

## **Diversidad de las poblaciones de *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina*, moho azul del tabaco en Cuba.**

**Berta Lina Muiño<sup>(1)</sup>, Yordanka Gonzalez<sup>(2)</sup> y Zeyda Rodríguez<sup>(1)</sup>**

**(1) Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Gaveta 634, 11300, Playa, Ciudad de la Habana. Cuba. E-mail: [bertam@inisav.cu](mailto:bertam@inisav.cu).**

**(2) Instituto de Investigaciones del Tabaco.**

### **RESUMEN**

Se determinó la sensibilidad de poblaciones de *P. hyoscyami* f.sp. *tabacina* de todas las regiones tabacaleras del país a los fungicidas sistémicos metalaxyl, iprovalicarb, dimetomorf y azoxystrobin mediante el método de discos de hojas flotantes (Muino, 1990).. Por otra parte se estudiaron otros indicadores de variabilidad, tales como periodo de latencia e incubación, capacidad infectiva y esporulativa y morfología de los esporangios en 13 aislamientos del hongo, procedentes de Pinar del Río (2), Matanzas (1), Cienfuegos (1), Holguín (1), La Habana (7) y Ciego de Avila (1), con relación a 8 variedades comerciales de tabaco, 2 sensibles y 6 con diferentes grados de resistencia a la enfermedad.

Se demostró una alta variabilidad de la sensibilidad en las poblaciones del hongo para el metalaxyl. Para el dimetomorf, azoxystrobin e iprovalicarb, se detectó reducción de la sensibilidad en algunos casos. El aislamiento de Cienfuegos resultó el más agresivo con los más bajos valores de periodo de latencia e incubación (4 y 5 días respectivamente) en la variedad Habana 2000, Corojo Tradicional y Criollo Tradicional, mientras que para el resto de las variedades estos valores fueron ligeramente más altos, así como menor capacidad esporulativa. El aislamiento de matanzas resultó el menos agresivo con los periodos de incubación y latencia más elevados (8 días) y menor capacidad esporulativa. El resto de los aislamientos mostraron periodos de incubación y latencia que oscilaron entre 6 y 7 días. Se detectaron deformaciones importantes en esporangios de los aislamientos de Cienfuegos, Ciego de Avila, La Habana y Pinar del Río, atípicos a las características de la especie.

## DESARROLLO

El tabaco constituye una de las fuentes más importantes de ingresos de divisas para la economía cubana. El moho azul causado por *Peronospora hyoscyami* de Bary f. sp. *tabacina* Adam es la enfermedad más importante que tiene el cultivo en el ámbito mundial. Su distribución abarca todos los continentes con excepción de la Antártida, así como un gran número de países de diferentes latitudes.

Las epidemias dependen de la densidad de inóculo, de los rayos solares reducidos, lluvias frecuentes, condiciones favorables de humedad y temperatura, fisiología del hospedante y dispersión de los conidios por el viento. La susceptibilidad se incrementa con el exceso de nitrógeno, temperaturas bajas durante la noche, períodos de neblina extendida y frecuentes lluvias. Este patrón general puede ser modificado por los microclimas relacionados a los diferentes sistemas del cultivo, variedades de tabaco y las prácticas de manejo. En muchos países el clima es favorable, por tanto las epidemias de moho azul ocurren todos los años (Piccirillo et al., 1995). Recientemente han ocurrido severas epidemias en plantaciones en EU donde la incidencia esencialmente había sido en semilleros. Se ha demostrado una gran tolerancia del hongo a las altas temperaturas (Moss y Main, 1988). En cuanto a cambios en la patogenicidad se plantea que en monitoreo realizado por CORESTA por más de 30 años, no se han observado cambios relevantes, sin embargo las variaciones en las epidemias fueron atribuidas a la expresión del gen del hospedante, al uso de fungicidas de sitios específicos y a condiciones ambientales (Delón et al., 1996).

