

Evaluación de la resistencia a la pudrición del cuello por *Sclerotium rolfsii* Sacc. en genotipos de garbanzo

Alina A. Martínez-Martínez¹

Mario M. González-Chavira²

Jorge A. Acosta-Gallegos²

Pedro Francisco Ortega-Murrieta³

Gustavo Fierros-Leyva³

Brenda Z. Guerrero-Aguilar^{2,5}

1 Departamento de Ingeniería Bioquímica-Instituto Tecnológico de Celaya. Avenida Tecnológico y Antonio García-Cubas S/N, Colonia Fovissste, Celaya, Guanajuato, México. CP. 38010.

2 Campo Experimental Bajío-INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende km 6.5, Celaya, Guanajuato, México. CP. 38110. (gonzalez.mario@inifap.gob.mx; acosta.jorge@inifap.gob.mx).

3 Campo Experimental Costa de Hermosillo-INIFAP. Pascual Encinas Núm. 21, Col. La Manga, Hermosillo, Sonora, México. CP. 83220.

Autora para correspondencia: guerrero.brenda@inifap.gob.mx.

Resumen

Se colectaron de plantas con síntomas de amarillamiento y marchitez en campos comerciales de garbanzo en cinco municipios del sur de Guanajuato, México. De ellas se aislaron e identificaron los patógenos presentes en tallo y raíz. De los aislados obtenidos, los que tenían características morfológicas de *Sclerotium rolfsii*, se confirmó su identidad por secuenciación de los fragmentos ITS obtenidos con los oligonucleótidos: NsiF y Nlb4R, las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos del NCBI. De los dos aislamientos identificados como *S. rolfsii* por ambas metodologías, se identificó el más virulento, el cual se utilizó para inocular 181 genotipos de garbanzo de los tipos, kabuli y desi. Los resultados indican de acuerdo con el porcentaje de mortandad, que los genotipos de tipo desi ICC3287, ICC 4874, ICC1882, ICC 10259 y WR-315 y de tipo kabuli CUGA 08-3160 presentaron resistencia moderada al patógeno. De estos genotipos resistentes, destaca el ICC 10259 que tiene resistencia genética a cuatro razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* y a *M. phaseolina*.

Palabras clave:

Anthelia rolfsii, *Cicer arietinum* L., tipo kabuli, tipo desi.



Introducción

La pudrición del cuello en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc., un patógeno habitante del suelo que tiene una amplia gama de huéspedes, alrededor de 500 especies (Chen *et al.*, 2011; Pande *et al.*, 2012), que causa podredumbres de raíz y cuello. La enfermedad es conocida con diferentes nombres como; pudrición basal de tallo y raíz, mal del esclerocio, añublo o tizón sureños. La importancia de esta enfermedad radica en que el patógeno puede atacar a la planta durante todo su ciclo de vida y sobrevivir en residuos de siembras anteriores (Red SICTA-IICA, 2008).

Los síntomas que causa son amarillamientos en las hojas inferiores, hundimientos, ablandamientos y decoloraciones de la corteza debajo de la línea del suelo, con el paso de los días avanza la enfermedad y se da el marchitamiento de hojas, ramas superiores hasta que la planta muere (Chitale *et al.*, 1990). La formación de esclerocios aparece generalmente en grandes cantidades, en la base de los tallos de las plantas, además que para el desarrollo de esta enfermedad se requiere temperaturas de 15 a 21 °C y alta humedad relativa (Chitale *et al.*, 1990).

Este hongo en condiciones favorables puede producir grandes cantidades de micelio en los tejidos infectados, además que se puede transmitir por la semilla y por lo tanto afecta su emergencia o la muerte de las plántulas sobrevivientes (Pande *et al.*, 2012). A menudo, estos síntomas son difíciles de distinguir a los causados por otros hongos fitopatógenos como *Fusarium solani* (Mart.) y *Rhizoctonia solani* (Kuhn.).

Las principales características de *S. rolfsii*, en el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) son el crecimiento rápido del micelio, que cubre los 9 cm de diámetro de la caja petri en 3 a 4 días, abundante micelo blanquesino y la formación de esclerocios como estructura de resistencia para la supervivencia. Las hifas son hialinas, septados muy ramificadas, de paredes celulares delgadas. Los esclerocios constituyen la principal fuente de inóculo en la mayoría de las epidemias, aunque en menor escala las basidiosporas pueden tener la misma función (Punja, 1985; Almeida *et al.*, 2001).

Este fitopatógeno tiene la capacidad de desarrollarse en un amplio rango de condiciones ambientales. En ambientes óptimos puede causar una mortandad de 55-95% de las plántulas de garbanzo, además, puede sobrevivir en forma de micelio en los restos de plantas y/o como estructuras escleróticas en suelo, provocando que perdure en los suelos infestados durante largos períodos de tiempo (Sharma y Ghosh, 2017).

