

DETECCIÓN Y PRÁCTICAS DE MANEJO DE LA ENFERMEDAD PATA PRIETA CAUSADA POR *PHYTOPHTHORA NICOTIANAE* EN EL CULTIVO DEL TABACO

Ana A Fernández Morales¹, María L Martínez², María Dolores Ariosa³, Verónica Toledo⁴

¹Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 # 514 entre 5ta B y 5ta F, Miramar Playa, Ciudad de la Habana, Cuba; ²Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Pinar del Río. Km 221/2, Carretera a San Juan, Vivero, San Juan y Martínez. Pinar del Río; ³Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Sancti Spiritus, Carretera del Jíbaro Km 2 ½, Sancti Spiritus, ⁴Instituto de Investigaciones del Tabaco, "La Sabana", Carretera del Tumbadero Km 1 1/2. San Antonio de los Baños, Habana. E-mail:afernandez@inisav.cu.

Resumen

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) es uno de los principales renglones económicos de Cuba. La segunda enfermedad de importancia es la pata prieta causada por *Phytophthora nicotianae* Breda de Hann. Desde 1985-1986 su incidencia fue en ascenso, y aunque se empleaban el bromuro de metilo y el metalaxyl el control era deficiente, por lo que se realizaron estudios, entre ellos la búsqueda de un método de detección y cuantificación del patógeno en suelo, así como alternativas de control como la selección de áreas, la rotación de cultivos y la aplicación del biocontrol *Trichoderma* al suelo. Para la cuantificación del patógeno en suelos se demostró que la modificación al medio selectivo descrito por Kannwischer y Mitchell (1978) fue eficaz para determinar el nivel de contaminación de los suelos de los campos, que fueron elevados en las plantaciones (3-39,5 propágulos/g de suelo), no así para los campos destinados para semilleros en que el patógeno no fue detectado en el suelo. Este método permite seleccionar para las siembras aquellos campos donde no se detecte el patógeno en suelo o en niveles de contaminación muy bajos, evitando el desarrollo de epidemias. Además se comprobó que las altas densidades de siembra favorecieron el desarrollo de la enfermedad, y que la selección de áreas y la rotación de cultivos por tres años, así como el empleo del biocontrol *Trichoderma* fueron efectivos para la disminución de las afectaciones por pata prieta en este cultivo.

Palabras claves: Hongos del suelo, *Phytophthora nicotianae*, detección, manejo, tabaco.

Summary

Detection and management practices of black shank disease caused by *Phytophthora nicotianae* in tobacco crops

Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) is one of the most important economic factors in Cuba. The second disease of importance is the black shank caused by *Phytophthora nicotianae* Breda de Hann. From 1985-1986 its incidence increased, although Metyl Bromide and Metalaxyl were used, the method control was deficient, that's why several studies were carried out, one of there was the search for a detection and quantification method of soil pathogens, and other control alternatives such as, area selection, crops rotation and the use of the *Trichoderma* biocontrol in soils. For the quantification of the pathogen in soils it was proved that the modification of the selective medium described by Kannwischer y Mitchell (1978) was efficient to determine the contamination level of the soils in the fields, thus they were high in the plantations (3-39,5 propagules/g of soil) and not in the fields used as seedbeds in which the pathogen was not detected in soils. This method allows us to select those fields for crops in which the pathogen was not detected in soils. This method allows us to select those fields for crops in which the pathogen is not detected in soil, or in which the contamination level is too low, thus avoiding the development of epidemics. Besides it was tested that the high density of sowing favored the development of the disease, and that area selection and crop rotation for 3 years, also the use of *Trichoderma* biocontrol were effective to diminish the damage of black shank in this crop.

Key words: Soilborne, *Phytophthora nicotianae*, detection, management, tobacco.

INTRODUCCIÓN

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) fue introducido en Cuba antes de 1492 y es en la segunda mitad del siglo XVII que se inicia su cultivo con destino al comercio. Este cultivo, representa una de las fuentes más importantes de entrada de divisas para nuestro país, por eso requiere una atención máxima durante todo el ciclo del cultivo, no sólo con el objetivo de obtener cosechas abundantes, sino de mantener la exquisita calidad y la fama que ha distinguido al tabaco cubano en el mundo por más de 400 años (Espino 1996).

