantas con brotación tardía, enanismo de plantas, quemazón y muerte de brotes. Para corroborar la presencia de *R. solani* en los tejidos afectados se llevaron muestras de este material al laboratorio de Sanidad Vegetal de La Universidad de Nariño, donde se realizó el aislamiento de *R. solani* en medio PDA siguiendo el protocolo de Carling y Leiner (1986).

Para determinar el porcentaje de incidencia en emergencia y brotación se aplicó la siguiente fórmula:

$$Incidencia = \frac{\text{Número de individuos afectados}}{\text{Total de individuos}} * 100$$

Incidencia en cosecha

Esta variable se identificó en el momento de la cosecha con la presencia de tubérculos deformes o “muñequero” sobre el total de la producción. Para ello se determinó el porcentaje de esta variable aplicando la siguiente fórmula:

$$Incidencia = \frac{\text{Número de individuos afectados}}{\text{Total de individuos}} * 100$$

Rendimiento comercial

Durante la cosecha se tomó los dos surcos centrales de cada parcela y se realizó la colecta de tubérculos de cada planta, dejando la producción por sitio para posteriormente realizar la valoración de los tubérculos, de acuerdo con tres categorías que se establecieron respecto a la resolución 3168 de 2015 del ICA que cataloga los diámetros para la especie *Solanum tuberosum* spp *andigena* (Tabla 4):

Tabla 4.

Diámetros de tubérculos de papa (S. tuberosum L.) para la evaluación del rendimiento comercial en tres municipios productores.

Diámetros de los tuberculos <i>Solanum tuberosum</i> spp <i>andigena</i>	Descripción
1. Diámetro grande	entre 71-90 mm
2. Diámetro mediano	entre 51-70 mm
3. Diámetro pequeño	entre 11-20 mm

Fuente. Este estudio

A continuación, se separaron tubérculos grandes de medianos, pequeños y con muñequero para hacer el conteo y pesaje de cada categoría. El rendimiento comercial se calculó con el peso de tubérculos grandes más tubérculos medianos por planta y este valor se llevó a toneladas por hectárea $t\ ha^{-1}$.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en cada una de las variables evaluadas se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha=0,05$), realizando pruebas de comparación múltiple de acuerdo con un análisis combinado de localidades y tratamientos basándose en el diseño de bloques al azar, siguiendo el estudio propuesto por Martínez (2009), de forma manual. La transformación de los datos en porcentaje se determinó mediante la fórmula: $\text{Arcoseno } \sqrt{\text{Dato\%} / 100}$.

3.7 Fase de laboratorio

Objetivo 2: Caracterizar molecular y biológicamente grupos anastomóticos de *R solani* procedentes de cinco genotipos comerciales de papa (*S. tuberosum* L.) en el departamento de Nariño.

3.8 Colección de material infectado con *Rhizoctonia*

Para este trabajo se incluyeron lotes de papa con presencia de *R. solani* ubicados en siete municipios del departamento de Nariño (Figura 5). En estos sitios se seleccionaron predios de cultivo en etapa de cosecha de cinco genotipos comerciales (Diacol Capiro, ICA única, Superior, Parda Suprema y Roja Huila).

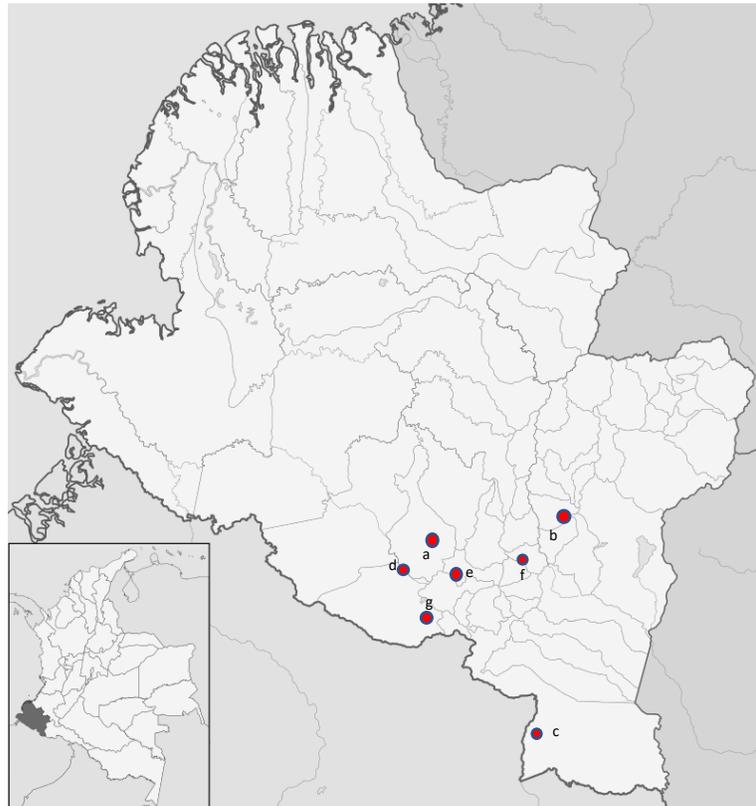


Figura 5. Municipios productores de papa con alta incidencia del patógeno *R. solani* (a) Túquerres, (b) Pasto, (c) Ipiales, (d) Sapuyes, (e) Ospina, (f)Tangua (g) Pupiales.

Fuente. Mapas departamento de Nariño

De cada lugar se recolectaron tubérculos con síntomas de la enfermedad, como enrollamiento de hojas, quemazón de los tallos, formación de tubérculos aéreos y presencia de esclerocios. De cada lugar se llevaron registros, etiquetando cada muestra de acuerdo a la procedencia y variedad, para luego llevarse al laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño.

3.9 Aislamiento de *R. solani*

La desinfección de los tubérculos se realizó mediante el lavado en agua corriente por 15 minutos, posteriormente, fueron inmersos en una solución al 5% de hipoclorito de sodio, durante dos minutos, para después realizar tres enjuagues con agua destilada estéril, a fin de eliminar el exceso de hipoclorito de sodio. En la cámara de flujo laminar se extrajo de forma individual cada esclerocio sobre un papel filtro estéril, dividiendo éste en tres porciones aproximadamente iguales, con ayuda de una pinza y bisturí previamente flameado y depositándose en cajas Petri con medio de cultivo PDA. (Giovannini, 2004). Las cajas Petri se rotularon indicando la zona de procedencia y la variedad.

De cada variedad se realizaron diez siembras, las cajas de Petri se colocaron a temperatura ambiente durante 24-48 horas en oscuridad, hasta obtener el desarrollo del micelio. Después del tiempo señalado, se establecieron cultivos de puntas hifales de las colonias al medio de papa dextrosa agar (PDA) logrando así cultivos completamente puros de *R. solani* (Ferrucho 2012).

3.10 Caracterización molecular de *R. solani*

3.11 Extracción de ADN

A partir de cultivos puros de aislados de *R. solani*, se realizó la extracción de ADN, la cual se llevó a cabo en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad de Nariño. Se utilizó el protocolo propuesto por Griffith y Shaw (1998) con algunas modificaciones adaptadas para esta investigación.

Protocolo propuesto por Griffith y Shaw (1998)

- ✓ Se colectó ≈100 mg de micelio fresco (colonias en PDA de 7 días) en tubos eppendorf 1.5 mL.
- ✓ A cada muestra se añadió un volumen total de 600 ul de buffer CTAB. Inicialmente se agregó un volumen de 200 ul y después de una homogenización física con pistilos esterilizados, se completó con los 400 ul restantes, realizando vortex durante 10 segundos.
- ✓ Se incubó en baño maría durante una hora a 65 °C y se mezcló por inversión cada 10 minutos.
- ✓ Se Agregó 600 ul de cloroformo y se llevó a centrifuga durante 10 minutos a 12000 rpm.
- ✓ Se extrajo la capa superior de aproximadamente 600 ul y se transvasó a un nuevo tubo eppendorf, teniendo cuidado de evitar la interfaz de la capa acuosa /orgánica y se le agregó 0.6 volúmenes de isopropanol (360 ul). Posteriormente se dejó reposar durante cinco minutos a temperatura ambiente en posición vertical y se llevó a centrifugar a 12000 rpm durante 10 minutos.
- ✓ Se eliminó el sobrenadante del pellet y se agregó 1 ml de Etanol frío (-20 C) al 70 % y se llevó a centrifugar durante 8 minutos a 12000 rpm.
- ✓ Se retiró el sobrenadante del etanol al 70 % y se agregó 1 ml de Etanol frío al 96% y se llevó a la centrifuga durante 10 minutos a 12000 rpm.
- ✓ Finalmente se eliminó el etanol y la muestra se dejó secar al vacío. El ADN se suspendió en 20 ul de Agua Milli-Q, se agregó 1 ul de ARNasa y se incubó durante 1 hora a 37 °C; se almacenó a -20 ° C.

La integridad de ADN se verificó en geles de agarosa al 1%, teñidos con 1 ul de Hydragreen y corridos a 100 V por 1 hora. Las bandas se visualizaron en un transluminador marca Accuris

instruments SMARTDOC. La calidad y la cantidad de ADN se midió en un NanoDrop por espectrometría marca Implen NanoPhotomer.

3.12 Amplificación de PCR con ITS

Para la amplificación de *R. solani* se utilizaron los cebadores universales ITS 1(TCCGTTGGTGAACCAGCGG) e ITS 4 (TCCTCCGC TTATGATATGC) (White *et al.* 1990). El proceso de PCR se realizó utilizando, 12.5 ul de Master green, 1 ul de cada cebador, 1 ul de BSA, 3 ul de ADN y se completó con 6.5 ul de agua hasta obtener un volumen de 25 ul para cada muestra. Los ciclos de la PCR fueron realizados en un termociclador automatizado MultiGENE optiMAX y las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial a 94 °C por 10 min, seguido por 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 57 °C por 1 min, 72°C por 1 min, y finalmente 72 °C por 10 min (Chavarro, 2012).

La visualización del producto de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.0 % empleando Buffer de carga TBE (0.5 X), con una corrida de 100 V por una hora.