El garbanzo es una leguminosa, que se cultiva en dos regiones de México principalmente, noroeste (Sonora, Sinaloa y Baja California) y en 'El Bajío' (Guanajuato, Michoacán y Jalisco). En la región del Bajío ubicada en el centro de México, la pudrición de las raíces es un importante estrés biótico en el cultivo, tanto para el tipo 'desi' (de color café y tamaño pequeño) como el 'kabuli' (de color blanco y tamaño grande).

En esta región, el primer reporte del género *Sclerotium* como patógeno del cultivo de garbanzo fue realizado por Huitrón y Campos (1966). A nivel mundial fue Ghosh *et al.* (2013), al realizar muestreos en el Centro y Sur de la India señalan la presencia de diversos patógenos causando marchitez y pudriciones de raíz en garbanzo, reportando que *Sclerotium rolfsii* estaba ampliamente distribuido en la región estudiada y fue considerado como un problema importante para la producción de este cultivo. Sin embargo, no se ha recopilado información suficiente sobre *S. rolfsii* en México en la región del Bajío y como controlarlo.

La pudrición del cuello causada por *S. rolfsii*, es una enfermedad prevalente y puede causar pérdidas considerables en la planta cuando la humedad del suelo es alta y las temperaturas son cálidas (30 °C) al momento de la siembra (Pande *et al.*, 2012). Hussain *et al.* (2006) estudiando el efecto de diferentes niveles de inóculo, la edad de las plántulas y el tipo de suelo sobre el desarrollo de la pudrición del cuello en el garbanzo, encontraron que *S. rolfsii* causó mayor mortandad de plántulas en los suelos de texturas con alto contenido de arcilla y señalaron que la susceptibilidad disminuía al aumentar la edad de la planta, siendo las plántulas más jóvenes las más susceptibles.

El patógeno se ve favorecido por la presencia de materia orgánica no descompuesta en la superficie del suelo y humedad excesiva al momento de la siembra y en la etapa de plántula, situación que puede ocurrir en el sistema de cultivo de humedad residual en la región del Bajío cuando el garbanzo es plantado en suelos arcillosos (Vertisoles) al final de la temporada de lluvias, después de un cultivo de corta duración como el frijol o la avena (Hussain *et al.*, 2006).

Dentro de las alternativas de manejo de la enfermedad, se ha considerado, el control químico y biológico como alternativas viables; sin embargo, existen reportes que mencionan que hay una gran variabilidad en el comportamiento del hongo, cuando se han hecho evaluaciones de productos químicos y antagonistas para el control de *S. rolfisii* (Bracho *et al.*, 1995; Hagan y Olive, 1999; Pérez-Moreno *et al.*, 2009; Guédez *et al.*, 2012; Martínez-Martínez *et al.*, 2020).

La mejor alternativa para controlar esta enfermedad en el garbanzo es el desarrollo de variedades resistentes; sin embargo, a nivel mundial existen pocas fuentes confiables de resistencia en el tipo kabuli y en el tipo desi (Gurha y Dubey, 1983; Tripathi, 2006; Pande *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2012; Amule *et al.*, 2014; Shirsole *et al.*, 2018; Sager y Kumar, 2021) y en México no se tienen detectadas fuentes de resistencia.

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la resistencia a *S. rolfisii* en un grupo de genotipos élite del programa de mejoramiento de garbanzo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), para identificar posibles fuentes de resistencia que puedan ser usadas como progenitores de nuevas variedades.

Materiales y métodos

Colectas de patógenos en campo

Durante la temporada otoño-invierno 2012-2013 se realizó una colecta en cinco campos comerciales de garbanzo tipo kabuli ubicados en municipios del sur de Guanajuato, incluidos Celaya (20.584242 latitud norte, 100.823528 longitud oeste), Salvatierra (20.305005 latitud norte, 100.847980 longitud oeste), Cuerámara (20.621625 latitud norte, 101.671082 longitud oeste), Valle de Santiago (20.417354 latitud norte, 101.101113 longitud oeste) y Pénjamo (20.438667 latitud norte, 101.665407 longitud oeste). Diez plantas por campo, con síntomas de marchitez y amarillamiento, se colectaron en bolsas plásticas y se transportaron en hielera, al laboratorio de fitopatología del Campo Experimental Bajío del INIFAP. Se mantuvieron a 4 °C hasta el aislamiento de patógenos.

