

PERONOSPORA HYOSCYAMI F. SP. TABACINA. VARIABILIDAD MORFOLÓGICA EN ESPORANGIOS DE AISLADOS (II)

Berta Lina Muiño García¹ y Yordanka González Guardiola²

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, bertam@inisav.cu

² Instituto de Investigaciones del Tabaco. Carretera El Tumbadero Km 8½, San Antonio de los Baños, La Habana

RESUMEN

El moho azul causado por *Peronospora hyoscyami* f. sp. tabacina, constituye la enfermedad más devastadora para el tabaco en Cuba por las cuantiosas pérdidas que ocasiona anualmente al cultivo. La alta capacidad de adaptabilidad que tiene este hongo a las condiciones ambientales, y las fuertes epidemias provocadas en condiciones adversas al desarrollo de la enfermedad en Cuba, motivó el estudio del comportamiento de diferentes aislamientos del hongo, obtenidos de diversas regiones tabacaleras del país, a través de marcadores fenotípicos. Durante las campañas de tabaco 2002-2003 y 2003-2004 se realizó un estudio en condiciones de laboratorio para determinar la variabilidad de *P. hyoscyami* f. sp. tabacina en Cuba, se colectaron aislamientos de las regiones tabacaleras de las provincias de Pinar del Río, La Habana y Matanzas en la zona occidental de la isla, Cienfuegos y Ciego de Ávila en la región central, y Holguín en la oriental. Se realizaron mediciones de los esporangios y se detectó una marcada deformación, atípica a la especie, en los esporangios de los aislamientos procedentes de las provincias de Pinar del Río, La Habana, Cienfuegos y Ciego de Ávila.

Palabras claves: *Peronospora hyoscyami* f. sp. tabacina, variabilidad, esporangios

ABSTRACT

Tobacco Blue mold which is caused by *Peronospora hyoscyami* f. sp. tabacina is the most devastating tobacco crop disease in Cuba. This is expressed by the huge losses that it causes annually to this crop. The high adaptability to environmental conditions that shows this fungus, and the strong outbreaks caused by it even under adverse development conditions for the disease in Cuba, motivated behavioral studies of different isolates of this microorganism, which were obtained from several tobacco plantations located in different regions of the country. Phenotypical markers were used as a baseline for this study. A laboratory assay was conducted during the 2002-2003 and 2003-2004 seasons in order to determine the variability of *P. hyoscyami* f. sp. tabacina in Cuba. Isolates were collected from tobacco growing areas located in the provinces of Pinar del Río, La Habana and Matanzas in western region of the island, Cienfuegos and Ciego de Ávila in central region and Holguín in the eastern region. Sporangia were measured for all the isolates and marked deformities were registered. This deformity was significantly atypical in the isolates obtained from Pinar del Río, La Habana, Cienfuegos and Ciego de Ávila.

Key words: *Peronospora hyoscyami* f. sp. tabacina, variability, sporangia

INTRODUCCIÓN

En Cuba el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) tiene gran importancia no solo por su estrecha relación con la cultura e identidad del país, sino porque constituye una fuente de ingresos en divisas a partir del reconocimiento internacional de los puros habanos.

Peronospora hyoscyami f. sp. tabacina es el agente causal de la enfermedad del tabaco conocida como moho azul. La aparición de fuertes epidemias es provocada por el transporte de las estructuras infectivas a través del viento, que se trasladan de una región a otra. El hongo produce tanto esporangios como oosporas. Los esporangios son hialinos en forma de limón (15 x 25 µm) sostenidos en esporangióforos en forma de árbol, ramificados (bifurcados) dicotómicamente y terminan

en ápices agudos y encurvados. Los esporangios emergen a través de los estomas sobre el envés de las hojas, en un gran número, son frágiles, de vida corta, sensibles a la luz ultravioleta y cuando se liberan y exponen directamente a los rayos del sol mueren aproximadamente en una hora. Las oosporas de este hongo se producen en el mesófilo de las partes muertas de la planta infectada. Las oosporas maduras son usualmente de color marrón rojizo de 20-60 µm de diámetro [Main, 2002].

En el ciclo de vida de la enfermedad existen dos subciclos, uno donde intervienen las esporas producidas asexualmente y otro donde intervienen durante la fase sexual del hongo [Main y Spurr, 1990].