La enfermedad pata prieta fue notificada en Cuba por primera vez en el año 1905 en la región oriental y posteriormente se detectó en otras zonas del país. Desde la campaña 1982-1983 su incremento fue en ascenso (259,47 ha afectadas) y provocó epidemias de consideración en la campaña de 1985- 1986, principalmente en las regiones de Pinar del Río y La Habana con una afectación de 1918,09 ha (CNSV 1995).

Durante varios años para el control de la enfermedad se utilizó la eliminación de plantas enfermas, la demolición de áreas afectadas y los fungicidas de contacto. En 1980 se introdujo el uso del metalaxyl, pero en un tiempo breve se detectaron cepas resistentes del patógeno en las principales regiones tabacaleras del país, que unido a la siembra continua de tabaco en los campos tradicionales, motivó el incremento del inóculo en el suelo y afectaciones de consideración en el cultivo (Fernández 1998).

El incremento de las afectaciones en el cultivo, el control deficiente de la enfermedad y la poca información disponible de este patógeno en Cuba, indicó la necesidad de abordar investigaciones sobre varios aspectos del patógeno y de la enfermedad (Fernández 1998), entre ellos estudiar un método cuantitativo para determinar el nivel de contaminación de los suelos y la efectividad de algunas alternativas de control de esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estandarización de una técnica de medio selectivo para el aislamiento del patógeno en el suelo y comprobación de su efectividad en campos de producción de tabaco

Para la detección del patógeno en suelo, se utilizó el método y medio selectivo de Kannwischer y Mitchell (1978) y se verificó la influencia de algunos de sus componentes sobre el crecimiento del patógeno, así como se comparó el medio original con una modificación en la que se disminuyeron las concentraciones de pimaricina a 5 mg y de hymexazol a 25 mg. Las variantes estudiadas se relacionan a continuación:

Variantes

1. Agar de harina de maíz (testigo)
2. Agar de harina de maíz + pimaricina 10 ppm

3. Agar de harina de maíz + pimaricina 5 ppm
4. Agar de harina de maíz + rifampicina 10 ppm + ampicilina 250 ppm
5. Agar de harina de maíz + PCNB 100 ppm
6. Agar de harina de maíz + pimaricina 5 ppm + rifampicina 10 ppm + ampicilina 250 ppm + PCNB 100 ppm + hymexazol 25 ppm. (P_5 ARPH $_{25}$) (Medio modificado)
7. Agar de harina de maíz + pimaricina 10 ppm + rifampicina 10 ppm + ampicilina 250 ppm + PCNB 100 ppm + hymexazol 50 ppm. (P_{10} ARPH $_{50}$) (Medio original)
8. Agar de harina de maíz + hymexazol 25 ppm
9. Agar de harina de maíz + hymexazol 50 ppm.

Para cada variante, se preparó agar harina de maíz) y se le adicionó cada uno de los componentes. Se tomaron discos de agar con micelio (de 5 mm de diámetro), de colonias del hongo crecidas sobre agar avena y se colocó un disco en el centro de cada placa Petri, se incubaron a 27° C y se midió el diámetro de las colonias durante 7 días. A los resultados de las variantes investigadas se les realizaron análisis de varianza simple.

En la campaña 1993-1994, en campos de la empresa "Lázaro Peña", se comprobó la eficacia del medio selectivo modificado (P_5 ARPH $_{25}$) para la cuantificación del patógeno en suelo y se determinó la relación entre la densidad de inóculo inicial detectada antes de la siembra y la incidencia posterior de la enfermedad en el cultivo. El muestreo de suelo, se realizó antes del establecimiento del cultivo y las muestras fueron llevadas al laboratorio y procesadas con su humedad inicial o se humedecieron por 48 horas si el suelo estaba seco (Fernández 1998). Se determinó la afectación por pata prieta en base a su diferenciación en ataque ligero (0-2%), moderado (>2-5 %) y severo (>5- 10 %) del área afectada en semillero.