Aislamiento y caracterización morfológica de patógenos

Para aislar los hongos de las plantas enfermas, se cortaron fragmentos de 3 mm de los tallos que mostraban el daño típico de la pudrición del cuello, se desinfectaron sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio al 5%, durante 1 min, se enjuagaron en agua destilada estéril durante 1 min y se secaron colocándolos en papel absorbente estéril. Se colocaron cinco fragmentos de cada planta colectada, distribuidos en la caja petri con el medio de cultivo PDA acidificado (ácido láctico 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ácido láctico al 85%), se incubaron a temperatura ambiente (22 a 25 °C) por un periodo de tres días.

Se registró la presencia de hongos fitopatógenos aislados que ocurrieron en las parcelas muestreadas, se seleccionó *S. rolfisii* y se realizó la purificación por medio de cultivos monobasidiospóricos, usando la metodología reportada por Punja y Grogan (1983). Se realizaron preparaciones permanentes a partir de las colonias purificadas y se observaron sus características morfológicas al microscopio (Leica modelo DME[®], Alemania). Los aislados se identificaron en función del color y la formación de esclerocios (Ainsworth, 1995; Kendrik y Carmichael, 1973; Pande *et al.*, 2012; Mahadevakumar *et al.*, 2016).

Determinación de la virulencia

Para determinar las diferencias en la virulencia entre los dos aislados de *S. rolf sii* identificados morfológicamente, se preparó inóculo de dos aislados, cultivando micelio durante diez días en cajas Petri con PDA. Posteriormente, bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones, se sembraron quince semillas de los genotipos de garbanzo tipo desi: ICC 1882, ICC 3287, ICC 4874, ICC 10926 y WR 315.

Se colocaron cinco semillas por repetición en macetas que contenían 6 kg de suelo inoculado con 20 fragmentos de 1 cm² de micelio y 164 ±16 esclerocios provenientes de cuatro cajas petri; el tratamiento control fue una maceta por genotipo con cinco semillas. Se regaron con agua purificada hasta capacidad de campo, manteniéndose este nivel de humedad durante los 25 días que duró el experimento, el porcentaje de mortandad se calculó cada tercer día y fue convertido a la escala de 1-5 publicada por el Indian Institute of Pulses Research (IIPR, 1999).

Caracterización molecular del patógeno

Con el fin de corroborar la identidad del aislado más virulento, se caracterizó molecularmente para esto, se le extrajo el ADN siguiendo el método de Doyle y Doyle (1990). Se amplificó mediante PCR la región de los espaciadores internos transcritos (ITS) de los genes ribosomales, usando los oligonucleótidos sentidos NsiF 5'GATTGAATGGCTTAGTGAGG3' y antisentido Nlb4R 3'GGATTCTCACCTCTATGAC5'.

La mezcla de reacción usada para la amplificación del ADN fue en un volumen de 25 µl de reacción: 3 µl de ADN molde (45 ng µl⁻¹), 2.5 mM de dNTPs, 25 mM MgCl₂, 5 µM de cada oligonucleótido y 1 U de Taq polimerasa (Palmerín *et al.*, 2011). Las condiciones para la reacción fueron seis minutos de desnaturalización inicial a 95 °C, seguidos de 35 ciclos con un programa de desnaturalización a 95 °C por 30 s, alineación a 60 °C por 30 s, extensión a 72 °C por 40 s y una extensión final a 72 °C por 7 min.

Se realizó la electroforesis de los fragmentos amplificados en geles de agarosa con 1.5% de tampón TBE 1X a un voltaje de 120 v, se tiñeron con GelRed[®] (Biotium Núm. de catálogo 41002) y se observaron con luz ultravioleta. El fragmento amplificado de 800 pb se cortó y purificó siguiendo el protocolo del paquete de purificación (QIAquick PCR Purification Kit, Núm. de catálogo 28104), el producto obtenido se ligo al vector pGem T-easy (pGEM[®]-T easy vector systems, promega No. de catálogo A1360), y se transformaron células competentes de *Escherichia coli* DH5α (Invitrogen[™] No. de catálogo 18265017).

La separación del ADN plasmídico se realizó por el método de lisis alcalina (Birnboim y Doly, 1979), para probar la presencia de la inserción se liberó el fragmento cortándolo con la enzima Eco R1. Se secuenciaron dos clones con el fragmento insertado y se comparó su secuencia con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Genotipos de garbanzo

Ciento ochenta y un genotipos de garbanzo del Programa de Mejoramiento de Garbanzo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) fueron evaluados por su reacción a *S. rolf sii*. En cuanto a su tipo, 147 fueron de tipo kabuli y 34 de tipo desi (Cuadro 1). Varios de estos genotipos fueron desarrollados por el propio Programa Mejoramiento en sus sedes de Bajío, Culiacán y Hermosillo y otros correspondieron a acepciones introducidas.



Cuadro 1. Respuesta a la inoculación con *S. rolfsii* a genotipos de garbanzo tipo kabul y desi.