3.12 Procesamiento y análisis de la información

El proceso de secuenciación de las muestras de ADN de los 50 aislamientos de *R. solani* se realizó con la empresa MacroGen Corea. Una vez recibida la información por email, la limpieza de las secuencias se realizó mediante el programa Sequencher, el alineamiento se realizó en Clustal W dentro del programa MEGA X 7.0 (Kumar *et al.* 2016). Igualmente, el árbol filogenético se ejecutó en el programa iTOL, para visualizar con mayor claridad las variables evaluadas.

Este análisis involucró 52 secuencias de nucleótidos, el árbol de similitud se realizó mediante el método de Neighbor Joinig, las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de Máxima verosimilitud Compuesta con un bootstrap de 1000 repeticiones.

Los datos de secuencia de los individuos evaluados se compararon con la base de datos GenBank. El aislamiento *R. oryzae* correspondiente a la accesión EU809420.1 fue utilizado como control negativo para el árbol de similitud (Barrera *et al.*, 2018) y el grupo AG3 (AF354107.1) como control positivo.

3.12 Determinación de AG por interacción de compatibilidad de hifas

Las reacciones de compatibilidad somática microscópica se determinaron en un ensayo de emparejamientos utilizando 50 aislamientos pertenecientes a cinco genotipos comerciales del departamento de Nariño (Diacol Capiro, ICA única, Superior, Parda suprema, Roja Huila) y su AG previamente identificados por secuenciación de ITS-ADNr los cuales se enfrentaron con un grupo AG3 otorgado por el grupo de Sanidad vegetal que sirvió como asilado de prueba (Figura 6) (Ferrucho, 2011).

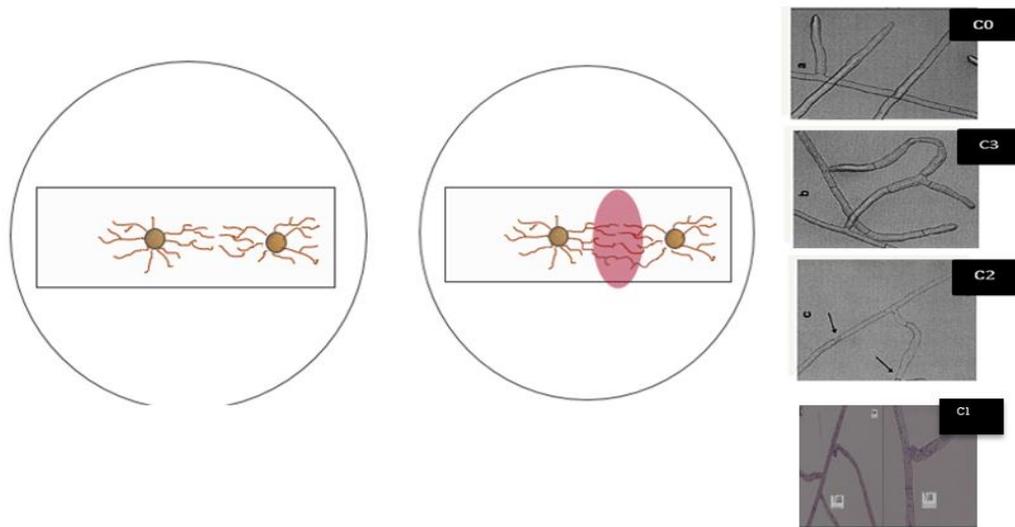


Figura 6. Proceso para la determinación de compatibilidad de hifas, tapones miceliales, tinción con safranina, C0. No relación genética. Diferentes AGs, Reacción C3. Fusión perfecta. El mismo AG. Clones, Reacción C2. Fusión con muerte celular. C1 Reacción contacto.

Fuente. Ferrucho,, R.

Los emparejamientos se realizaron en portaobjetos colocando tapones miceliales (0,5 cm de diámetro) de cultivos en crecimiento activo (24 horas en PDA) con tapones miceliales de aislados de prueba separados 1,5 cm entre sí. Los portaobjetos se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas y se evaluó la interacción bajo un microscopio óptico a 200 X, verificando el tipo de interacción para 15 puntos de contacto en cada emparejamiento, usando tinción con safranina (Bandoni, 1979) (Figura 6), Cada aislamiento en estudio se enfrentó con el AG patrón y se determinó el porcentaje de fusión de las hifas de *R.solani* mediante la siguiente formula (Carling *et al.*, 1992; Ferrucho, 2011):

$$\% \text{ FF} = (A * 100) / B$$

A = Suma de ubicaciones de fusión (en C1, C2, C3) en 15 puntos de contacto.

B = Suma de puntos de contacto en 15 campos microscópicos.

Las categorías de anastomosis hifal evaluadas fueron las siguientes de acuerdo a Macnish & Braunard. 1993:

1. C0, cuando las hifas emparejadas crecen sin reconocimiento; Esto indica que los aislamientos emparejados pertenecen a diferentes AG.
2. C1 (reacción de contacto), solo habrá contacto entre las hifas. Aparente fusión de la pared celular pero no fusión de membrana, esta reacción indica que los aislados emparejados están relacionados de forma distante, aunque puedan pertenecer al mismo AG.
3. C2 (reacción de muerte), donde se presenta fusión de las paredes celulares y la membrana citoplasmática, pero el citoplasma intercambiado no permanece viable y se produce la muerte en las células fusionadas. Esto indica que los aislamientos emparejados pertenecían al mismo AG pero son genéticamente distintos.
4. C3 (fusión perfecta) en este caso se presenta fusión de las paredes y membranas celulares. Este tipo de reacción indica que los aislados emparejados son clones, o genéticamente idénticos.

La determinación de compatibilidad de hifas de *R. solani* mediante pruebas macroscópicas, se realizó mediante los enfrentamientos de aislamientos de cultivos de punta de hifa puros frente a un aislamiento AG3 previamente identificado mediante pruebas moleculares con marcadores ITS, el cual fue otorgado por el laboratorio de Sanidad Vegetal, de la Universidad de Nariño. Por medio de un sacabocados se extrajo dos discos de 0,5 mm de diámetro de cada aislamiento y se colocaron a un extremo de la caja Petri y frente a estos se colocaron dos discos de 0,5 mm del grupo AG3 previamente identificado, los cuales se colocaron en medio PDA a temperatura ambiente por 20 días (Figura 7).

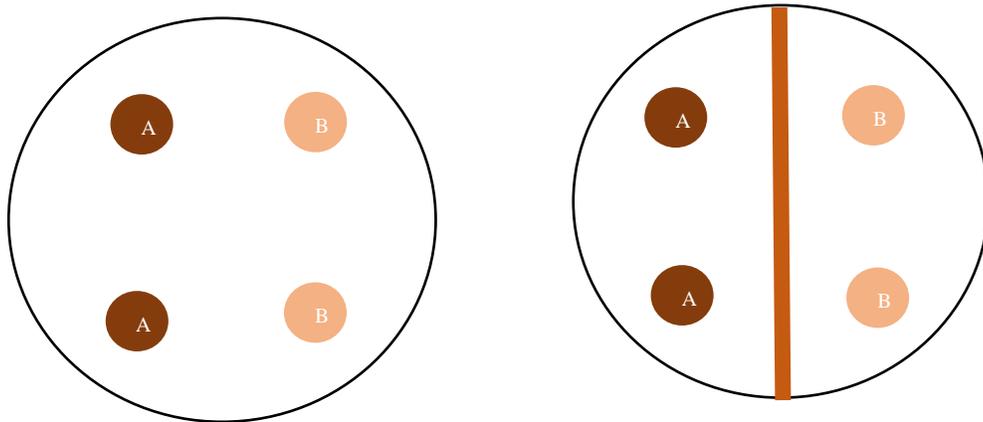


Figura 7. Montaje de los ensayos de las pruebas macroscópicas de *R. solani*, donde A corresponde a los aislamientos a identificar y B a un aislamiento AG3 -PT previamente caracterizado molecularmente.

Fuente. Este estudio

Transcurrido el tiempo se identificaron las reacciones somáticas macroscópicas, las cuales se definieron como fusión y penacho. En la categoría “fusión”, los dos cultivos se unen con poca o ninguna evidencia de demarcación y en la categoría “mechón” hay un área de diferenciación entre el encuentro de los aislados (MacNish *et al.*, 1997).

4. Resultados y Discusión

4.1 Fase de campo

4.2 Variables evaluadas

Incidencia en emergencia y brotación se evaluó con la presencia de enanismo en plantas, lesiones, quemazón y muerte de brotes basales en los tallos de coloración castaño rojizo (Figura 8) y la incidencia en cosecha con la presencia de deformación de los tubérculos (Figura 9) (Morales *et al.*, 2018).



Figura 8. Identificación de lesiones en tallos de plantas, genotipo Roja Huila.

Fuente. Este estudio



Figura 9. Deformación de tubérculos.

Fuente. Este estudio

4.3 Incidencia en emergencia y brotación

El análisis de varianza para incidencia en emergencia y brotación (Tabla 5) indicó que existieron diferencias estadísticas entre localidad y genotipo, sin embargo, la interacción de localidad *genotipo no presentó diferencias significativas.

Tabla 5.

Análisis de varianza variable incidencia en genotipos comerciales del departamento de Nariño.

FV	GL	Cuadrados medios Incidencia	F calculado	F Tabla
Modelo	23	67,84*	3,89	
Localidad(a)	2	155,61*	14,23	3,26
Genotipo(b)	4	269,08*	15,42	2,63
Localidad*Genotipo(a)*(b)	8	9,31 ^{ns}	0,53	2,21
Error	36	17,44		

(*) indica diferencias significativas.

^{ns} indica diferencias no significativas.

Fuente. Este estudio

En la tabla 6, la zona de Túquerres obtuvo el mayor porcentaje de incidencia en emergencia y brotación (36,04%) con diferencias significativas frente a los municipios de Pasto (30,70%) e Ipiales (31,98 %), esto probablemente se debe a la facultad de dispersión de *R. solani*, las condiciones físicoquímicas de los suelos y la variabilidad climática presente en las zonas (Betancourth *et al.*, 2021). Hay que considerar que *R. solani* se disemina rápidamente mediante la preparación del suelo, el movimiento del mismo y el uso de semilla infectada, convirtiéndose en material de dispersión a larga distancia, llegando a contaminar zonas libres de este patógeno (Tsrör, 2010). Una de las características que presentan los esclerocios es la capacidad de resistencia a las condiciones ambientales extremas debido a la presencia de melanina en las paredes (Desvani *et al.*, 2018) y una vez establecidos en el suelo se convierten en una fuente continua de inóculo primario (Tsrör, 2010).