El primero de los ciclos comienza cuando el esporangio cae sobre la superficie de la hoja de tabaco y germina en una película de agua. El tubo germinativo penetra directamente y desarrolla hifas cenocíticas y haustorios dentro del tejido. Cuando son estimulados por humedad y temperatura los esporangióforos emergen a través de los estomas, los esporangios sostenidos en la estructura en forma de árbol se liberan y completan el ciclo asexual. Los esporangios germinan en un rango de temperatura de 2-30°C y el rango óptimo para la germinación oscila desde 14 hasta 21°C. Bajo condiciones favorables el ciclo asexual se completa en 5-10 días después de comenzar la infección [Fillers, 2004].

El ciclo sexual se inicia internamente en el tejido del mesófilo de la hoja y también dentro del tejido del tallo, se incrementan las estructuras gametangiales anteridio y oogonio y ocurren los procesos de meiosis, plasmogamia y cariogamia, lo cual da lugar a numerosos eventos que involucran cambios morfológicos, hasta finalmente obtener las oosporas [Shiltz, 1981]. La oospora es una estructura resistente de pared gruesa preparada para sobrevivir frente a condiciones adversas. Cuando se observan en el tejido aparecen en gran número, alrededor de cien o más por centímetro cuadrado. En condiciones idóneas el ciclo sexual se completa en 10-14 días [Main *et al.*, 1997].

A partir de la aparición de frecuentes epidemias de la enfermedad en la década de los noventa del pasado siglo, se hizo necesario iniciar un estudio profundo del comportamiento fenotípico de las poblaciones de *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina*, de acuerdo con la importancia que tiene el estudio de la variabilidad del hongo como punto decisivo en las estrategias de manejo de la enfermedad. El presente trabajo persigue como objetivo realizar estudios relacionados con la morfología de los esporangios de este hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante las campañas de tabaco 2001-2002 y 2002-2003 se realizaron muestreos en diferentes zonas tabacaleras del país, en las provincias de Pinar del Río, La Habana, Matanzas, Cienfuegos, Ciego de Ávila y Holguín, para obtener los diferentes aislamientos del hongo *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina*. Una vez que apareció el primer foco de moho azul en las campañas, se

colectaron al azar hojas de tabaco con lesiones de la enfermedad y esporulaciones activas del hongo por cada foco existente de manera representativa. Se colocaron envés con envés en una bolsa de nailon transparente, con papel de filtro previamente humedecido para mantener los niveles de humedad relativa, se selló e identificó su procedencia y se trasladaron al laboratorio del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

El tamaño de los esporangios se determinó a partir de mediciones a través del microscopio óptico con aumento 640X y regla micrométrica. Se tomaron mediciones del largo y ancho de 100 esporangios al azar en campos. Se calculó el promedio de tales mediciones y se tomaron los mayores y menores valores de largo y ancho de los esporangios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron trece aislamientos en las diferentes zonas tabacaleras muestreadas, en diferentes variedades de tabaco resistentes a la enfermedad (*Tabla 1*).

El mayor grupo de aislamientos (siete) perteneció a la provincia de La Habana, y dos procedieron de Pinar del Río, un aislamiento de Matanzas, uno de Cienfuegos, uno de Ciego de Ávila y un aislamiento de Holguín. Según la fecha de muestreo, un aislamiento (Holguín) corresponde a la campaña 2000-2001, el cual se tomó como referencia, cuatro aislamientos a la 2001-2002 y ocho a la campaña 2002-2003 (*Tabla 1*).

En el estudio de los parámetros fenotípicos de variabilidad entre los diferentes aislamientos se evidenció la presencia de deformaciones en los esporangios del hongo. Estas estructuras no presentaban la forma típica de los esporangios de *P. hyoscyami* f. sp. *tabacina* en forma de limón, sino que lo hicieron en forma alargada con invaginaciones que subdividían al esporangio y aparentaban la formación de uno nuevo.

Los estudios hasta la fecha no han puesto de manifiesto la existencia de estas deformaciones en los esporangios del hongo, por lo que resulta novedosa la presencia de este tipo de deformaciones, las que no solo se presentaron en los esporangios procedentes de Cienfuegos (*Fig. 1*), sino que también se evidenció su presencia en aislamientos procedentes de La Habana (*Fig. 2*).