Reacción	Por ciento de mortandad	Núm. de genotipos, tipo kabul	Núm. de genotipos, tipo desi
Resistente	< 10	0	0
Moderadamente resistente	10-20	1	5
Moderadamente susceptible	21-30	8	11
Susceptible	31-40	63	16
Altamente susceptible	> 40	75	2

El aislado que mostró mayor virulencia en el experimento previo se utilizó para inocular los genotipos de garbanzo. El inóculo se elaboró como se describió anteriormente. En el invernadero, se llenaron macetas de 6 kg de capacidad con tierra estéril, se regaron hasta la capacidad de campo con agua purificada y se inoculó cada maceta con 20 fragmentos de 1 cm² de micelio y 160 ±12 esclerocios obtenidos del cultivo del patógeno en cuatro cajas petri. Posteriormente, se sembró en cada maceta 15 semillas de cada uno de los 181 genotipos de garbanzo por duplicado.

Como tratamiento control se consideraron 15 plantas de cada genotipo sin inocular; todos los genotipos se sembraron bajo las mismas condiciones en invernadero. El experimento se estableció durante el mes de abril del 2015, bajo un diseño completamente al azar, en condiciones de luz natural y con temperaturas diurnas/nocturnas promedio de 28/17 ±3 °C. El conteo de plántulas emergidas y el cálculo del porcentaje de mortandad fue realizado cada tercer día después de la siembra, durante los 25 días que duró el experimento. El porcentaje de mortandad fue convertido a la escala de 1-5 publicada por el Indian Institute of Pulses Research (IIPR, 1999).

Resultados y discusión

Identificación de patógenos

En todos los campos muestreados hubo al menos un patógeno asociado a los síntomas de marchitez de las plantas de garbanzo. *Fusarium oxysporum* sp. *ciceris* fue el hongo presente en todos los municipios, mientras que *F. solani* y *R. solani* se encontraron en tres de los cinco sitios muestreados. El patógeno causante de la pudrición del cuello, *Sclerotium rolfsii*, solo se encontró en campos de los municipios de Valle de Santiago y Salvatierra, Guanajuato.

Esto concuerda con lo reportado por Fierros *et al.* (2019), en el estudio de la distribución de hongos asociados a pudriciones de raíz del garbanzo en el noroeste de México, señalan que *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani* son los patógenos más abundantes.

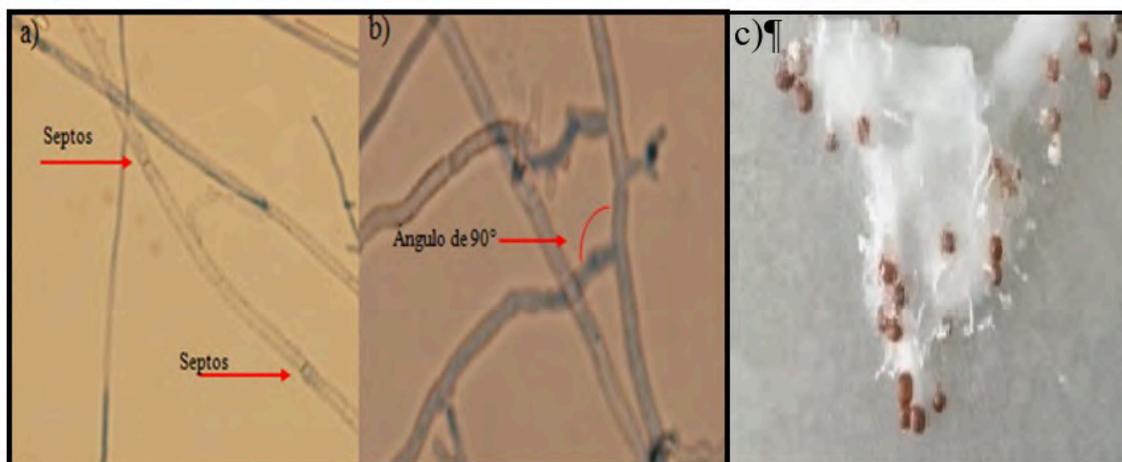
En un estudio similar realizado en el estado de Sinaloa, se detectó que el principal género fue *Fusarium* sp. (Ramírez *et al.*, 2012). Ghosh *et al.* (2013) concluyeron que *Sclerotium rolfsii* y *Macrophomina phaseolina* estaban ampliamente distribuidos en el Centro y Sur de la India causando marchitez y pudriciones de raíz en garbanzo. Asimismo, en un muestreo realizado en el sur de España, Trapero y Jiménez (1985) encontraron la presencia de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, *F. solani* y *M. phaseolina*.