Los daños más graves ocasionados por *R. solani*, se producen con una humedad relativa alta superior al 80%, atacando en cualquier momento del desarrollo del cultivo (INIA, 2017), especialmente a los brotes y tallos subterráneos, retrasando o impidiendo la emergencia del cultivo (Mantecón, 2015). Túquerres se caracteriza por presentar una humedad relativa del 88 %

aproximadamente (IDEAM, 2022) condiciones que generan un óptimo desarrollo de este patógeno y favorecen el ataque del cultivo de papa en estados de emergencia y brotación.

Los genotipos con el mejor comportamiento frente a la incidencia de emergencia y brotación fueron Pastusa Suprema (27,93 %), Superior (30,60 %) y Diacol Capiro (30,07 %) respecto a ICA Única (38,45%) y Roja Huila (37,47 %) con diferencias significativas al nivel del 0.05 % de probabilidad estadística (Tabla 6). La alta incidencia de la enfermedad en brotación permite evidenciar la posible existencia de variantes de *R. solani* que generan múltiples síntomas (Kumar *et al.*, 2017) atacando a todos los genotipos evaluados, así como también, en esta variable el nivel de daño está dado en gran parte por la susceptibilidad de los genotipos y de las condiciones ambientales (Medina-Muñoz, 2013).

Estudios realizados por Chavarro (2011), identificaron que la presencia o ausencia de los síntomas de la rizoctoniasis en los materiales evaluados dependen de la tolerancia y del comportamiento del cultivar. Esto se debe al importante papel que juega la variabilidad genética entre genotipos, presentándose como una de las mejores alternativas para la mejora de materiales en campo (Ritter *et al.*, 2010) y el control de enfermedades (CIP, 2018).

Tabla 6.

Comparación de porcentajes de incidencia en emergencia y brotación de *R. solani* en los genotipos comerciales de papa en el departamento de Nariño.

Localidades (a)	Tratamientos (b)					Promedio (a)
	Superior	Diacol Capiro	Pastusa Suprema	Roja Huila	ICA Única	
Pasto	26,48	28,14	24,93	36,97	36,99	30,70 b
Túquerres	35,48	33,17	32,41	39,22	39,94	36,04 a
Ipiales	29,85	28,91	26,47	36,24	38,44	31,98 b
Promedio (b)	30,60 b	30,07 b	27,93 b	37,47 a	38,45 a	

Tukey (a) 0,005 = 2,91 Tukey (b) 0,005= 4,85

Fuente. Este estudio

4.4 Incidencia en cosecha

El análisis de varianza para esta variable (Tabla 7), indicó que existieron diferencias estadísticas significativas entre localidad, genotipo y la interacción de Localidad *Genotipo.

Tabla 7.

Análisis de varianza variable Incidencia en cosecha (Muñequero) en genotipos comerciales de papa del departamento de Nariño.

FV	GL	Cuadrados medios incidencia en cosecha	F calculado	F tabla
Modelo	23	24,94*	3,26	
Localidad	2	107,40*	14,51	3,26
Genotipo	4	24,34*	0,97	2,63
Localidad*Genotipo	8	24,35*	3,18	2,21
Error	36	7,65	3,18	

(*) indica diferencias significativas.

^{ns} indica diferencias no significativas.

Fuente. Este estudio

Para la variable incidencia en cosecha (Tabla 8); el municipio de Túquerres (16,38 %) superó estadísticamente con un 0.05 % de probabilidad a Ipiales (11,98%) y Pasto (12,92 %), debido a la presencia de deformación de tubérculos en los genotipos estudiados. En Pasto, Diacol Capiro (14,98%) fue el genotipo de mayor porcentaje de incidencia en cosecha e ICA Única fue la de menor (9,23 %). Túquerres presentó el mayor porcentaje de incidencia en cosecha con la variedad Roja Huila (19, 94%) con diferencias estadísticas frente a Pastusa Suprema (13,17%). Finalmente, en Ipiales no se presentaron diferencias estadísticas entre los genotipos.

R. solani afectó en su gran mayoría a todos los genotipos con síntomas como mal formaciones atribuyéndole esto a la producción de una toxina con efecto regulador del crecimiento (Morales *et al.*, 2018). El efecto de rizoctoniasis en papa depende del aislamiento de *R. solani* involucrado, el genotipo de papa y factores ambientales. (Kankam *et al.*, 2021). Asimismo, el efecto en la calidad es altamente significativo en relación al de las plantas sanas, pudiendo ocasionar cosechas con 80% de tubérculos pequeños y deformes y sólo un 20% de tamaño regular. De acuerdo a observaciones realizadas por Betancourth y colaboradores en el año 2020, señalan que *R. solani* es un patógeno que afecta el cultivo de la papa de forma indirecta mediante la deformación de tubérculos (muñequero).

Este daño genera pérdidas significativas en el rendimiento comercial, debido a que las plantas infectadas tienden a producir una gran cantidad de tubérculos deformes, con protuberancias y partiduras (Acuña, 2019). Estudios realizados por Pozo 2013, indican que *R. solani* es un patógeno que se encuentra realizando daños cuantitativos y cualitativos en cultivares de papa en el Ecuador, donde catalogan la deformación de tubérculos como un daño cualitativo que genera severas pérdidas económicas a los productores de este tubérculo.

Tabla 8.

Comparación de porcentajes de incidencia en cosecha de *R. solani* en los genotipos comerciales de papa en el departamento de Nariño.

Localidades (a)	Tratamientos (b)					Promedio (a)
	Superior	Diacol Capiro	Pastusa Suprema	Roja Huila	ICA Única	
Pasto	11,78 ab	14,98 a	14,12 ab	14,49 ab	9,23 b	12,92b
Túquerres	17,43 ab	16,31 ab	13,17 b	19,94 a	15,03ab	16,38 a
Ipiales	14,45 a	7,9 a	12,79 a	12,81 a	11,93 a	11,98 b
Promedio (b)	14,56 ab	13,07 ab	13,37ab	15,75 a	12,07 b	

Tukey (a) 0,005 = 2,13 Tukey (b) 0,005= 3,19 Tukey (a*b) 0,005 = 5,53

Fuente. Este estudio

4.5 Rendimiento

El análisis de varianza para esta variable (Tabla 9), indicó que existieron diferencias estadísticas significativas entre localidad, genotipo y la interacción de Localidad *Genotipo.

Tabla 9.

Análisis de varianza variable rendimiento comercial para los genotipos comerciales de papa en Nariño.

FV	GL	Cuadrados medios de rendimiento	F calculado	F tabla
Modelo	23	94,73*	12,05	
Localidad	2	601,62*	76,90	3,26
Genotipo	4	95,67*	12,17	2,63
Localidad*Genotipo	8	65,30*	8,31	2,21
Error	36	7,86		

(*) indica diferencias significativas.

^{ns} indica diferencias no significativas.

Fuente. Este estudio

De acuerdo a la (Tabla 10), Ipiales obtuvo el mejor comportamiento en la variable de rendimiento comercial con un promedio de 21, 64 t ha⁻¹ con diferencias significativas (P< 0.05) a las otras dos zonas de estudio. El genotipo de mejor comportamiento para esta variable fue la variedad Superior

con un rendimiento comercial promedio 19,05 t ha⁻¹ con respecto a plantas sanas (29,50 t ha⁻¹) (FEDEPAPA y FNFP, 2020).

Tabla 10.

Comparación del rendimiento comercial de *R. solani* en genotipos de papa comercial en el departamento de Nariño.

Localidades (a)	Tratamientos (b)					Promedio (a)
	Superior	Diacol Capiro	Pastusa Suprema	Roja Huila	ICA Única	
Pasto	22,37 a	20,12 a	11,28 b	14,92 b	4,28 b	14,6 b
Túquerres	13,57 a	9,525 a	11,85 a	10,55 a	8,67 a	10,83 c
Ipiales	21,2 a	22,875 a	20,68 a	21,37 a	22,06 a	21,64 a
Promedio (b)	19,05a	17,50 ab	14,60 bc	15,617 b	11,67 d	
Tukey (a) 0,005 = 2,1690 Tukey (b) 0,005= 3,2376 Tukey (a*b) 0,005 = 5,607						

Fuente. Este estudio

Esto se debe principalmente a las características que presenta este genotipo, Superior en Colombia es altamente cultivada por su rendimiento (FNFP, 2020), logrando ocupar cerca del 23% del área sembrada a nivel nacional, debido a su potencial productivo en campo. Para el año 2018, en Nariño Superior fue el único genotipo que presentó un aumento de almacenamiento del 55%, respecto al año anterior, así mismo su calidad para la culinaria y su aceptación en mercados mayoristas, sustituyó una gran parte del área que se sembraba de Parda Pastusa y Pastusa Suprema (Minagricultura, 2019). Herrera (2019) en su estudio otorga el interés al genotipo Superior frente al ataque de Rizoctoniasis por su gran recepción y demanda para el consumo en fresco y su alto rendimiento en campo.

Al analizar la interacción, Pasto presentó diferencias en el comportamiento de los genotipos donde Superior (22,37 t ha⁻¹) y Diacol Capiro (20,12 t ha⁻¹) superaron estadísticamente al nivel del 0,05 de probabilidad a Roja Huila (14,92 t ha⁻¹), Pastusa Suprema (11,28 t ha⁻¹) y ICA Única (4,28 t ha⁻¹). Sin embargo, los municipios de Ipiales y Túquerres no presentaron diferencias significativas entre los

genotipos. Esto se le puede atribuir a la capacidad de muchos materiales que pueden ser resistentes o tolerantes para el manejo integrado de *R. solani* en campo (Prado *et al.* 2001), donde una de las principales características de los genotipos a tener en cuenta es el potencial de rendimiento comercial.

Diacol Capiro en Pasto es un genotipo que se destaca por su buen comportamiento frente a esta variable, alcanzando un valor de 20.12 t ha⁻¹ frente a un rendimiento comercial de plantas sanas de 27.72 t ha⁻¹ (FNFP, 2020), esto se debe al potencial de adaptación que presenta Diacol Capiro en el tiempo, es un genotipo que fue entregado por el DIA en 1958 (Ñustez,2011), sin embargo, pese a sus características para la culinaria en Colombia (CIP, 2017), es el principal genotipo para el procesamiento industrial y en Nariño para el año 2019 fue la de mayor abastecimiento con 73,961 ton. (FNFP, 2020).

