

**DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DE INÓCULO DE
PHYTOPHTHORA NICOTIANAE BREDA DE HAAN EN EL CULTIVO
DEL TABACO DEL MUNICIPIO DE PEDRO BETANCOURT,
PROVINCIA DE MATANZAS.**

MSc. Lilia Maria Bon Sosa.¹ Dra. C. Verónica Toledo Sanpedro.²

*1. FUM “Jesús Herrera Rodríguez”. Calle 29 e /18 y 20l. Pedro
Betancourt. Matanzas. Cuba.*

*2 Instituto de Investigaciones del Tabaco. Carretera Tumbadero,
Km 8 ½ San Antonio de los Baños, Prov. Habana, Cuba,
MINAGRI, Grupo Empresarial TABACUBA.*

Resumen.

Este trabajo fue realizado en las áreas tabacaleras de Pedro Betancourt, provincia de Matanzas, con el objetivo de determinar la densidad de inóculo del hongo *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, agente causal de la enfermedad pata prieta del tabaco que provoca altas infecciones. En los 27 suelos monitoreados fue identificado el patógeno, lo cual demuestra la alta distribución del mismo en el municipio. El 75% de los suelos mostraron niveles de inóculo entre medio y alto, donde los mayores afectaciones de pata prieta se produjeron en los suelos donde las densidades de inóculo resultaron más altas. Establecer medidas fitosanitarias que disminuyan la densidad de inóculo nos permitirá disminuir la alta incidencia de la enfermedad pata prieta en dicha zona.

Palabras claves: Enfermedad; Densidad de inóculo; Tabaco.

Introducción

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), planta oriunda de América del Sur es un cultivo anual y se siembra en muchas partes del mundo. En Cuba, este cultivo requiere de una atención priorizada, no solo para lograr altos rendimientos, sino también para mantener la exquisita calidad y fama que lo distingue en el mundo, por más de 400 años y por representar una de las fuentes más importante de ingresos en divisas para el país (Espino, 1996). Es en la segunda mitad del siglo XVII que se inicia su cultivo con destino al comercio. Siendo desde los primeros tiempos un producto de gran demanda por su calidad. A principios del siglo XX, se inició la recuperación del tabaco negro original de Cuba, y posteriormente, en 1959, se inicia el programa de mejoramiento genético dirigido a la obtención de nuevas variedades cubanas de tabaco negro, cuyos criterios de selección comprendían el potencial de rendimiento, la calidad y la resistencia a las plagas.

Entre las principales mermas del tabaco se encuentra la pata prieta, cuyo agente causal es *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan. Este patógeno es reconocido como el más destructivo y extendido en todas las áreas tabacaleras del mundo. Puede atacar a casi toda la planta de tabaco, provocando la obstrucción de los haces conductores, lo que limita el ascenso de las sustancias nutritivas hacia el resto de la planta, afecta el crecimiento de la misma, la calidad de sus hojas y el rendimiento de la cosecha. En Cuba, la enfermedad pata prieta fue notificada por primera vez en 1905, en la región oriental, detectándose posteriormente en otras zonas tabacaleras (Fernández, 1998). La incidencia de la enfermedad ha aumentado significativamente desde la campaña 1982-1983, con registros inusuales en variedades que habían sido informadas como resistentes. En la campaña 2006-2007, el principal problema fitosanitario lo constituyó esta enfermedad con afectaciones del 45% del área total sembrada (CNSV, 2007).

Por estrategia de la dirección del país a finales de la década de los 90, del pasado siglo, se orienta la extensión a otras provincias del cultivo del tabaco. En Matanzas se empieza plantando dos tipos de tabaco al sol ensartado y tapado, a partir del 1998 solo el tapado. En las últimas campañas tabacaleras ha visto más del 70% de sus áreas afectadas por este patógeno y por consiguiente una notable disminución de los rendimientos, conocer la

densidad de inóculo de este patógeno en nuestros suelos nos brindara la información necesaria para establecer las medidas que nos permitan mitigar los daños.

Desarrollo.

Las especies de *Phytophthora* pueden sobrevivir en el suelo en forma de micelio, zoosporas, zoosporangios, quistes, clamidosporas y oosporas. Los propágulos más resistentes son las clamidosporas, que están adaptadas para la sobrevivencia por sus gruesas paredes y por su tolerancia al potencial mínimo de agua y las oosporas, que son esencialmente latentes (Tsao, 1983). La sobrevivencia de las clamidosporas en el suelo es, al parecer, similar a la de las zoosporas enquistadas y a la de las oosporas de *Phytophthora* y su función es mantener la población del patógeno bajo factores ambientales adversos (Weste, 1983).