Caracterización morfológica

Las características morfológicas observadas al microscopio de las cepas de *S. rolfsii* cultivadas en PDA fueron similares a las descritas por Stevens, (1925); Ainsworth *et al.* (1973); Kendrik *et al.* (1973). El hongo tuvo un crecimiento micelial rápido, de color blanco, algodonoso, septado e hialino y ramificado con fibulas. Cinco días después de la siembra en placa, comenzaron a desarrollarse esclerocios redondeados, inicialmente como pequeños granos blanquecinos y ocho días después

se volvieron marrones (Figura 1). Basandose en estas características, el hongo aislado se identificó como *S. rolfsii*.

Figura 1. Estructuras de *S. rolfsii*. a) hifas septadas; b) ángulo de ramificaciones del micelio; y c) formación de micelio y esclerocios en medio de cultivo PDA.



Caracterización molecular

La región de los espaciadores internos transcritos (ITS) de los genes ribosomales, de los hongos identificado morfológicamente como *Sclerotium rolfsii*, al ser amplificadas por PCR generaron un fragmento de 850 pb, que concuerda con el esperado para la especie. Las secuencias de bases nucleotídicas de estos fragmentos al compararse con la base de datos mostraron un 99% de similitud con la región ITS de *Athelia rolfsii* *S. rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbr (accesión KJ677121 del GenBank), teleomorfo de *S. rolfsii*. Este resultado está de acuerdo con el obtenido por la caracterización morfológica.

Determinación de la virulencia

Los dos aislados de *S. rolfsii* inoculados en cinco genotipos de garbanzo provocaron reacciones similares, aunque con diferencias entre genotipos y entre cepas. Se encontró que el aislado de *S. rolfsii* originario de Salvatierra fue más virulento que el de Valle de Santiago, por lo que se eligió para la inoculación de los 181 genotipos de garbanzo.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Kumari y Ghatak (2018) quienes al analizar aislados de *S. rolfsii* encuentran diferencias en su virulencia. Esta diferencia en virulencia era de esperarse, ya que se considera un hongo con una amplia diversidad genética a pesar de que su teleomorfo *A. rolfsii* no se ha encontrado en forma natural, aun que presenta grupos de compatibilidad micelial que limitan su intercambio genético (Harlton *et al.*, 1995; Nalim *et al.*, 1995; Flores-Moctezuma *et al.*, 2008).

Evaluación de genotipos

De los 181 genotipos de garbanzo inoculados con *S. rolfsii*, 77 no emergieron en el tratamiento inoculado, pero todos emergieron en las macetas de las plantas testigo, lo que indica que la semilla no estaba contaminada por otro patógeno que impidiera su germinación. Setenta y cinco genotipos no emergidos son de tipo kabuli y dos del tipo desi (Cuadro 1).

Se consideró que la falta de emergencia es por el daño a las semillas causada por la invasión subterránea de *S. rolfsii*, se observó que tanto el micelio como los esclerocios estaban creciendo sobre la superficie de las semillas impidiendo su germinación. Se tomaron diez muestras aleatorias del patógeno creciendo en las semillas dañadas bajo tierra y se comprobó morfológicamente la presencia de *S. rolfsii*. Además, se realizaron los postulados de Koch, confirmándose de nuevo que correspondían al patógeno. Estos genotipos fueron clasificados como altamente susceptibles.

De acuerdo con estos resultados, gran parte del daño causado por este patógeno pasa desapercibido para los agricultores ya que ocurre bajo tierra y podría atribuirse a la mala calidad de la semilla u otros factores. De los 104 genotipos inoculados que emergieron, la mayoría tuvo síntomas de pudrición del cuello causada por *S. rolfsii*.

En la mayoría de ellos, a los 15 días después de la siembra (DDS), las plántulas emergidas susceptibles mostraron una lesión inicial alargada de color marrón claro en el tallo, posteriormente pudrición y necrosis en la base del tallo y formación de esclerocios alrededor de la base y de la raíz principal, síntoma característico causado por *S. rolfsii* en garbanzos (Chen *et al.*, 2011; Pande *et al.*, 2012).

Según el porcentaje de mortandad, solo el genotipo Cuga 08-3160 de tipo kabuli fue moderadamente resistente con un promedio de 18% de mortandad, entre los genotipos destacados de tipo desi, sobresalieron: ICC 3287, ICC 4874, ICC 1882, ICC 10259 y WR-315 con el 20% de mortandad, por lo que fueron considerados moderadamente resistentes.

Estos resultados coinciden con lo encontrado por Singh *et al.* (2012) que reportan haber encontrado en cincuenta genotipos de garbanzo inoculados artificialmente con *Sclerotium rolfsii*, solo cuatro moderadamente resistentes: KG-1226, KG-8, B-321 y B-311. Tripathi (2006) obtuvo hallazgos similares, inoculó artificialmente 90 genotipos y encontró que no estaba completamente libre de la enfermedad; sin embargo, identificó tres líneas como moderadamente resistentes, PG 9414-7, BG-371 y H-00-256.