Objetivo 2: Caracterizar molecular y biológicamente grupos anastomóticos de *R solani* procedentes de cinco genotipos comerciales de papa (*S. tuberosum* L.) en el departamento de Nariño.

4.6 Fase de Laboratorio

Como se observa en la Tabla 11, a partir de los esclerocios que se aislaron de tubérculos de papa se lograron obtener 50 aislamientos que correspondió a 10 aislamientos de cinco genotipos comerciales (Figura 10).

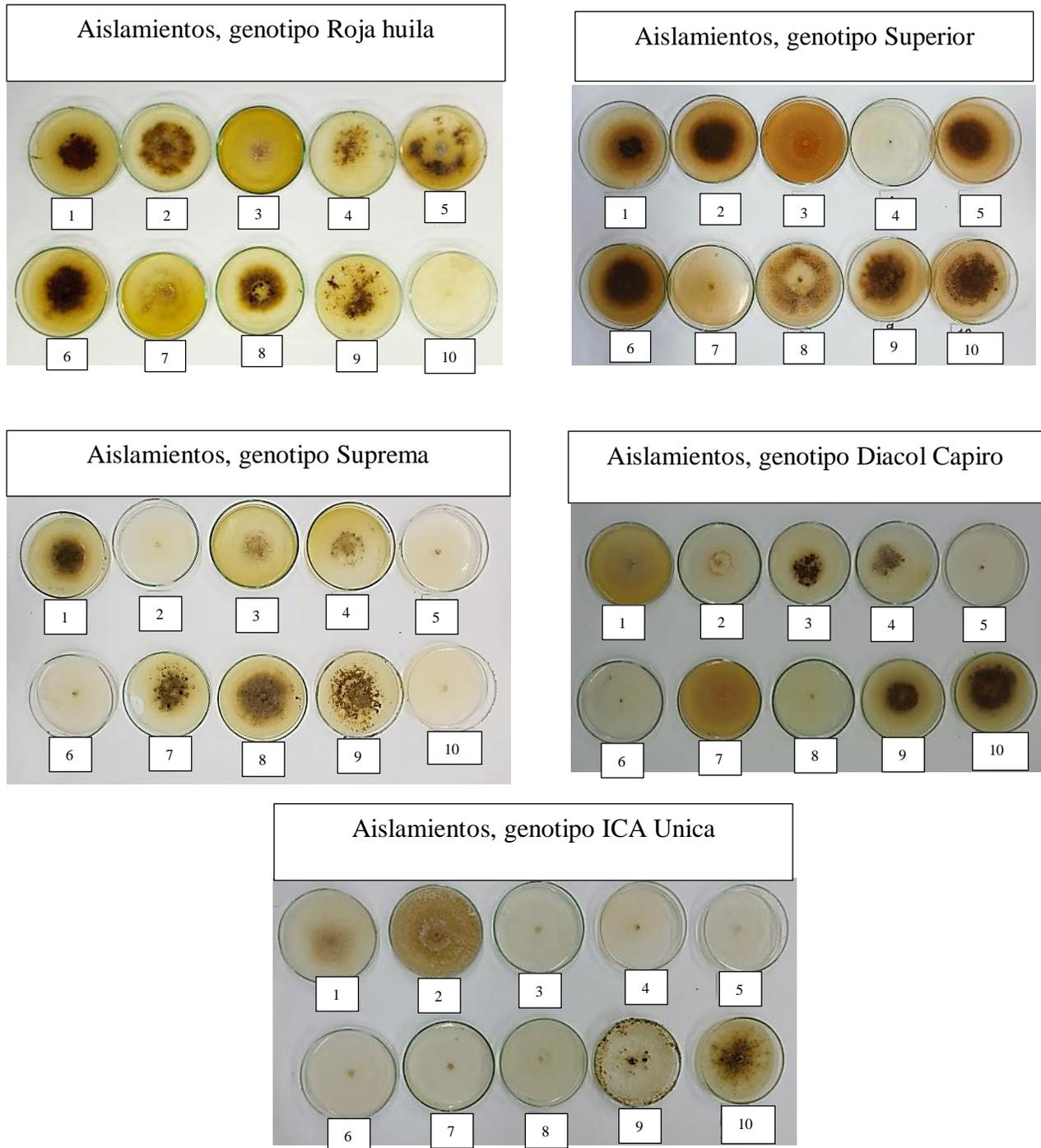


Figura 10. Aislamientos de *R. solani* de cinco genotipos comerciales de papa (*S. tuberosum* L.).

Fuente. Este estudio

Tabla 11.

Aislamientos de *R. solani* en municipios productores del departamento Nariño de cinco genotipos comerciales de papa.

Municipio	Coordenadas	Altitud	Variedad	Código Aislamiento
Pasto	N:1°16'53'' W 77°33'12	2710	Parda suprema	S1
Pasto	N:1°16'53'' W 77°33'13	2710	Parda suprema	S2
Pasto	N:1°16'53'' W 77°33'14	2710	Parda suprema	S3
Túquerres	N: 1°05'02" W 77°33'58"	2843	Parda suprema	S4
Túquerres	N: 1°05'02" W 77°33'58"	3050	Parda suprema	S5
Túquerres	N: 1°05'02" W 77°33'58"	2843	Parda suprema	S6
Pasto	N:01°10'29.5" - W:77°19'49.7"	3100	Parda suprema	S7
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3164	Parda suprema	S8
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3167	Parda suprema	S9
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3169	Parda suprema	S10
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3097	Roja Huila	R1
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3104	Roja Huila	R2
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2987	Roja Huila	R3
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3106	Roja Huila	R4
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3108	Roja Huila	R5
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2988	Roja Huila	R6
Pasto	N:01°05'47" - W:77°18'27"	2905	Roja Huila	R7
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2991	Roja Huila	R8

Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2993	Roja Huila	R9
Pasto	N:01°05'47" - W:77°18'27"	2913	Roja Huila	R10
Túquerres	N:01°03'52.2" - W:77°35'18.5"	2922	Diacol Capiro	C1
Túquerres	N:01°04'37"- 77°36'4.5"	2983	Diacol Capiro	C2
Pasto	N:01°06'56.6" - W:77°19'39.1"	3182	Diacol Capiro	C3
Pasto	N:01°05'14.7" - W:77°16'43.5"	3130	Diacol Capiro	C4
Ospina	N:01°02'46"- W:77°41.8"	3025	Diacol Capiro	C5
Ospina	N:01°02'46"- W:77°41.8"	3027	Diacol Capiro	C6
Ospina	N:01°01'11.9" - 77°34'09"	3093	Diacol Capiro	C7
Ospina	N:0102'39"- W:77!34'11.6"	2963	Diacol Capiro	C8
Pasto	N:01°10'29.5" - W:77°19'49.7"	3173	Diacol Capiro	C9
Ospina	N:01°01'57.9"- W:77°34'42.8"	3067	Diacol Capiro	C10
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3144	ICA Única	U1
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3025	ICA Única	U2
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3022	ICA Única	U3
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3026	ICA Única	U4
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2994	ICA Única	U5
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2995	ICA Única	U6
Pasto	N:01°10'34.2" - W:77°19'4.2"	3035	ICA Única	U7
Sapuyes	N:01°07'55.5" - W:77°36'20"	3477	ICA Única	U8
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3023	ICA Única	U9
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3144	ICA Única	U10

Tangua	N:01°4'6.3" - W:77°18'45.6"	2898	Superior	SP1
Pasto	N:01°08'50" - W:77°17'01"	3094	Superior	SP2
Pasto	N:01°08'50" - W:77°17'01"	3096	Superior	SP3
Pupiales	N:00°52'49"- W:77°40'19.7"	3030	Superior	SP4
Tangua	N:01°4'6.3" - W:77°18'45.6"	2897	Superior	SP5
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3151	Superior	SP6
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2994	Superior	SP7
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2995	Superior	SP8
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3152	Superior	SP9
Sapuyes	N:01°07'55.5" - W:77°36'20"	3467	Superior	SP10

Fuente. Este estudio

4.7 Caracterización molecular de *R. solani*

4.8 Extracción y cuantificación de ADN

El protocolo utilizado permitió obtener ADN de buena concentración, calidad y pureza de los aislados de *R. solani* incluidos en el estudio. Los rangos de concentración comprendieron los 500 y 1200 ng/ μ l y valores de pureza (280/260 nm) entre 1.8 y 2.1. Todas las muestras se llevaron a una concentración de 80 ng para ser trabajadas en el proceso de PCR.

4.9 Análisis de la variabilidad mediante ITS

La amplificación con los marcadores ITS 1 e ITS 4 permitió observar en los geles de agarosa una banda de amplificación de aproximadamente 700 pb (Liu y Sinclair, 1992) (Figura 11). Las secuencias se identificaron con el patógeno *R. solani* y la búsqueda en el BLAST reveló que 48 de ellas correspondieron al grupo AG3 y dos al grupo AG2 (Tabla 10). De acuerdo a los resultados obtenidos,

Ferrucho y colaboradores destacan una alta precisión de la metodología de secuenciación con ITS para la detección de *R. solani* del cultivo de papa (Ferrucho *et al.*, 2013).

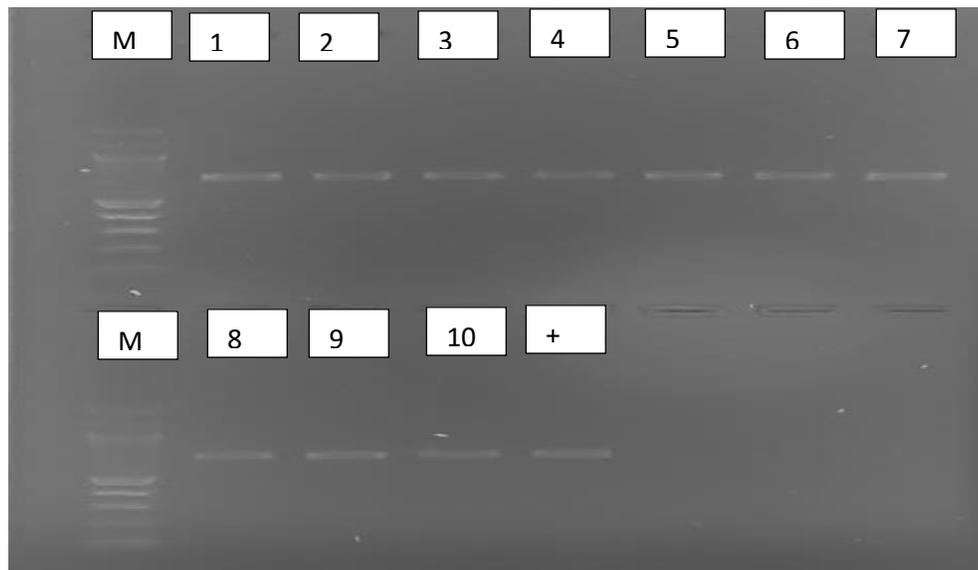


Figura 11. Amplificación de las bandas del producto de PCR de cepas de *R. solani*.