La detección y el aislamiento de las especies de *Phytophthora* a partir de plantas enfermas y de suelo es difícil, sobre todo de aquellas de crecimiento más lento, que son limitadas por la microflora secundaria, antagonista y de desarrollo rápido; por esta razón, se han desarrollado técnicas especiales como el empleo de trampas o cebos y medios selectivos, que posibilitan este propósito (Tsao, 1983, citado por Fernández, 1998).

Los métodos de cebos se basan en la patogenicidad de las especies de *Phytophthora* sobre el tejido del hospedante susceptible que se utiliza como cebo para la pesquisa del patógeno y fueron desarrollados por Fernández (1998). Como cebos se han empleado semillas, plántulas, frutos, hojas y discos de hojas de un hospedante susceptible, que son fundamentalmente utilizados en tres métodos que comprenden: la inserción del suelo o del tejido enfermo dentro de frutos sanos; el establecimiento de semilleros en el suelo infestado con abundante humedad y la flotación o inmersión parcial del cebo en una suspensión de suelo infestado más agua. La selección y correcta utilización de los cebos, las condiciones de incubación, la calidad del agua y la proporción agua- suelo son los parámetros esenciales para el éxito de esta técnica (Erwin y Ribeiro, 1996).

Fernández et al. (1998) determinaron los parámetros más adecuados para la detección de *P. nicotianae* en los suelos tabacaleros mediante la técnica de cebo, utilizando discos de variedades de tabaco susceptible al patógeno. La misma técnica fue capaz de detectar el patógeno a niveles de inóculo muy bajos (0,2 - 1 propágulos/gramo de suelo) y demostró su eficacia y la proporcionalidad que existe entre la enfermedad y la densidad de inóculo inicialmente detectada en los suelos, antes de la siembra del cultivo (Fernández et al., 2002). Por los beneficios y ventajas que ofrece la técnica de cebo para la detección de los propágulos de *P. nicotianae*/gramo de suelo, ésta se ha convertido en una práctica habitual que la Empresa de Acopio y Beneficios del Tabaco “Lázaro Peña”, de La Habana, realiza anualmente para la selección racional de los suelos tabacaleros (Toledo, 2010).

Para la determinación de la densidad de inóculo de *P. nicotianae*, se empleó el Método de Cebo descrito por Fernández et al. (1998). Las muestras de suelo de cada uno de los campos se homogeneizaron individualmente y se procesaron para eliminar los restos vegetales y las partículas groseras (piedras, terrones, etc.). 100 g de cada una de las muestras de suelo se depositaron en recipientes de aluminio, a los cuales se les adicionaron

60 mL de agua para su prehumectación, después los frascos se sellaron para evitar la evaporación. Posteriormente se tomaron 10 g de suelo de cada muestra y se añadieron en un recipiente con 100 mL de agua destilada, agitándose fuertemente hasta su homogenización. Esta solución se consideró como solución madre para realizar las diluciones seriadas hasta la concentración de 1/1000. Para cada muestra a analizar, se utilizó una placa de cultivo de 26 orificios. Cada una de las diluciones se replicó en cinco orificios (2 mL), colocando como cebo un disco de hojas de plántulas de tabaco de 1,5 cm de diámetro.

Las placas de cultivo se incubaron por un periodo de cinco a seis días en un cuarto climatizado a $27^{\circ} \text{C} \pm 1$, con fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Las evaluaciones se realizaron con el auxilio del microscopio óptico, empleando un lente 40X y consistieron en la observación de cada una de las cinco hojitas colocadas por cada dilución efectuada. En todos los casos, se precisó el número de hojas infectadas, para determinar el número de propágulos/g de suelo de *P. nicotianae*, según la metodología antes mencionada.

En los 27 suelos utilizados para la determinación de la densidad de inóculo se observó la presencia del patógeno *P. nicotianae*, lo que demuestra su alta distribución en los suelos tabacaleros del municipio Pedro Betancourt. En todos los casos, las densidades de inóculo detectadas oscilaron entre 2 y 15 propágulos/gramo de suelo (tabla 1), lo que corrobora la incidencia de la enfermedad pata prieta, históricamente informada en las áreas tabacaleras del municipio. La estandarización de la técnica de cebo, desarrollada en Cuba por Fernández et al. (1998) y utilizada, demuestra nuevamente su efectividad para el recobrado y cuantificación del hongo en los suelos destinados al cultivo del tabaco.