Otros estudios informaron de accesiones de germoplasma de garbanzo prometedoras como ICC 1696, ICC 4709 e ICC 14391, RSG 130, 132 y 191 (Chitale *et al.*, 1990), el cultivar SAKI 9516 (Dua *et al.*, 2001). Amule *et al.* (2014) reportan los cultivares GNG 1958 del tipo desi y GNG 1969, BG 2086 del tipo kabuli como resistentes.

En trabajos más recientes. Se ha reportado que los genotipos JG-13-14-16, KAK-2, CSJ-515 y PBG-5 son considerados resistentes con 0% de mortandad tanto en inoculaciones artificiales como en condiciones de campo (Sager y Kumar, 2021). Estos genotipos junto con los identificados en esta investigación brindan una oportunidad para piramidar diferentes fuentes de resistencia contra la pudrición del cuello (Choudhary *et al.*, 2013).

Es importante considerar que todos los genotipos reportados como resistentes deben ser desafiados con diferentes aislamientos del patógeno para verificar la estabilidad y utilidad de la resistencia para de esta manera poder identificar en los tipos desi y kabuli, posibles progenitores con posibilidades de usarse en esquemas de mejoramiento con el objetivo de generar nuevas variedades de garbanzo y poblaciones segregantes de amplia diversidad genética con resistencia a *Sclerotium rolfsii*.

En cuanto a los genotipos encontrados en este trabajo como moderadamente resistentes, sobresalen en los de tipo desi el genotipo ICC 10259 que, en estudios anteriores, había confirmado ser resistente a *Macrophomina phaseolina* y a cuatro razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Foc 0, Foc 1 B/C y Foc 6) existentes en la región del Bajío, específicamente en Guanajuato y a la raza Foc 5 presente en Sinaloa (Guerrero-Aguilar *et al.*, 2015).

En el caso del genotipo de tipo kabuli Cuga 08-3160, el cual es un material de semilla grande, es importante comenzar a usarlo como progenitor de nuevas variedades ya que la mayoría de los cultivares comerciales y líneas mejoradas de los programas de mejoramiento en México son susceptibles a la pudrición del cuello.

Como se observó en los resultados, la pudrición del cuello conduce a una baja sobrevivencia de plantas al afectar la germinación de semillas bajo tierra, un hecho que no es fácilmente observable por los agricultores, por lo que incorporar resistencia a esta enfermedad en nuevos cultivares debe ser un objetivo prioritario en los programas de mejoramiento.

Conclusiones

Sclerotium rolfsii, está presente y afectando el cultivo de garbanzo en el centro de México. El Programa de mejoramiento de garbanzo del INIFAP, no tienen genotipos resistentes y la gran mayoría son altamente susceptible o susceptibles a este patógeno. Se encontró que cinco genotipos del tipo desi: ICC 10259, ICC 3287, ICC 4874, WR-315 e ICC 1882, y una línea mejorada de semillas grandes de tipo kabuli, CUGA 08-3160 son moderadamente resistentes a *S. rolfsii*.

De estos genotipos resistentes, destaca el ICC 10259 que tiene resistencia genética a cuatro razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* y a *M. phaseolina*. Estos genotipos actualmente se encuentran resguardados por Programa de Mejoramiento de Garbanzo del Intituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en sus sedes de 'Bajío', Culiacan y Hermosillo.

Agradecimientos

Los resultados son parte del proyecto fiscal: Generación y validación de variedades de garbanzos blancos con resistencia a las enfermedades de las raíces (*Fusarium* spp.), con hábito de crecimiento de plantas semi-rectas y con grano para exportación Núm. SIGI 10371234370.