En ensayos con marcadores moleculares para 3 tipos de isoenzimas, la variabilidad del hongo parece depender de la variedad del hospedante, es decir las isoenzimas producidas en el parásito a partir de su reproducción en *Nicotiana rústica* difieren de las producidas en *N. tabacco*, entre otros (Edreva et al., 1998).

Recientemente el moho azul ha sido descrito como una amenaza para el tabaco Connecticut en EU (LaMondia y Aylor, 1997)

Con el desarrollo de las técnicas moleculares se ha podido comprobar que secuencias repetitivas de DNA hacen posible la detección directa del hongo en

lesiones locales, en infecciones sistémicas vasculares y en otras partes de la planta de tabaco infectadas, en las cuales es difícil su reconocimiento (Wigleswoth et al. 1994<sup>a</sup>). La captura temprana de conidios arrastrados por el viento pueden ayudar a pronosticar la diseminación de epidemias así como a estudios epidemiológicos y etiológicos (Wigleswoth et al. 1994b).

Existe la probabilidad de una evolución genética y adaptabilidad del patógeno en las condiciones de los agroecosistemas de tabaco en Cuba, además de las implicaciones epidemiológicas del inoculo pandémico, aspecto que ha sido convenientemente señalado en Estados Unidos y Canadá (Main et al., 1997).

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue caracterizar fenotípicamente 13 aislamientos o poblaciones de *P. tabacina* procedentes de diferentes regiones tabacaleras de Cuba.

Se realizaron muestreos, de forma representativa, de hojas de tabaco con lesiones activas de moho azul. Cada muestra seleccionada representó un aislamiento del patógeno o población. Estos se reprodujeron y conservaron en condiciones de laboratorio mediante inoculaciones sucesivas a discos de hojas flotantes en agua destilada estéril en placas de Petri de 7 cm de diámetro. Se registró un historial completo del campo del cual se tomó cada muestra.

Mediante la utilización del test de discos flotantes (Muiño, 1990; Sozzi, 1992) se determinó para cada población muestreada los parámetros de adaptabilidad tales como período de incubación, período de latencia, capacidad esporulativa, capacidad infectiva, tamaño de la lesión, resistencia al metalaxyl y otros fungicidas sistémicos en diferentes variedades de tabaco comerciales sensibles y resistentes a la enfermedad.

Se trabajó con un total de 13 aislamientos del hongo, 5 de la campaña 2001/2002 y 8 de la 2002/2003. De la provincia La Habana proceden 7 aislamientos, 1 de Holguín, 1 de Matanzas, 1 de Cienfuegos, 2 de Pinar del Río y 1 de Ciego de Avila. Se evaluó la sensibilidad al metalaxyl, iprobalicarb, dimetomorf y azoxystrobin. De las cuales 12 son altamente resistentes al metalaxyl y 1 es sensible (aislamiento de referencia). Al resto de los fungicidas se demostró que todos son sensibles, con la excepción de 1 que presenta sensibilidad reducida al iprobalicarb, dimetomorf y azoxystrobín, procedente de la Provincia de la Habana.