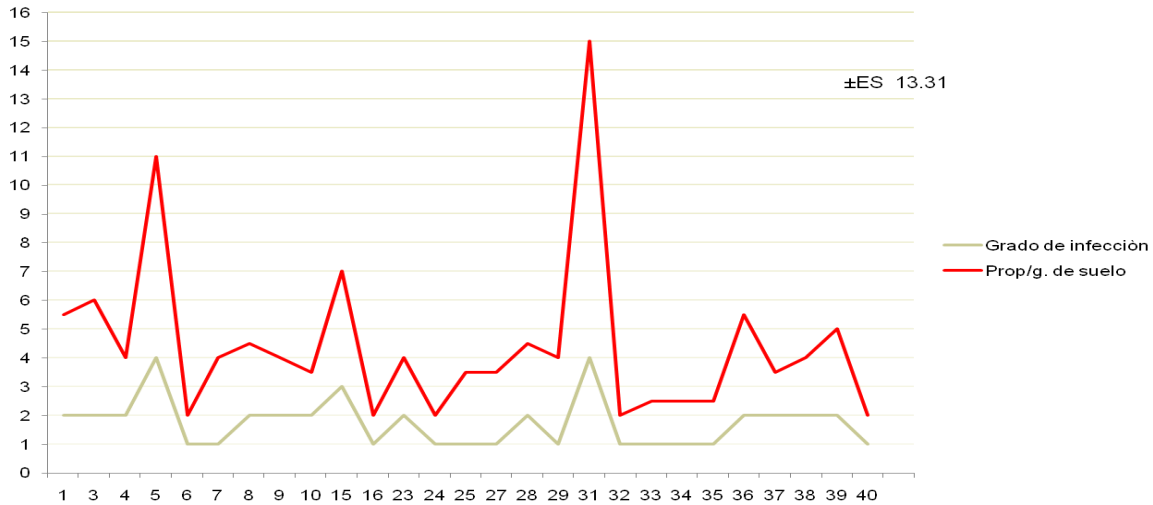
Tabla 1. Densidades de inóculo de *P. nicotianae* en los suelos tabacaleros de Pedro Betancourt.

Identificación	Productor	Densidad inóculo Propágulos/g de suelo
PB 1	Luís Romillo	5,5
PB 3	Kenia Zamora	6
PB 4	Rober Remis	4
PB 5	Yusdel Sarmiento	11
PB 6	Ariel Hernández	2
PB 7	Antonio Pauza	4
PB 8	Pablo Navarro	4,5
PB 9	Manuela Castellon	4
PB 10	Vladimir Pedroso	3,5
PB 15	Nicomedes Herrera	7

PB 16	Alejandro Cruz	2
PB 23	Ricardo Benítez	4
PB 24	Camilo Martínez	2
PB 25	Alain Prado	3,5
PB 27	Juan A. Noriega	3,5
PB 28	Maikel Herrera	4,5
PB 29	Antonio Robaina	4
PB 31	María C. Sardinas	15
PB 32	Carlos Pereira	2
PB 33	Jorge Guerra	2,5
PB 34	Roberto Yáñez	2,5
PB 35	Juan Luís Perdomo	2,5
PB 36	Idelkis Boi Casaña	5,5
PB 37	Orlando Ramos	3,5
PB 38	Roberto González	4
PB 39	Yoel González	5
PB 40	Sergio Triana	2

Los resultados obtenidos en las determinaciones de la densidad de inóculo y la intensidad de ataque del patógeno demuestran una relación directa entre ambos parámetros. En la figura 1, donde se muestran los resultados sobre la relación entre densidad de inóculo y porcentaje de plantas enfermas en los suelos tabacaleros de Pedro Betancourt, se aprecia que han existido mayores afectaciones de la enfermedad pata prieta en aquellos suelos donde las densidades de inóculo resultaron más altas.

Figura 1. Densidad de inóculo y porcentaje de plantas enfermas.



Leyenda: Infección expresado en grados: **Grado 1** = menos del 10% de plantas enfermas; **Grado 2** = 11 - 20% de plantas enfermas; **Grado 3** = 21 - 30% de plantas enfermas; **Grado 4** = más del 30% de plantas enfermas.