Fuente. Este estudio

El grupo AG3 presentó un alto porcentaje de similitud con las secuencias KX631333.1 y KX631314.1 procedentes de asilamientos de *R. solani* de la región de China donde el porcentaje fue entre 90 y 100% (Tabla 11). El grupo AG2 de la variedad ICA Única presentó 99.67 % con la accesión JX161894.1 y el grupo AG2 de la variedad Suprema obtuvo un 99.20 % con la accesión JX161870.1 de los autores Das y colaboradores en el año 2013 en su estudio variabilidad genética y patogenicidad de *R. solani* asociado con la costra negra de la papa en Nueva Zelanda (Tabla 11).

Los valores generados por el bootstrap fueron mayores al 90% y los resultados de esta investigación mediante pruebas de PCR con ITS universales, indicaron que el grupo AG3 PT es el grupo más

recurrente en genotipos comerciales de papa en Nariño con un porcentaje del 96%, presentándose en los cinco genotipos comerciales estudiados.

En tres departamentos de Colombia productores de este tubérculo, el grupo AG3 fue el principal agente causal de la rizoctoniasis, donde se encontró que 47 cepas de *R. solani* se identificaron con el grupo AG3 PT (Chavarro *et al.*, 2021). En el año 2012, Ferrucho y colaboradores igualmente encontraron que el grupo AG3 era el principal causante de costra negra en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Santander, Norte de Santander, Cauca y Nariño con un porcentaje del 88.54% (Ferrucho *et al.*, 2013).

Diferentes investigaciones en el cultivo de papa señalan que la distribución de los diferentes GA de *R. solani* pertenecen en su gran mayoría al grupo AG3, aunque también han estado presentes el grupo AG2-1, AG-4 y AG-5 (Yang *et al.*, 2017). El grupo AG2-1 se encontró en menor proporción alcanzando solo el 4% en dos genotipos de papa correspondientes a ICA única y Parda Suprema. Chavarro en su investigación encontró solo tres cepas con grupo AG2-1 (Chavarro *et al.*, 2021) y Ferrucho (2013) encontró dos cepas con grupo AG2 correspondiendo al 2.54%, presentes solo en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá.

Tabla 11.

Coordenadas de la colección de cepas de R. solani de siete municipios productores de papas comerciales de Nariño. Los códigos (SP) (R), (C), (U) y (S) pertenecen a los siguientes genotipos comerciales respectivamente Parda Suprema, Roja Huila, Diacol Capiro, ICA Única y Superior, las accesiones de las secuencias para establecer el porcentaje de similitud se tomaron del Genbank.

Municipio	Coordenadas	Altitud	Código	GA	Similitud	Secuencias
Pasto	N:1°16'53'' - W 77°33'12	2710	SP1	AG3 PT	99.84	KX631314.1

Pasto	N:1°16'53'' - W 77°33'13	2710	SP2	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Pasto	N:1°16'53'' - W 77°33'14	2710	SP3	AG2- 1	99.20	JX161870.1
Túquerres	N: 1°05'02" - W 77°33'58"	2843	SP4	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Túquerres	N: 1°05'02" - W 77°33'58"	3050	SP5	AG3 PT	99.60	KX631333.1
Túquerres	N: 1°05'02" - W 77°33'58"	2843	SP6	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Pasto	N:01°10'29.5" - W:77°19'49.7"	3100	SP7	AG3 PT	99.84	KX631314.1
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3164	SP8	AG3 PT	99.84	KX631332.1
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3167	SP9	AG3 PT	99.53	KF234144.1
Ipiales	N:0°53'25.6" - W:77°43'18.4"	3169	SP10	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3097	R1	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3104	R2	AG3 PT	100	KX631333.1
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2987	R3	AG3 PT	92.52	KX631333.1
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3106	R4	AG3 PT	100	KX631332.1
Sapuyes	N:01°02'31" - W:77°41'11.9"	3108	R5	AG3 PT	100	KX631333.1
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2988	R6	AG3 PT	99.68	KX631333.1
Pasto	N:01°05'47" - W:77°18'27"	2905	R7	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2991	R8	AG3 PT	100	KX631333.1
Pasto	N:01°04'49.7" - W:77°18'2.7"	2993	R9	AG3 PT	100	KP780834.1
Pasto	N:01°05'47" - W:77°18'27"	2913	R10	AG3 PT	99.19	KX631333.1
Túquerres	N:01°03'52.2" - W:77°35'18.5"	2922	C1	AG3 PT	99.84	KP780834.1
Túquerres	N:01°04'37"- 77°36'4.5"	2983	C2	AG3 PT	99.84	KX631332.1
Pasto	N:01°06'56.6" - W:77°19'39.1"	3182	C3	AG3 PT	99.52	KX631333.1

Pasto	N:01°05'14.7" - W:77°16'43.5"	3130	C4	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Ospina	N:01°02'46"- W:77°41.8"	3025	C5	AG3 PT	99.21	KX650633.1
Ospina	N:01°02'46"- W:77°41.8"	3027	C6	AG3 PT	99.51	KX631333.1
Ospina	N:01°01'11.9" - 77°34'09"	3093	C7	AG3 PT	99.37	JX050237.1
Ospina	N:01°02'39"- W:77°34'11.6"	2963	C8	AG3 PT	100	KX631333.1
Pasto	N:01°10'29.5" - W:77°19'49.7"	3173	C9	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Ospina	N:01°01'57.9"- W:77°34'42.8"	3067	C10	AG3 PT	99.52	KX650633.1
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3144	U1	AG3 PT	99.52	KX650633.1
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3025	U2	AG3 PT	99.52	KX631333.1
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3022	U3	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3026	U4	AG3 PT	99.87	KX631332.1
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2994	U5	AG3 PT	100	KX631333.1
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2995	U6	AG3 PT	96.06	KX650632.1
Pasto	N:01°10'34.2" - W:77°19'4.2"	3035	U7	AG3 PT	99.84	KX631333.1
Sapuyes	N:01°07'55.5" - W:77°36'20"	3477	U8	AG3 PT	99.68	KX631333.1
Ospina	N:01°01'41.1"- W:77°35'6.2"	3023	U9	AG2- 1	99.67	JX161894.1
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3144	U10	AG3 PT	99.52	KX650633.1
Tangua	N:01°4'6.3" - W:77°18'45.6"	2898	1S	AG3 PT	99.52	KX631333.1
Pasto	N:01°08'50" - W:77°17'01"	3094	2S	AG3 PT	99.68	JX161954.1
Pasto	N:01°08'50" - W:77°17'01"	3096	3S	AG3 PT	100	KX631333.1
Pupiales	N:00°52'49"- W:77°40'19.7"	3030	4S	AG3 PT	99.68	KJ777600.1
Tangua	N:01°4'6.3" - W:77°18'45.6"	2897	5S	AG3 PT	99.84	KX631333.1

Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3151	6S	AG3 PT	99.68	KX650633.1
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2994	7S	AG3 PT	99.52	KX631399.1
Sapuyes	N:01°01'19.31"- N:77°39'25.9"	2995	8S	AG3 PT	100	KF234140.1
Tangua	N:01°02'56.2" - W:77°19'01"	3152	9S	AG3 PT	100	KX631333.1
Sapuyes	N:01°07'55.5" - W:77°36'20"	3467	10S	AG3 PT	99.84	KX631333.1

Fuente. Este estudio

En la investigación realizada por Ferrucho y colaboradores (2012), en el departamento de Nariño, se encontró que los 40 aislamientos pertenecían al grupo AG3 obtenidos de cultivos de variedad Parda pastusa, pero el grupo AG2 no se encontró en las muestras evaluadas.

Los genotipos evaluados presentaron de acuerdo al dendograma (Figura 12) una alta variabilidad, ubicándose dos grupos grandes para el grupo AG3 y un grupo de dos cepas para el grupo AG2 sin presentar correlación con el origen geográfico de los aislamientos. Estefhani (2020), también encontró que los 30 aislamientos de *R. solani* grupo AG-3 de la provincia de Irán tenían una diversidad relativamente alta, donde estos se agruparon en tres grupos principales sin afinidad con los orígenes geográficos. De igual forma Chavarro et al., (2022) encontraron que los grupos anastomóticos no estaban vinculados a un origen geográfico sino al grupo al que pertenecían.

El diagnóstico preciso de hongos patógenos sirve para lograr métodos efectivos de manejo de enfermedades y propósitos de cuarentena para proteger cultivos agrícolas y otros recursos naturales (Stanis *et al.*, 2016). Una de las grandes alternativas que se viene realizando es la mejora genética de especies para el control de enfermedades (Turrini *et al.*, 2015) y para el control de *R. solani* se viene adelantando por Fernandez *et al.*, (2019) la modificación genética de seis líneas de papa frente a una cepa de *R. solani* altamente agresiva, que demostró un alto porcentaje en la disminución de la infección de este patógeno.

Por consiguiente, los resultados obtenidos en la presente investigación podrían ampliarse al identificar la patogenicidad de los grupos AG encontrados, mediante inoculaciones bajo condiciones de invernadero. Ello permitirá determinar la virulencia de los aislamientos y la posible resistencia o tolerancia en los genotipos evaluados.