Bibliografía

- 1 Ainsworth, G. C. 1995. Ainsworth & bisby's dictionary of the fungi. 8th Ed. International mycological institute. CAB International. Univ. Press, Cambridge, United Kingdom. 650 p.
- 2 Almeida, A. M. R.; Abdelnoor, R. V.; Calvo, E. S.; Tessnman, D. and Yorinori, J. T. 2001. Genotypic diversity among brazilian isolates of *Sclerotium rolfsii*. *J. Phytopathol.* 149(9):493-502. Doi:10.1046/j.1439-0434.2001.00651.
- 3 Amule, R.; Gupta, O. and Mishra, M. 2014. Techniques for screening of chickpea genotypes against collar rot, its management through host plant resistance and fungicides. *Legume research.* 37(1):110-114. Doi: 10.5958/j.0976-0571.37.1.017.
- 4 Birnboim, H. C. and Doly, J. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7:1513-1523.
- 5 Bracho, F.; Ramírez, R.; Santos, R.; Villalobos, D. y Castro, R. 1995. Control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en tomate con fungicidas y humus. *Revista Forestal Venezolana.* 39(1):73-81.
- 6 Chen, W.; Sharma, H. C. and Muehlbauer, F. J. 2011. Compendium of chickpea and lentil diseases and pests. The American phytopathological society, Minnesota, USA. 165 p. Doi/ book/ 10.1094/9780890544990.
- 7 Chitale, K.; Tyagi, R. N. S., and Singh, R. D. 1990. Reaction of chickpea cultivars to collar rot disease induced by *Sclerotium rolfsii*. *Ind. J. Mycol. & Plant Pathol.* 20(3):262-263.
- 8 Choudhary, A. K.; Kuma, S.; Patil, B. S.; Bhat, J. S.; Sharm, M.; Kemal, S.; Ontagodi, T. P.; Datta, S.; Patil, P.; Chaturvedi, S. K.; Sultana, R.; Hedge, V. S.; Chouhdary, S. Kamannavar, P. Y. and Vijayakumar, A. G. 2013. Narrowing yield gaps through genetic improvement for fusarium wilt resistance in three pulse crops of the semi-arid SABRAO *Journal of Breeding and Genetics* .45(3):341-370. Doi:/book/ 10.1007/978-81-322-2401-3.
- 9 Dua, R. P.; Chaturvedi, S. K. and Sewak, S. 2001. Reference varieties of chickpea for IPR Regime. Indian Institute of pulses research, Kanpur, India. 34 pp.
- 10 Doyle, J. J. and Doyle J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12(1):13-15.

- 11 Fierros, L. G. A.; Acosta, G. J. A.; Ortega, M. P. F.; Padilla, V. I.; Álvarez, B. A.; Ramírez S. M. y Velarde, F. S. 2019. Distribución de hongos asociados a pudriciones de raíz del garbanzo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 10(1):131-142. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1730>.
- 12 Flores-Moctezuma, H. E.; Montes-Belmont, R.; Rogel-Hernández, M. A. y Martínez-Romero, M. E. 2008. Diversidad genética de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26(1):7-14. <https://eurekamag.com/research/030/982/030982794.php>.
- 13 Ghosh, R.; Sharma, M.; Telangre, R. and Pande, S. 2013. Occurrence and distribution of chickpea diseases in central and southern parts of India. *Amer. J. Plant Sces*. 4(4):940-944. Doi: 10.4236/ajps.2013.44116.
- 14 Guédez, C.; Cañizalez, L.; Castillo, C. y Olivar, R. 2012. Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 32(1):44-49 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199424929012>.
- 15 Guerrero-Aguilar, B. Z.; Acosta-Gallegos, J. A.; Sánchez-García, B. M.; Ortega-Murrieta, P. F. y González-Chavira, M. M. 2015. Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 38(2):182-190. Doi: 10.35196/rfm.2015.2.183.
- 16 Gurha, S. N. and Dubey, R. S. 1983. Occurrence of possible sources of resistance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Madras Agric. J.* 70(1):471-473.
- 17 Hagan, A. C. and Olive, J. W. 1999. Assessment of new fungicides for the control of southern blight on aucuba. *Journal of environmental horticulture*. 17(2):73-75.
- 18 Harlton, C. E.; Lévesque, C. A. and Punja, Z. K. 1995. Genetic diversity in *Sclerotium* (*Athelia*) *rolfsii* and related species. *Phytopathology*. 85(10):1269-1281. Doi: 10.1094/Phyto-85-1269.
- 19 Huitrón, M. M. E. y Campos, T. A. 1966. Prueba de resistencia de líneas de garbanzo a enfermedades de raíz. *Agrociencia*. 1(1):67-76.
- 20 Hussain, A.; Iqbal, S. M.; Ayub, N. and Zahid, M. A. 2006. Factors affecting development of collar rot disease in chickpea. *Pakistan J. Bot.* 38(1):211-216.
- 21 IIPR, 1999. Proceedings of technical programme for rabi workshop/groupment organization by Indian Institute of pulses research. 13 p.
- 22 Kendrik, W. B. and Carmichael, J. W. 1973. *Hyphomycetes*. Sussman, the fungi and advanced treatise. Academic Press New York. Vol. IV A, Ch.10.6.
- 23 Kumari, A. and Ghatak, A. 2018. Variability in chickpea rot-causing soil borne necrotrophs, *Sclerotium rolfsii* and *macrophomina phaseolina*. *Journal of agriSearch*. 5(4):247-253. <https://doi.org/10.21921/jas.5.4.6>
- 24 Mahadevakumar, S.; Yada, V.; Tejaswini, G. S. and Janardhana, G. R. 2016. Morphological and molecular characterization of *Sclerotium rolfsii* associated with fruit rot of *Cucurbita maxima*. *Eur. J. Plant Pathol.* 145(1):215-219. Doi 10.1007/s10658-015-0818-1.
- 25 Martínez-Martínez, T. O.; Guerrero-Aguilar, B. Z.; Pecina-Quintero, V.; González-Pérez, E. y Angeles-Núñez, J. G. 2020. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* . 11(5):1135-1147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2325>.
- 26 Nalim, F. A.; Starr, J. L.; Woodard, K. E.; Segner, S. and Keller, N. P. 1995. Mycelial compatibility groups in texas peanut field populations of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* . 85(12):1507-1512. Doi: 10.1094/PHYTO-85-1507.