Efecto de la densidad de plantas en semilleros, la selección de áreas y la rotación de cultivo sobre el desarrollo de la enfermedad pata prieta del tabaco

El experimento de densidad de siembra, se realizó en un suelo Ferralítico Cuarácico Amarillo Lixiviado de San Juan y Martínez (Pinar del Río), durante la campaña de 1987-1988. Se estableció un diseño Cuadrado Latino con parcelas de 3 m² y se probaron densidades de siembra de 3, 4, 6 y 8 gramos de semilla/canteros de 18 m² de la variedad de tabaco Criollo. Cada parcela se inoculó en el momento de la siembra con 300 ml. de una suspensión de 2,5 x 10⁶ clamidosporas/ml. Se realizaron las labores culturales previstas para el cultivo (CUBA 1983) y se iniciaron las observaciones a partir de los 15 días de retirado el cobertor de los canteros. Todas las plantas fueron evaluadas y se examinaron sus raíces y tallos para detectar los síntomas típicos de la enfermedad, así como se contabilizó el total de plantas sanas y enfermas de cada parcela. Se realizó un análisis de varianza simple.

Durante la campaña 1987-1988 en Pinar del Río en condiciones de producción, se establecieron los semilleros de tabaco en suelos Ferralítico Cuarcítico Amarillo Lixiviado, en campos que en años anteriores estuvieron sembrados con pastos o eran áreas de barbecho, así como en campos que siempre habían sido utilizados para el cultivo del tabaco. En este sentido se valoró la influencia de estos métodos de cultivo en la presencia de la enfermedad en dichas áreas.

En la empresa "Hermanos Saíz" (Pinar del Río), se efectuó la rotación de cultivo por 3 años (desde 1990-1991 hasta 1993-1994) en 8 campos de tabaco con antecedentes de pata prieta, que se sembraron con los cultivos de maíz (*Zea mays* L.), cebolla (*Allium cepa* L.), ajo (*Allium sativum* L.), habichuela (*Vigna* sp), yuca (*Manihot esculenta* C), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), col (*Brassica oleracea* L.) y malanga (*Xanthosoma saggitifolium* S.) en diferentes rotaciones durante todo el período referido. En otros 2 campos se realizó el cultivo continuo de tabaco. En la campaña 1993-1994, se determinó la incidencia de pata prieta en los campos sometidos o no a la rotación de cultivo, y se comparó con la incidencia de la enfermedad antes del establecimiento de las rotaciones de cultivo. La distribución de la enfermedad se determinó por el método de Townsend y Heuberger (1943).

Efectividad de *Trichoderma harzianum* según el nivel de infestación de *P. nicotianae* en el suelo

En condiciones de producción se valoró la eficacia del biopreparado de *Trichoderma spp* sobre *P. nicotianae* en un total de 9 semilleros de tabaco, 5 en la provincia de Pinar del Río (cepa PR-617), 2 en Sancti Spiritus y 2 en Ciego de Avila (cepa A-53) con diferentes niveles de infección en suelo (0- 13.5 propágulos/ g de suelo). Antes del establecimiento del semillero, se determinó la densidad de inóculo del patógeno. Con posterioridad se aplicó al suelo el biopreparado de *Trichoderma spp* en el momento de la siembra y al retirar el cobertor a la dosis de 40l/ha. (CNSV 1995). Durante el ciclo del cultivo se determinó la presencia de pata prieta en los semilleros y se determinó la afectación en base a su diferenciación en ataque ligero, moderado y severo, según la afectación observada en el campo.

RESULTADOS

Estandarización de una técnica de medio selectivo para el aislamiento del patógeno en suelo y comprobación de su efectividad en campos de producción de tabaco

De los componentes del medio selectivo de Kannwischer y Mitchell (1978), se determinó que la pimarcina a 5 y 10 mg/l, la rifampicina a 10 mg/l y la ampicilina a 250 mg/l no afectaron el crecimiento micelial del hongo, pero el PCNB (100 mg.) y el hymezaxol (25 y 50 mg.) redujeron ligeramente el crecimiento micelial.

Además se comprobó que el medio selectivo modificado P₅ARPCH₂₅ + agar harina de maíz, en que se disminuyeron las concentraciones de pimarcina a 5 mg y del hymezazol a 25 mg, afectó menos el crecimiento micelial que el medio original y además se logró un ahorro de estos productos (Tabla 1).

Tabla 1. Evaluación del medio selectivo de Kannwischer y Mitchell (1978) para el aislamiento de *P. nicotianae* del suelo.