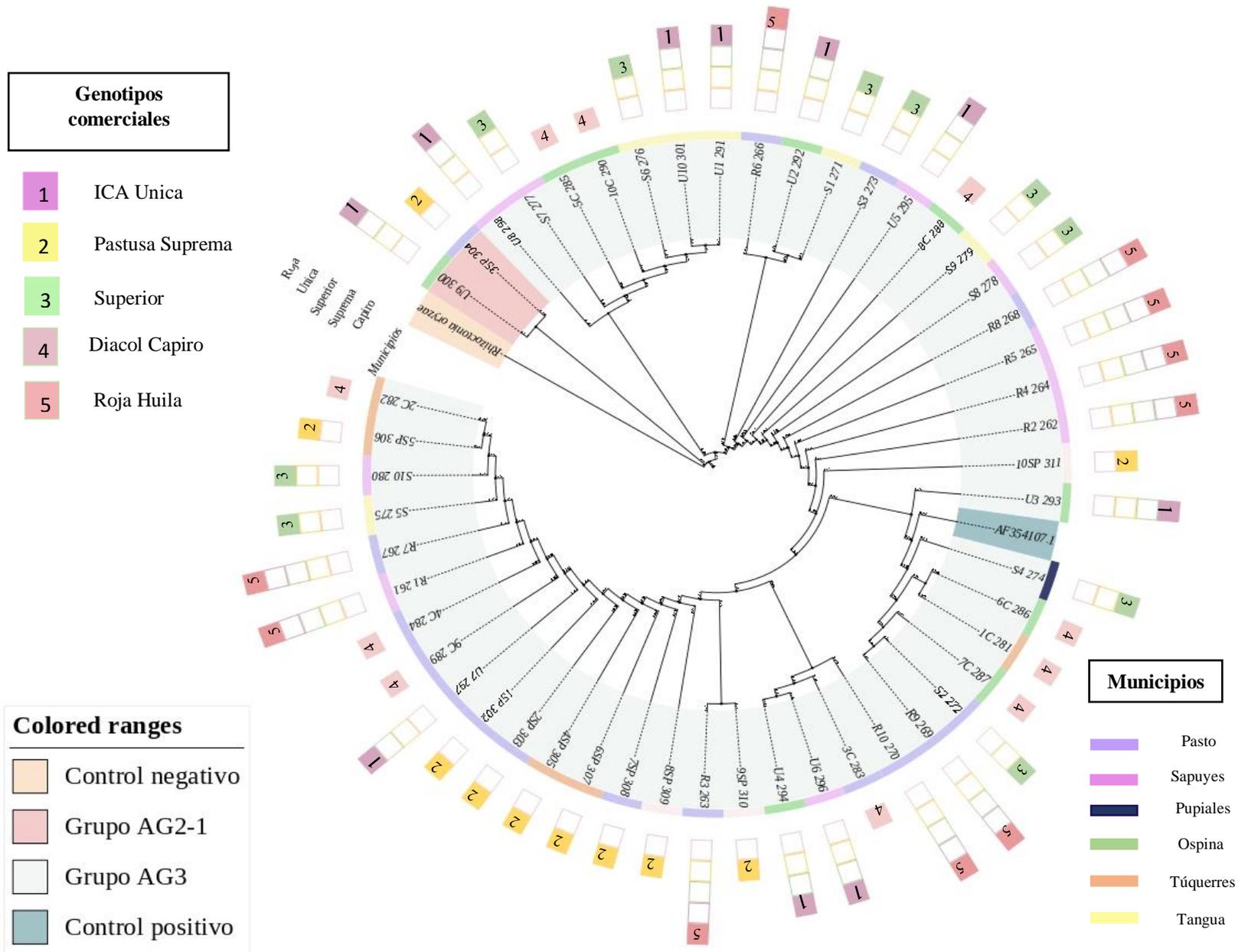


Figura 12. Árbol filogenético de *R. solani* de genotipos comerciales de papa del departamento de Nariño.

4.10 Caracterización biológica de *R. solani*

En la prueba microscópica de la interacción de anastomosis de las hifas de *R. solani* se identificó que las reacciones de los 50 aislamientos frente a una cepa de estudio identificada como grupo AG3 y AG2 fueron positivos. La frecuencia de interacción fue mayor del 85% lo que confirma la clasificación de los aislados por medio de sus secuencias de ITS rDNA (Tabla 12), donde el 96% de las cepas correspondieron al grupo AG3 y 4 % al grupo AG2. De igual forma Gondal y colaboradores en el año 2019 encontraron que más del 80 % de frecuencia de fusión de los aislamientos seleccionados pertenecieron al grupo AG3 identificados previamente por ITS.

En el ensayo somático macroscópico fue común la formación de penachos (Figura 13), esto es evidencia de incompatibilidad somática entre los aislados AG-3. Lo que se confirma por Ferrucho 2012 quien resalta que las pruebas macroscópicas demostraron que las reacciones C2 y C3 están altamente correlacionadas con las reacciones vegetativas macroscópicas "mechón" y "fusión" respectivamente (MacNish *et al.*, 1997). La reacción de muerte fue común en los aislamientos probados y fue evidente debido a la formación de una barrera entre las dos cepas enfrentadas, lo que indicaba incompatibilidad vegetativa entre aislamientos pertenecientes al mismo AG (MacNish *et al.*, 1997).



Figura 13. Fuerte reacción de mechón de enfrentamiento de *R. solani*.

Tabla 12.

Número de aislamientos pertenecientes a cada grupo de anastomosis de *Rhizoctonia solani* identificados mediante fusión de hifas.

Municipio	Parte afectada	Grupo AG3	Grupo AG2	Total
Pasto	Tubérculo	15	1	16
Túquerres	Tubérculo	5		5
Ipiiales	Tubérculo	3		3
Sapuyes	Tubérculo	10		10
Ospina	Tubérculo	8	1	9
Tangua	Tubérculo	6		6
Pupiales	Tubérculo	1		1

Fuente. Este estudio

La interacción de anastomosis es considerada un método para clasificar a *R. solani* en grupos, pero su reproductibilidad a gran escala es dispendiosa y su clasificación en subgrupos se ha considerado insatisfactoria (Fang *et al.*, 2013) es por lo cual en esta

investigación el uso de esta interacción fue una corroboración de la caracterización molecular mediante marcadores ITS.

Conclusiones

- De acuerdo a los resultados obtenidos, *R. solani* es una enfermedad que se encuentra atacando genotipos comerciales de papa en la zona sur del departamento de Nariño. En la evaluación de campo, Túquerres fue la zona que presentó el mayor porcentaje de incidencia en emergencia y brotación, incidencia en cosecha y rendimiento.
- La variable incidencia permitió identificar que el genotipo con mayores síntomas de deformación fue Roja Huila, alcanzando un valor de (17, 75 %), afectando en gran medida el mercado comercial de este tubérculo.
- El genotipo de mejor comportamiento frente al daño ocasionado por *R. solani* fue la variedad Superior, alcanzando el mayor rendimiento comercial (19.05 t ha⁻¹) con respecto a ICA Única (11.67 t ha⁻¹). Debido a su potencial frente al ataque de este fitopatógeno, este genotipo puede considerarse como una alternativa para garantizar mayor sanidad en el cultivo de la papa.
- El grupo AG3 es el grupo que se encuentra atacando los cinco genotipos comerciales en el departamento de Nariño y el grupo AG2 estuvo presente en genotipos ICA Única y Parda Suprema en municipios de Pasto y Ospina.

Recomendaciones

- Con estos resultados se puede realizar una investigación de patogenicidad en invernadero para evaluar el grado de afectación de los grupos anastomóticos en genotipos comerciales de papa e identificar el daño ocasionado por estos.
- Se recomendaría realizar pruebas de patogenicidad en invernadero para determinar la capacidad de daño de los grupos de anastomosis encontrados en genotipos comerciales de papa y el control frente a estos.
- Determinar con microsatélites los grupos de anastomosis encontrados en genotipos comerciales de papa en Nariño.

Bibliografía

- Acuña B., Ivette (2019) Enfermedades del cultivo de papa presentes en Magallanes [en línea]. Punta Arenas: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 396. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/6774> (Consultado: 4 diciembre 2022).
- Acuña, I., & Araya, M. (2017). Rizoctoniasis de la papa. Instituto de investigaciones agropecuarias - INIA.
- Acuña, I., & Tejada, P. (2018). Enfermedades causadas por hongos. Manual interactivo de la papa INIA-CHILE.
- ADR. (2018). Caracterización Multidimensional del Desarrollo Agropecuario y Rural con Enfoque Territorial. Bogotá.
- Agrios, G. (2007). Fitopatología. México. *Limusa*.
- Agro negocios. (2018). La papa es segunda en importancia como producto alimenticio con 2,8 millones de toneladas 2018. <https://www.agronegocios.co/agricultura/la-papa-es-segunda-en-importancia-como-producto-alimenticio-con-28-millones-de-toneladas-2764884>.
- Alghuthaymi M. A. (2018). Cultural, Anastomosis, and Universally Primed PCR Typing of *Rhizoctonia Solani* from Potato. *Biosci Biotech Res Asia*;15(1). <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2614>

- Arcos, Jesús & Zúñiga, Doris. (2015). Efecto de rizo bacterias en el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa. Lima. 95-101.
- Baldwin, B. *et al.* (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of Missouri Botanical Garden*. 82, 247-277.
- Banco de la Republica. (2019). Minutas de la reunión de la Junta Directiva. Consultado el 9 noviembre del 2021 URL <https://www.banrep.gov.co/es/minutas>.
- Bandoni, R.J. (1979). Safranin O as rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia* 71, 1979; 873-874.
- Beltran, C. Paris, A y Cotes, A. (2011). Control biológico de *Rhizoctonia solani* en papa. Laboratorio de Control Biológico Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB).
- Berdugo, C. A., Sikora, R. A., & Oerke, E. C. (2012). Evaluación de métodos de inoculación de *Rhizoctonia solani* en plantas de remolacha azucarera. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 4(2), 163–174. <https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i2.1238>
- Berdugo, J. (2018). Crop Science Colombia. Las cinco claves del éxito en el cultivo de papa. <https://www.cropscience.bayer.co/Centro-de-Noticias/Noticias/2018/07/Cinco-Claves-Papa.aspx>.
- Betancourth, C., Sañudo, B., Florez, C., Castro, B., Arteaga, F., Lagos, Luz., & Salazar, C. (2020). Vulneración del cultivo de papa ante problemas sanitarios emergentes en Nariño. *Universidad de Nariño*. 22, 6-7.