En investigaciones concernientes a diversos patógenos, diferentes autores han determinado la gran importancia que tiene la detección y cuantificación de éstos en los suelos antes de la siembra del cultivo, para permitir realizar una mejor selección de los campos, con menor riesgo de incidencia de las enfermedades provocadas por dichos patógenos, aspecto este corroborado por Camperota (1980) con las especies de *Pythium* y *Rhizoctonia solanii* respectivamente.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los informados por Fernández et al. (2002), quienes determinaron que existe una proporcionalidad directa entre las densidades de inóculo que se recobran en los suelos y el inicio de las epifitias provocadas por *P. nicotianae* en tabaco. Y coinciden además con Toledo (2006), quien informó que para que se inicien las epidemias de pata prieta sólo bastan densidades de inóculo superiores 2,5 propágulo/g de suelo.

Conclusiones:

En todos los suelos tabacaleros monitoreados de Pedro Betancourt (27) fue detectado el patógeno, lo que demuestra la alta distribución de *P. nicotianae* en estas áreas de cultivo. Este aspecto, conjuntamente con el gran número de propágulos recobrados en cada uno de los suelos, fundamenta la alta incidencia y las pérdidas que se producen en el tabaco por la enfermedad pata prieta. Los resultados obtenidos demuestran que sólo en el 28 % de los suelos se encuentran densidades de inóculo iguales o inferiores a 2,5 propágulos de *P. nicotianae*/g. de suelo, valor límite de densidad de inóculo que recomiendan el Instructivo Técnico del Tabaco y la Dirección de Sanidad Vegetal del cultivo para que un suelo sea seleccionado en próximas campañas Densidades de inóculo superiores a 2,5 propágulos/g. de suelo bastan para desencadenar significativas epifitias en los suelos tabacaleros

Bibliografía.

1. CAMPOROTA, P. Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol xv. Choix d'une plante piège et caractérisation des souches de *Rhizoctonia solani* pour la mesure du potentiel infectieux des sols et substrats. Ann. Phytopathol 1980. 12, p. 31-44.
2. CENTRO NACIONAL DE SANIDAD VEGETAL. Programa de defensa del cultivo del tabaco. Ministerio de la Agricultura. La Habana. 2007. p. 28.
3. ERWIN, D. C. Y RIBEIRO O. K. *Phytophthora* Diseases Worldwide, St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society. 1996. p. 568.
4. ESPINO, E. Cuban's Cigar Tobacco. T. F. H. Publication, Inc. 1996. p. 79.
5. FERNÁNDEZ, ANA. Biología, epidemiología, nocividad y control de *Phytophthora nicotianae* (*Phytophthora parasitica*) en tabaco. 100h. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Instituto de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, (Cuba). 1998.
6. FERNÁNDEZ, ANA; MUIÑO, BERTA LINA; TOLEDO, VERÓNICA; MARTÍNEZ, MARÍA L.; WONG, WENDY; ARÉVALO, RAQUEL; ARIOSA, MARÍA D. Y HERNÁNDEZ, ADRIANA. Estrategias de lucha para evitar epidemias provocadas por la enfermedad pata prieta del tabaco en Cuba. Fitosanidad 2002, vol.6 no.1, p. 36-37.
7. FERNÁNDEZ, ANA; TOLEDO, VERÓNICA Y REY, X. Determinación de parámetros óptimos para la detección de *Phytophthora nicotianae* en suelo mediante un método de cebo. Fitosanidad 1998, vol. 2 no.1-2, p.7-10.
8. TOLEDO, VERÓNICA. Comportamiento de variedades de tabaco negro cubanas frente a las razas 0 y 1 de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, CUBATABACO, 2006, vol. 7, no.1, p. 27-31.
9. TOLEDO, VERÓNICA. Determinación de densidad de inóculo de *P. nicotianae* en los suelos tabacaleros, herramienta alternativa para el manejo y selección de los mismos. Informe Interno Instituto de Investigaciones del Tabaco. 2010. p. 6.
10. TSAO, H. Factors affecting isolation and quantification of *Phytophthora* from soil. En: *Phytophthora : Its biology, taxonomy, ecology and pathology*/eds. P. H. Tsao; D. C. Erwin; S. Bartnick-García. St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society 1983. 392. p.
11. WESTE, G.. Populations dynamics and survival of *Phytophthora*. En: *Phytophthora: Its biology, taxonomy, ecology and pathology*/eds. G. Weste; D. C. Erwin; S. Bartnick-García; P. H. Tsao. St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society, 1983, p. 237-257.