Variantes	Crecimiento micelial (mm)
Agar Harina de Maíz (AHM)	13.97 a
AHM + P ₁₀	13.63 a
AHM + P ₅	13.46 a
AHM + RA	12.96 a
AHM + PCNB	12.62 a
AHM + P ₅ ARPCH ₂₅	10.73 b
AHM + H ₂₅	10.54 b
AHM + P ₁₀ ARPC H ₅₀	9.57 b c
AHM + H ₅₀	9.18 c

E(X):0.12

P: Pimarcina; R:Rifampicina; A: Ampicilina; H: Hymezazol; Pc: PCNB: Medeclorex 5, 10, 25 y 50: mg de producto.

Según los resultados obtenidos, para el aislamiento y cuantificación del patógeno, se seleccionó la variante del medio selectivo en la cual se emplearon las concentraciones más bajas de pimarcina e hymezazol (P₅ARPCH₂₅) y quedó conformado de la forma siguiente:

- Pimarcina 5 mg/l; Ampicilina 250 mg/l; Rifampicina 10 mg/l; PCNB 100 mg/l;- Hymezazol 25 mg/l; Agar 20 g/l y Harina de maíz 17 g/l.

Se comprobó la efectividad del método de medio selectivo modificado (P₅ARPCH₂₅) en campos de producción destinados a la siembra de tabaco. En los campos destinados para semillero (5) no se detectó el patógeno, mientras que en los ubicados como plantaciones se observaron densidades de inóculo elevadas entre 3-65 propágulos/g de suelo. Se constató una relación entre la densidad de inóculo en el suelo antes de la siembra y la incidencia posterior de la enfermedad en los campos, observándose que la incidencia fue nula o muy baja (0,05-0,75 %), en campos donde no se detectó el patógeno; mientras que en los campos con elevados niveles de contaminación se observaron afectaciones severas (15-50 % de incidencia (Tabla 2). Estos resultados indican la necesidad de emplear campos para la siembra (sobretudo semilleros) en sitios donde no se detecte el patógeno antes de la siembra para evitar la incidencia elevada de la enfermedad con riesgos de epidemias.

Efecto de la densidad de plantas en semilleros, la selección de áreas y la rotación de cultivo sobre el desarrollo de la enfermedad pata prieta del tabaco.

La mayor incidencia de la enfermedad (31.04 y 44.56 %), se observó en las densidades altas de siembra (6-8 g de semilla), mientras que en las más bajas (3-4 g de

Tabla 2. Detección de *P. nicotianae* en suelo e incidencia de pata prieta en semilleros y plantaciones de tabaco de la Empresa "Lázaro Peña". Campaña 1993-1994.

Semillero o campo	Propágulos/gramo de suelo	Incidencia (%)	Afectación por la enfermedad
N. Empresa	0.0	0	No
1 ^{er} Partido	0.0	0	No
D. Grande	0.0	0.75	Ligero
Ma. Teresa	0.0	0.58	Ligero
F. País	0.0	0.05	Ligero
103	0.0	0	No
88	3	15	Severa
107	24.5	41.2	Severa
72	34	50	Severa
63	39.5	45.4	Severa
48	65	75.6	Severa

Tabla 3. Efecto de la densidad de siembra en el desarrollo de la enfermedad pata prieta del tabaco.

Densidad de siembra (gr)/cantero de m ²	Distribución (%)	Intensidad (%)
3	10.98 a	9.52 a
4	17.22 a	10.4 a
6	31.04 b	26.96 b
8	44.56 b	39.18 c

ES= 0.12 ES= 0.07

Tabla 4. Efectividad de la selección de áreas para el establecimiento de semilleros de tabaco en la disminución de la incidencia de la pata prieta. Pinar del Río, 1987-1988.

Empresas Tabacaleras	Semilleros	Cultivo precedente	Presencia de la enfermedad	
			Si	No
A. Briones Montoto	Ajiconal 2	Desmonte		X
	P. del enano	Desmonte		X
Santiago Rodríguez	Turbera	Pastos		X
	Carbonera	Pastos		X
P. Lumumba	Buena Aroma	Tabaco	x	
	La Soledad	Tabaco	x	
	L. Troche	Barbecho		X
San Juan	Caliente	Tabaco	x	
	R. P. Bulgaria	Tabaco	x	

Tabla 5. Efectividad de la rotación de cultivo en la reducción de la incidencia de pata prieta en campos de tabaco de la empresa Tabacalera "Hermanos Saíz" de Pinar del Río.