- 27 Palmerín, C. D. M.; Guevara, O. L.; Villaseñor, O. F. y Pérez, P. C. 2011. Identificación de una levadura para producción de proteína unicelular para consumo humano y caracterización de los parámetros cinéticos a nivel de matraces agitados. *CIENCIA@UAQ*. 4(2):35-46.
- 28 Pande, S.; Sharma, M.; Nagavardhini, A. and Rameshwar, T. 2012. High throughput phenotyping of chickpea diseases: stepwise identification of host plant resistance. *Information Bulletin No. 92. International crops research institute for the semi arid tropics*. 35-39 pp.
- 29 Pérez-Moreno, L.; Villalpando-Mendiola, J. J.; Castañeda-Cabrera, C. y Ramírez-Malagón, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. *Revista Mexicana de Fitopatología* . 27(1):11-17.
- 30 Punja, Z. K. 1985. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23(1):97-127. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.000525>.
- 31 Punja, Z. K. and Grogan, R. G. 1983. Basidiocarp induction, nuclear condition, variability, and heterokaryon incompatibility in *Athelia (Sclerotium) rolfsii*. *Phytopathology* . 73:1273-1278.
- 32 Ramírez, S. M.; Álvarez, B. A.; Valenzuela, H. V.; Ortega, M. P. F.; Fierros, L. G. A. y Padilla. V. I. 2012. Detección de hongos asociados a la “rabia del garbanzo”, en la zona norte de sinaloa. *Memorias XV Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas; Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali*. 707-713. pp.
- 33 Red SICTA and IICA. 2008. Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central. Primera Edición. (A. Dr. Ferrufino, Ed.). Managua, Nicaragua. 8-9 pp.
- 34 Sager, S. R. and Kumar, S. 2021. Detection and evaluation of *Cicer arietinum* genotypes against collar rot under sick field and artificial condition. *Plant Cell biotechnology and molecular biology*. 22(29-30):123-133. <https://www.ikprress.org /index.php/PCBMB/article/view/6225>.
- 35 Sharma, M. and Ghosh, R. 2017. Heat and soil moisture stress differentially impact chickpea plant infection with fungal pathogens. In: *plant tolerance to individual and concurrent stresses*. Senthil kumar M. Ed. Springer press. New delhi. 47-57. pp.
- 36 Singh, S. P.; Agarwal, R. K. and Bhagawati, R. 2012. Screening of chickpea germplasm, date of sowing and integrated management of collar rot caused by *Sclerotium rolfsii* . *Annals of Plant Protection Sciences* 20(3):397-399.
- 37 Shirsole, S. S.; Khare, N.; Lakpale, N. and Kotasthane, A. S. 2018. Detection of resistant sources against collar rot of chickpea caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. Under field conditions. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(1):502-505. Doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.059>.
- 38 Stevens, F. L. 1925. *Plant disease fungi*. The Macmillan Company. New York, USA. 438-440 pp.
- 39 Trapero, C. A. and Jiménez, D. R. M. 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology* . 75(10):1146-115. <http://doi.org/10.1094/phyto-75-1146>.
- 40 Tripathi, B. P. 2006. Screening of chickpea genotypes for resistance of *Sclerotium* rot under artificially inoculated condition. *Ann. Agric. Res. New series*. 27(3):313-314.



Evaluación de la resistencia a la pudrición del cuello por *Sclerotium rolfsii* Sacc. en genotipos de garbanzo

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 February 2024
Date accepted: 01 May 2024
Publication date: 13 June 2024
Publication date: May-Jun 2024
Volume: 15
Issue: 4
Electronic Location Identifier: e3065
DOI: 10.29312/remexca.v15i4.3065
Award ID: SIGI 10371234370
Award ID: SIGI 10371234370

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Anthelia rolfsii
Cicer arietinum L.
tipo kabuli
tipo desi.

Counts

Figures: 1
Tables: 2
Equations: 0
References: 40
Pages: 0