En cuanto al resto de los indicadores de variabilidad fenotípica, tales como, capacidad esporulativa, capacidad infectiva, periodo de incubación y de latencia, hubo variabilidad en los aislamientos con respecto a las diferentes variedades de tabaco que fueron utilizadas sensibles y resistentes a la enfermedad: Corojo, Criollo, Corojo 99, Habana 2000, Habana 92, Habana VA, BH-13 y Criollo 98. Los resultados obtenidos indican que estos parámetros varían en función de la variedad, y entre las cepas probadas se observa alta capacidad infectiva y esporulativa para el caso de los aislamientos procedentes de Holguín, Cienfuegos, La Habana, Pinar del Río y Ciego de Avila, mientras que el aislamiento de Matanzas posee una menor capacidad esporulativa e infectiva respecto a los aislamientos anteriores. En cuanto al tamaño de los esporangios, se observó alta variabilidad en este parámetro. Es importante señalar la existencia frecuente de esporangios totalmente atípicos a la especie, en forma alargada y estrechamiento importante en su centro y/o en forma de segmentos ovalados, especialmente en los aislamientos procedentes de Cienfuegos (campaña 01/02) y La Habana, Pinar del Río y Ciego de Ávila (campaña 02/03). Este aspecto no se manifiesta en todas las generaciones de esa población. Lo cual puede sugerir la existencia de poblaciones del patógeno con diferente comportamiento. Se prevé el estudio de diferentes rangos de temperatura y humedad relativa como parámetros complementarios, así como un estudio de las características de los síntomas y posibles asociaciones con otros microorganismos.

## **CONCLUSIONES**

1. De forma general se manifiesta una alta diversidad de las poblaciones de *P. hyoscyami* f.sp. *tabacina* en cuanto a la sensibilidad a los fungicidas sistémicos, especialmente al metalaxyl.
2. Se comprobó que 5 de los aislamientos estudiados manifestaron mayor agresividad, dado por una reducción importante de los períodos de

incubación y latencia, mayor capacidad infectiva y esporulativa, incluso en variedades resistentes a la enfermedad.

3. La variabilidad fenotípica de los aislamientos se manifiesta en función de las características de las variedades de tabaco.
4. Se observó una alta incidencia de malformaciones en los esporangios de 9 aislamientos atípicas a las características morfológicas de la especie.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Delon, R.; Main, C. E.; Blancard, D. 1996. Collective CORESTA experiments: 30 years of study of tobacco blue mold. *Annales du Tabac*. Section 2, 28:13-20.
- Edreva, A.; Delon, R.; Coussirat, J.C. 1998. Variability of *Peronospora tabacina* A. - An isoenzyme study. *Beitrage zur Tabakforschung International*, 18(1):3-13.
- LaMondia, J.A.; Aylor, D.E. 1997. Blue mold disease returns to Connecticut to threaten \$70 million tobacco crop. *Frontiers of Plant Science*, 50(1):5-8.
- Main, C. E.; Davis, J. M. and Keever, T. 1997. Forecasting Transport of Spores and Spread of Tobacco Blue Mold. North Carolina State: Univ. Dep. of Plant Pathology and Marine, Earth and Atmospheric Sciences. Documento de INTERNET.
- Moss, M.A.; Main, C.E. 1988. The effect of temperature on sporulation and viability of isolates of *Peronospora tabacina* collected in the United States. *Phytopathology*, 78(1):110-114.
- Muiño, Berta Lina [et al.]. 1990. Comportamiento de la resistencia de *P. tabacina* al metalaxyl en las condiciones de Cuba. Ciencia y Técnica en la Agricultura. Protección de Plantas 13(2): 47-58.

- Piccirillo, P.; Porrone, F.; La Peruta, O. 1995. La peronospora sul tabacco è ancora un problema. L'Informatore Agrario, 20:87-90.
- Sozzi, D.; Schwinn, F..J. and Gisi, U. 1992. Determination of the sensitivity of *Phytophthora infestans* to phenylamides: a leaf disc method. Bulletin OEPP/EPPO 22: 306-308.
- Wiglesworth, M.; Nesmith, W.; Schardl, C.L.; Li, D.; Siegel, M.R. 1994. Use of repetitive sequences in *Peronospora tabacina* for the early detection of the tobacco blue mold pathogen. *Phytopathology*, 84:425-430.
- Wiglesworth, M.D.; Nesmith, W.C.; Siegel, M.R.; Bonde, M.R.; Main, C.E. 1994. Distinguishing isolates of *Peronospora tabacina* from geographic regions utilizing tobacco leaf disks and fluorescence microscopy. *Plant Disease*, 78(5):456-460; 21