Tabla 1. Procedencia de los aislamientos

Cepa no.	Procedencia	Fecha de aparición	Variedad
H 01	CCS Camilo Cienfuegos, Holguín	7/12/00	Habana 92
C 02	CCS Lázaro Peña, Cienfuegos	13/12/01	Habana 92
M02	CCS Pedro Betancourt, Matanzas	15/12/01	Criollo 98
LP 02	Empresa tabacalera Lázaro Peña, La Habana	6/12/01	Habana 92
S02	Instituto de Investigaciones del Tabaco, La Habana	8/12/01	Criollo 98
LP 0301	Empresa Lázaro Peña, UBPC La Reserva, La Habana	3/12/02	Criollo 98
LP0302	Empresa Lázaro Peña, UBPC La Reserva, La Habana	5/12/02	Habana 92
LP 0303	Empresa Lázaro Peña, Las Marías, La Habana	6/12/02	Criollo 98
LP 0304	Empresa Lázaro Peña, UBPC Ubaldo Díaz, La Habana	13/12/02	Criollo 98
LP 0305	Empresa Lázaro Peña, UBPC S. Pombill, La Habana	16/12/02	Criollo 98
PR0301	CCS Carlos Marx, Pinar del Río	30/12/02	Criollo 98
PR0302	CCS 26 de Julio, Pinar del Río	8/1/03	Criollo 98
CA0301	CCS A. Guiteras, Ciego de Ávila	12/2/03	Habana 92

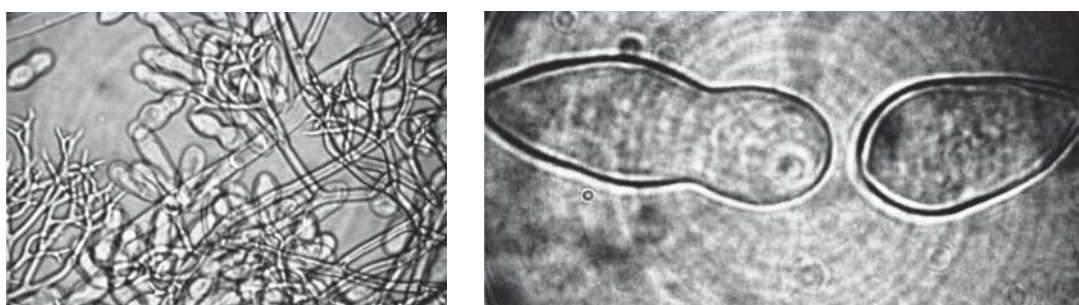


Figura 1. Morfología de los esporangios del aislamiento procedente de Cienfuegos.

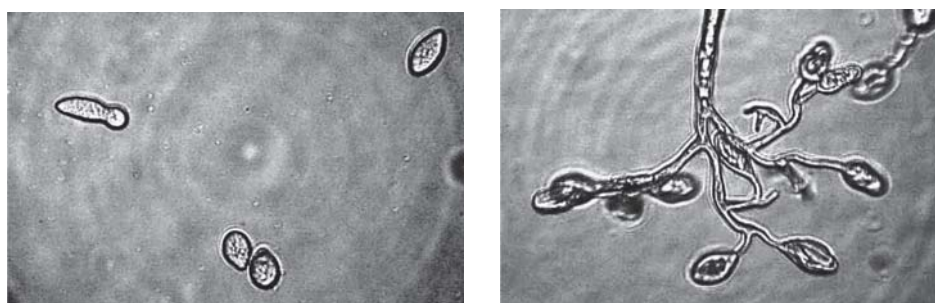


Figura 2. Morfología de los esporangios procedentes de La Habana.

El aislamiento procedente de Cienfuegos tuvo una elevada incidencia de esporangios deformados (Fig. 3); sin

embargo, los correspondientes a la campaña 2002-2003 mostraron deformaciones, pero con menor incidencia.

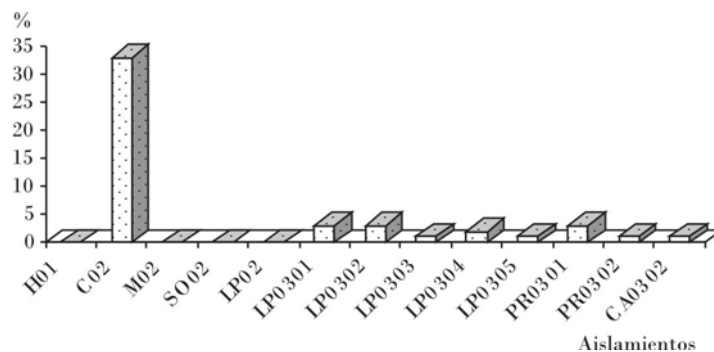


Figura 3. Incidencia de esporangios deformados.