- Betancourth, C., Sañudo, B., Flórez, C. y Salazar, C. (2021). Manejo de la costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*) con el establecimiento de abonos verdes. *Información tecnológica*. 32(2), 165-174. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642022000100279>
- Betancourth-García, C. A., Castro-Caicedo, B. L., Quiroz-Ojeda, C., Sañudo-Sotelo, B., Florez-Casanova, C., & Salazar-González, C. (2021). Morphology and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn associated with potato black scurf in Nariño (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 15(1), e11821-e11821.
- Betancourth, Carlos A., Sañudo, Benjamín A., Flórez, Carlos A., & Salazar, Claudia E.. (2022). Efficacy of biofungicides on managing potato black scurf (*Rhizoctonia solani* Kühn) in Nariño, Colombia. *Información tecnológica*, 33(1), 279-288. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642022000100279>
- Boidin, J. Taxonomie moleculaire des Aphyllorphorales. *Mycotaxon* 1998; 66:445-491.
- Budge, G. E. et al. (2009). Molecular tools to investigate *Rhizoctonia solani* distribution in soil. *Plant Pathology*. 58, 1071–1080.
- Cachipundo, A. W., Gualoto R, M., Cuesta S, X (2020). Respuesta de UCE Premium y UCE Allipacha al ataque de *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* y *Pectobacterium* sp. *Revista Latinoamericana De La Papa*, 24(1), 16-33. <https://doi.org/10.37066/ralap.v24i1.387>

- Cao Chunmei; Wang Xiaojiao; Xu Fei; Lu Chunxing. (2019). Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* from Potato in Inner Mongolia.
- Carling, D. E. & Sumner, D. R. (1992). In *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi* (eds Singleton. L. L., Mihail, J. D. & Rush. C. M.). *American Phytopathological Society*, 157–165.
- Carling, D. E.; S. Kuninaga; K. A. Brainard. (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.
- Carling, M. (1996). Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction. *Rhizoctonia species Taxonomy Molecular Biology Ecology pathology and disease control*. Netherlands.
- Castro, I & Contreras, A. (2011). Manejo de plagas y enfermedades en el cultivo de papa. Chile.
- Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Araujo, Y., Pino, H., & García, R. (2001). Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn asociados con papa en Mérida, Venezuela. *Interciencia*, 26(7), 296-300.
- Centro Internacional de la Papa (CIP). (2017). Inventario de tecnologías e información para el cultivo de papa en Ecuador.

Centro Internacional de la Papa (CIP). (2019). Compendio de enfermedades de la papa. Lima Perú. *Pacific Press*, S.A.1980; 73-75.

Centro Internacional de la Papa (CIP). (2019). Potencial Nutricional de la papa. Recuperado de <https://cipotato.org/wp-content/uploads/2019/08/CIP-PANAMERICANOS-LIMA-2019.pdf>

Centro Internacional de la Papa. (2018). Mejoramiento genético de la papa: resiliencia climática y seguridad alimentaria Pueblo Tapao, Quindío-Colombia 2018. II Seminario Internacional de Papa XIX Congreso Nacional de Productores de papa.

Chavarro, E. (2012). Variabilidad genética y detección molecular de poblaciones del hongo *Rhizoctonia solani* en regiones colombianas productoras de papa. Universidad Nacional de Colombia. 11-12.

Chavarro, E., & Ángel, J. E. (2018). Caracterización molecular y análisis de la variabilidad genética de *R. solani*. *Agrosavia*.

Chavarro, E., Herrera, C., Beltrán, A., Cotes, J., y Díaz, E. (2021). Diversidad genética De *Rhizoctonia Solani* GA-3PT, Causa etiológica del chancro del tallo y la sarna de la papa en Colombia. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(3), e1888. https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num3_art:1888

Chunmei, C., Xiaojiao, W., Fei, X., & Chunxing, L. (2019). Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* from Potato in Inner Mongolia. *Plant Diseases and Pests*, 10(1), 18-23. <https://doi.org/10.19579/j.cnki.plant-d.p.2019.01.005>.

- Cortes J. & Hurtado. (2002). Efecto del acolchado plástico de diferentes colores en la fotosíntesis y rendimiento en el cultivo de papa.
- Cubeta, M. & Vilgalys, R. (1997). Population biology of *Rhizoctonia* fungi. *Phytopathology*. 87, 480-484.
- Das, S., Shah, F.A., Butler, R.C., Falloon, R.E., Stewart, A. and Pitman, A.R. (2013). Genetic variability and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf of potato in New Zealand. *Plant Pathol*.
- Desvani, S. D., Lestari, I. B., Wibowo, H. R., Supyani Poromarto, S. H., & Hadiwiyono. (2018). Morphological characteristics and virulence of *Rhizoctonia solani* isolates collected from some rice production areas in some districts of Central Java. *AIP Conference Proceedings* (2014, 1, 020068). *AIP Publishing, Melville*.
- Diz, Olga. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Volumen 3 (30). <https://orcid.org/0000-0002-5408-6263>
- Epifanio. (2017). Biocontrol de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* con bacterias endófitas en papa y su efecto en la inducción de resistencia y promoción de crecimiento.
- Escalona, Y., Rodríguez, D., & Hernández, A. (2012). Estudio de *Rhizoctonia solani* Kühn aislado de papa (*Solanum tuberosum* L.) en los estados Táchira, Mérida, Trujillo y Lara: II. virulencia y caracterización molecular. *Bioagro*, 24(1), 13-22.
- Fang X, Finnegan PM, Barbetti MJ (2013) Wide Variation in Virulence and Genetic Diversity of Binucleate *Rhizoctonia* Isolates Associated with Root Rot of Strawberry in

Western Australia. *PLoS ONE* 8(2): e55877.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055877>

FAO. (2014). de <http://www.fao.org/family-farming-2014/home/main-messages/es/>

FAO. (2020). Países productores de papa a nivel mundial.

Federación nacional de productores de papa (FEDEPAPA). (2015). Informe de gestión anual.

Fondo nacional del fomento de la papa. 2015. Consultado el 15 octubre del 2019
<https://fedepapa.com/wp-content/uploads/2017/01/INFORME-DE-GESTION-FNFP-ANUAL-2015.pdf>

Federación nacional de productores de papa (FEDEPAPA). (2018). La papa incluida en una dieta alimentaria. 2018. Consultado el 22 de abril del 2020 <https://fedepapa.com/wp-content/uploads/2017/01/REVISTA-47-COMPLETA.pdf>

FEDEPAPA. (2019b). Revista papa, órgano informativo de la Federación Colombiana de Productores de Papa. Edición No 49. ISSN: 0122-2686

Federación nacional de productores de papa (FEDEPAPA). (2020). Nuestros héroes del campo no paran frente al covid-19 2020. <https://fedepapa.com/wp-content/uploads/2020/04/REVISTA-50-completa-2.pdf>.

Fedepapa y FNFP. (2021). Informe de gestión vigencia 2021. <https://fedepapa.com/wp-content/uploads/2022/02/INFORME-DE-GESTION-SEMESTRE-A-2021.pdf>

- Fernandez, B.; Imasia, A.; Bazzini, R.; Colombo, E.; Hopp, C.; Vazquez, A.; (2019). The overexpression of antifungal genes enhances resistance to *Rhizoctonia solani* in transgenic potato plants without affecting arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Crop Protection*. Volume 124. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.05.031>
- Ferrucho, R. L. (2011). Construction of pathogenic, biologic and genetic bases of the Colombian populations of *Rhizoctonia solani* AG-3 necessary for the development of management strategies of stem canker and black scurf diseases of potato. Tesis de grado Universidad Nacional de Colombia.
- Ferrucho, R., Cifuentes, J., Ceresini, P., Garcia D, C. (2012). The population Genetic Structure of *Rhizoctonia solani* AG-3PT from potato in the Colombia Andes, *Phytopathology*. 103, 862-869.
- García, R., García, A., & Garnica, C. (2002). Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo papa en el Estado Mérida, Venezuela. *Revista Latinoamericana de la papa*, 13(1), 24-41.
- Giovannini, C., Andrade, N. J., Valenzuela, E., Castro, I., & de Vera, A. C. (2005). Caracterización morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L) provenientes de diferentes predios de la X Región de Chile. *Idesia*, 23(1), 13-18.

- Global Potato Market. (2019). Market opportunities and future trends: Research and markets. <https://www.prnewswire.com/news-releases/global-potato-market-2019-2024---market-opportunities-and-future-trends-300875258.html>.
- Gobernación de Nariño. (2019). Plan departamental de Extensión Agropecuaria del Departamento de Nariño. <https://www.minagricultura.gov.co/ministerio/direcciones/Documents/PDEA%27s%20Aprobados/PDEA%20Nari%C3%B1o.pdf>.
- Gómez López, E.D. Caracterización de cepas toxigénicas del género *Fusarium* mediante técnicas de biología molecular. Universidad Politécnica de Valencia. 2008.
- Gondal, A.S., Rauf, A. & Naz, F. (2019). Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* associated with tomato foot rot in Pothohar Region of Pakistan. *Sci Rep* **9**, 3910. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40043-5>
- González, V., Portal, M., y Rubio-Susan, V. (2006). Review. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Span. J. Agric. Res.* 4(1):55-79
- Griffith, G.; Shaw, D. (1998). Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four Mitochondrial Haplotypes Are Detected after PCR Amplification of DNA from Pure Cultures or from Host Lesions. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 4007– 4014.
- Gualoto Ramírez, M. A. (2019). *Evaluación de resistencia de genotipos de papa (Solanum tuberosum L.) a rhizoctoniasis (Rhizoctonia sp.) y pie negro (Pectobacterium*

spp.) (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19847>

Gush, S.; Muzhinj, N.; Truter, M.; Waals J. (2019). First report of *Rhizoctonia solani* AG 2-2IIIB causing elephant hide on potato tubers in South Africa. *Plant Disease* 103 (7): 1776. <https://doi.org/10.1094/pdis-10-18-1850-pdn>.

Harris S. (1997). Optimisation of the polymerase chain reaction. *Br J Biomed Sci.* 54(3), 16-6173.

Henson, Joan & French, Roy. (1993). The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, 81-109.