En el laboratorio, con la realización de pases sucesivos del hongo para su ulterior conservación, se puso observar que este carácter siempre se mantenía, aunque con menor incidencia, lo que puso en evidencia que estas deformaciones se expresan en las diferentes generaciones.

Los valores de longitud de los esporangios llegan a alcanzar hasta 48 mm. En el caso del aislamiento de Cienfuegos, este valor supera los informados para *P. hyoscyami f. sp. tabacina* de 12-18 x 15-25 μm [Hall *et al.*, 1997]; sin embargo, los valores medios coinciden con los reportados por Main y Spurr (1990), que son de 15 x 25 μm (Tabla 2).

Tabla 2. Tamaño de los esporangios en aislamientos de *P. hyoscyami f. sp. tabacina*

Aislamiento	Tamaño de los esporangios. Media de 100 esporangios					
	Ancho (μm)			Largo (μm)		
	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo	Media
H 01	10	18,75	14,5	11,25	27,5	19,9
C02	10	18,75	14,5	11,25	48,75	22,95
M02	10	18,75	14,4	11,25	27,5	19,8
S02	10	18,75	14,3	11,25	27,5	19,7
LP02	10	18,75	14,5	11,25	27,5	19,8
LP0301	11,25	16,25	13,6	13,75	26,25	19,1
LP0202	8,75	17,5	14	10	30	21,5
LP0303	10	16,25	14	12,5	26,25	18,8
LP0304	10	18,75	14,2	15	26,25	19,6
LP0305	10	17,5	14,1	15	26,25	19,8
PR0301	8,75	18,75	14,1	15	30	20,5
PR0302	5	18,75	14,2	13,75	27,5	20,8
CA0301	11,25	17,5	14,1	12,5	25	20

Gómez estudió en 1983 las características morfológicas de aislamientos de *P. hyoscyami f. sp. tabacina* en tres provincias del país, y manifestó que existía identidad entre los aislamientos. Los datos correspondientes a las medidas de los esporangios y morfología coincidían

con lo reportado en la literatura internacional; no obstante, en la actualidad estos estudios demuestran la presencia de variabilidad en el tamaño de los esporangios en los diferentes aislamientos con la presencia de deformaciones.

CONCLUSIONES

- Se evidenció por primera vez la presencia de deformaciones en los esporangios de los aislamientos procedentes de Cienfuegos, Pinar del Río, Ciego de Ávila y La Habana, atípicos a la especie, con forma alargada e invaginaciones que subdividían al esporangio y aparentaban la formación de uno nuevo.

REFERENCIAS

- Fillers, E.: «Blue Mold in Tobacco», [http://www.cocke.xtn.net/local/profitablefarming2004/Page 11.pdf](http://www.cocke.xtn.net/local/profitablefarming2004/Page%2011.pdf) (consultado en marzo del 2004).
- Hall, G. S.; C. R. Lane; J. R. Mellor: «An Oospore-Forming Strain of *Peronospora Statices* on Cultivate Limonium in the UK, the Netherlands and Italy», *European Journal of the Plant Pathology*, 103 (5):471-475, 1997.
- Gómez, Guadalupe: «Características morfológicas de *Peronospora tabacina* Adam», *Ciencia y Técnica de la Agricultura. Protección de Plantas* 6(1):17-26, La Habana, 1983.
- Main, C. E.; H. W. Spurr: «Blue Mold Disease of Tobacco», *Proceeding of a Symposium Held at Raleigh, North Carolina February 14-17, 1988, 1990.*
- Main, C. E.: «The Blue Mold Disease of Tobacco. Technical Information», <http://www.ces.ncsu.edu/Dep./pp/bluemold/diagnosis/thebluem.htm>, 2002 (consultado en diciembre del 2004).
- Main, C. E.; J. M. Davis; T. Keever: «Forecasting Transport of Spores and Spread of Tobacco Blue Mold. Noth Carolina State Univ. Dep. Of Plant Pathology and Marine, Earth and Atmosferic Science», www.ces.ncsu.edu/depts/pp/bluemold/ (consultado en 1997).
- Shiltz, P.: «Downy Mildew of Tobacco», *The Downy Mildews*, Academic Press, Londres, 1981, pp. 557-559.