Herrera, M. (2019). Evaluación del fungicida químico glory 75 wg (Mancozeb + Azoxystrobin), en el manejo de costra negra del suelo (*Rhizoctonia solani*), en el cultivo de papa variedad Superior en dos regiones de Cundinamarca. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/1399>

INIA-Remehue. (2017). Enfermedades en el cultivo de papa. Evaluación de riesgo sanitario. Chile.

Inokuti, E. M., Reis, A., Ceresini, P.C. *et al.* (2019). Diversity and pathogenicity of anastomosis groups of *R. solani* associated with potato stem canker and clack scurf diseases in Brazil. *Eur J plant Pathol*, 153.

Instituto Colombiano Agropecuario. Manejo Fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* sbsp. *Andigena* y *S phureja*) medidas para la temporada invernal. 2011.

Instituto Colombiano Agropecuario. Manejo Fitosanitario del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* sbsp. *Andigena* y *S phureja*) medidas para la temporada invernal. 2011.

International Potato Center (CIP). Improved Potato Varieties Boost Food Security and livelihoods of millions in Asia. 2019.

Iradukunda, L., Wang, Y., Nkurikiyimfura, O., Wang, T., Yang, L., y Zhan, J. (2022). Establishment and Application of a Multiplex PCR Assay for the Rapid Detection of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group (AG)-3PT, the Pathogen Causing Potato Black Scurf and Stem Canker. *Pathogens*, 11, 627. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060627>

Kankam, F., Larbi, S. y Adomako, J. (2021). Rhizoctonia disease of potato: Epidemiology, toxin types and management. *Egyptian Journal of Phytopathology*. 49(1): 197-209. <https://10.21608/ejp.2021.72057.1028>.

Kumar S., Stecher G., Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* 33: 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.

Kumar, M., Singh, J.K., y otros dos autores. (2017). A Comprehensive Overview on Black Scurf of Potato. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6(10), 498-4994 <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.610.472>.

- Lees, A.K., Cullen, D.W., Sullivan, L., Nicolson, M.J. (2002). Development of conventional and quantitative real-time PCR assays for the detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-3 in potato and soil. *Plant Pathology*. 51, 293-302.
- Liu, Z. L.; Sinclair, J. B. y Chen, W. (1992). Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2. *Phytopathology*. 82, 778-787.
- MacNish, G. C., Carling, D. E., & Brainard, K.A. (1993). Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-8 from bare patches by pectic isozyme (Zymogram) and anastomosis techniques. *Phytopathology*. 83, 922-927.
- MacNish, G.C., Carling, D.E., Brainard, K.A. (1997). Relationship of microscopic vegetative reactions in *Rhizoctonia solani* and the occurrence of vegetatively compatible populations (VCP) in AG-8. *Mycological Research* 100, 61-68.
- Mantecón, J.D. (2015). Fungicidas aplicados al suelo como estrategia de manejo integrado de enfermedades en papa, bajo escenarios de elevada infestación inicial y residual. *Revista Latinoamericana de la Papa* 19 (1): 29-39
- Martinez, O. (2009). Técnicas estadísticas de experimentos para la investigación agropecuaria. *Produmedios*. 228 p.
- McCabe, P., Gallacher, M., y Deaco, J. (1999). Evidence for segregation of aomatic incompatibility during hyphal tip subculture of *Rhizoctonia solani* AG-4. *Mycology Research*, 103, 1323–1331.

- Merchan M, Torres M, Diaz A. (2017). Técnicas de biología molecular en el desarrollo de la investigación. *Rev haban Cienc Med.* 15(5): 796-807.
- Minagricultura. (2019). Estrategia de ordenamiento de la producción cadena productiva de la papa y su industria.
- Misawa, T., D. Kurose, N. Mori, and T. Toda. 2018. Characterization of Japanese *Rhizoctonia solani* AG-2-1 isolates using rDNA-ITS sequences, culture morphology, and growth temperature. *J. Gen. Plant Pathol.* 84, 387- 394. Doi: 10.1007/s10327-018-0808-1
- Mohamed E. Abdlla, A. M. Tohmy, I. A. Rashid, Noha E. Ahmed. (2018). Morphological and Molecular Characterization of Potato Black Scurf Disease (*Rhizoctonia solani*) in Egypt. *Plant Pathology Research Institute, Agriculture Research Center (ARC), Giza, Egypt.*
- Morales, R., García, M., Montejo, L., López, A., Calderón, R., Santo, O. & García, E. (2018). Evaluación de la integración de métodos para el control de la costra negra (*Rhizoctonia solani*) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L).
- Moussa, T., Al-Zahrani, H., Almaghrabi, O., Abdelmoneim, T., Fuller, M. Comparative metagenomics approaches to characterize the soil fungal communities of western coastal region, Saudi Arabia. 2017; 12(9):e0185096.
- Mullis KB and Faloona FA. (1987). Especific synthesis of DNA in vitro via polymerase cataysed chain reaction. *Meth. Enxymol.* 155: 355350.

- Muñoz M, Riegel R, Seemann P, Peñailillo P, Schiappacasse F, Núñez J. (2011). Relaciones filogenéticas de *Rhodolirium montanum* y especies afines, basadas en secuencias nucleotídicas de la región ITS y análisis cariotípico.
- Muzhinji, N., Truter, M., Woodhall, J. W., and van der Waals, J. E. (2015). Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* from potato in South Africa. *Plant Dis.*
- Nasr Esfahani, M. (2020). Genetic variability and virulence of some Iranian *Rhizoctonia solani* isolates associated with stem canker and black scurf of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Plant Protection Research*, 60(1), 21-30. <https://doi.org/10.24425/jppr.2020.132201>.
- Ñustez, C. (2011). Variedades Colombianas de papa. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía, 46 p.
- Parmeter, J. R. (1970). *Rhizoctonia Solani* Biology and Pathology. Berkeley. University of California Press. Berkeley, CA, USA.
- Prado, G. *et al.* (2001). Caracterización preliminar de la resistencia de germoplasma de arroz al añublo de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kuhn). *Foro arrocero latinoamericano* 7(1):8-11.
- Pozo, V. (2013). Evaluación de dos fungicidas para control de *Rhizoctonia solani* en papa (*Solanum tuberosum*). Carchi- Ecuador. Universidad Politécnica Estatal de del Carchi.

- Rajendraprasad, M., Vidyasagar, B., Uma, G., y Koteswar, R. (2017). In vitro evaluation of fungicides and biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* in tomato. *International Journal of Plant & Soil Science*, 17(5), 1–9. doi:10.9734/IJPSS/2017/35307
- Ritter, E., Ruiz, J., Barandalla, L., López, R., Huarte, M., Capezzio, S., Cuesta, X., Rivadeneira, J., Vilaró, F., Gabriel, J., Scurrah, M., Canto, R., Amoros, W., Forbes, A., Bonierbale, M. (2010). Papas nativas un cultivo con potencial de alto valor añadido para la agricultura sostenible. I Congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de Papas Nativas :13.
- Robalino, A. (2018). Identificación molecular de especies de estreptomicetos aislados de suelos paperos de las provincias de Carchi y Chimborazo. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Rodríguez, Luis. (2009). Origen y evolución de la papa. Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).
- Sanchez - Avedaño M, Velázquez - Espinoza J, López - Gutiérrez A, Gallegos - Flores A, Herrera - Rodríguez R. (2015). Secuencias nucleotídicas de la región ITS en familias S1 y PL de maíces poliembriónicos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.
- Santos A, Beltra C, Garcia M, Cortes A y Villamizar L. (2011). Control de *Rhizocotnia solani* en semilla de papa criolla con *T. Koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034).
- Shu, C., Zhao, M., Anderson, J., Garg, G., Singh, K., Zheng, W., Wang C., Yang, M., y Zhou E. (2019) Transcriptome analysis reveals molecular mechanisms of sclerotial

development in the rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* AG1-IA. *Funct Integr Genomic* 19:743–758 [https://doi: 10.1007/s10142-019-00677-0](https://doi.org/10.1007/s10142-019-00677-0).

Singh, P., Mazumdar, P., Harikrishna, J., y Babu, S. (2019) Sheath blight of rice: a review and identification of priorities for future research. *Planta* 250:1387–1407. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03246-8>.

Spooner DM, Mclean K, Ramsay G, Waugh R, Bryan GJ (2005). Single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *PNAS* 102:14694-14699.

Turrini, A., et al. (2015). *Belowground environmental effects of transgenic crops: a soil microbial perspective*. Res. Microbiol.

Tsrer, L. (2010). Biology, Epidemiology and Management of *Rhizoctonia solani* on Potato. *Phytopathol.*, 158(10), 649-658. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x>, J.

Van den Berg, R.G. y M.J. Jacobs. 2007. Capítulo 4: Molecular taxonomy. pp. 55-74. En: Vreugdenhil, D. (ed.). *Potato biology and biotechnology advances and perspectives*. Elsevier, Amsterdam.

Vilgalys, R.; M. Cubeta: Molecular Systematics and Population Biology of *Rhizoctonia*, *Annual Review of Phytopathology* 32:135-155, EE.UU., 1994.

White, T. J.; T. Bruns; S. Lee; J. W. Taylor. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, *PCR Protocols: A Guide to Methods and Application*, San Diego. *Academic Press*. 315-322.

Wilson, K. Preparation of genomic DNA from bacteria. Current protocols in molecular biology. 1987.

Woodhall, J., A. Lees, S. Edwards y P. Jenkinson. (2007). Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain. *Plant Pathology*. 56, 286-295.

Yang, S., Min, F., Wang, W. *et al.* (2017). Anastomosis Group and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Associated with Stem Canker and Black Scurf of Potato in Heilongjiang Province of China. *Am. J. Potato Res.* 94, 95–104. <https://doi.org/10.1007/s12230-016-9535-3>

Anexos

Anexo A. Preparación y siembra de ensayos de variedades comerciales de papa en el semestre B del 2020.



a

b



c

d

- a.** Siembra de papa en el municipio de Pasto
- b.** Siembra de papa en el municipio de Túquerres
- c.** Siembra de papa en Ipiales
- d.** Cultivo de papa en desarrollo

Anexo B. Evaluación de las variables en campo.



a



b



- a.** Incidencia en emergencia y brotación
- b.** Incidencia mediante la visualización del entorchamiento de hojas
- c.** Día de campo en Ipiales con los productores de papa.
- d.** Evaluación del rendimiento mediante el pesaje de los tubérculos