Granja	UBPC	Vega	Campo	Cultivos sembrados en las áreas de rotación						Incidencia de la enfermedad de la Pata Prieta (%)	
				Fecha de siembra						(1989-90)	(1993-94)
				1990	1990-91	1991	1991-92	1992	1992-93		
		26	257	Maíz	Frijol	Maíz	Cebolla	Maíz	Frijol	35.17	2.2
		27	256B	Maíz	Frijol	Maíz	Ajo	Maíz	Yuca	37.18	1.5
			255	Maíz	Frijol	Maíz	Cebolla	Maíz	Frijol	37.21	0.0
			252	Habichuela	Maíz	Yuca	-	-	Col	35.23	0.35
			233A	Habichuela	Maíz	Habichuela	Ajo	Maíz	Yuca	31.24	0.0
			234A	Maíz	Ajo	Maíz	Ajo	Habichuela	Cebolla	54.25	1.1
		31	231	Malanga	-	Maíz	Ajo	Habichuela	-	57.26	1.6
			232	Malanga	-	Maíz	Ajo	Habichuela	Cebolla	12.0	0.0
2	8	95	163	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	4.2	20.0
2	8	95	145	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	Tabaco	1.0	6.0

Tabla 6. Efectividad de *Trichoderma* spp según el nivel de infestación de *P. nicotianae* en suelo de semilleros de tabaco. Campañas 1994-1995 y 1995-1996.

Provincia	Semilleros	Densidad de inóculo (Propágulos/g de suelo)	Afectación pata prieta.
Pinar del Río	Los Pollitos	0.0	No
	Carlos Lóriga	0.0	No
	El Corajo	1.0	Si
	26 de Julio	2.5	Si
	José A. Echeverría	13.5	Si
Sancti Spiritus	Abel Santamaría	0.0	No
	13 de marzo	0.0	Si
Ciego de Ávila	Arroyo Seco	0.0	No
	Nicaragua Libre	0.0	Si

semillas), el desarrollo de la enfermedad fue significativamente inferior con valores de 10,98 y 17,22% (Tabla 3). Esto indica que bajo condiciones similares de inóculo en suelo y clima, la enfermedad puede ser más severa con densidades de plantas altas en los canteros, porque la elevada humedad entre las plantas y en el suelo, favorece el desarrollo del patógeno, lo cual se evidenció cuando se extrajeron las plántulas y se observó abundante micelio del hongo en ellas, así como sobre la superficie del suelo. Las plantas obtenidas en condiciones de alta densidad de siembra, presentaron tallos delgados, endebles y con afectaciones severas, lo cual no fue observado en las parcelas sometidas a una densidad de siembra baja.

En los campos seleccionados para semilleros de tabaco, que antes de esa campaña estaban sembrados con pastos, caña o eran áreas de barbecho o marabú, no hubo incidencia de pata prieta; mientras que en aquellos, cuyo cultivo antecesor fue tabaco, en todos se presentó la enfermedad con diferentes niveles de afectación. De esta forma se demostró también que la siembra continua de tabaco en los campos tradicionales favoreció la aparición y severidad de la enfermedad (Tabla 4).

La rotación de cultivo por 3 años consecutivos como se demostró en campos de producción, fue eficaz para disminuir considerablemente la incidencia de la enfermedad en las plantaciones de tabaco (Tabla 5). Todas las rotaciones probadas, resultaron efectivas para este propósito y se observaron reducciones en la campaña 1993-1994 que oscilaron entre 0.0 y 2,2 % en campos donde en la campaña 1989-1990 tenían afectaciones desde un 12 hasta 57.26 % de incidencia de la enfermedad. En campos donde no se estableció la rotación de cultivos la incidencia de la enfermedad se incrementó desde 6 hasta un 20 %.

Estos resultados demuestran que cuando los niveles de inóculo del patógeno en el suelo no son detectables o bajos, el riesgo de afectaciones severas en el cultivo disminuye, por lo que esta práctica es fundamental para evitar el desarrollo de epidemias en el caso de semilleros, y de afectaciones cuantiosas en las plantaciones.

Efectividad de *Trichoderma harzianum* según el nivel de infestación de *P. nicotianae* en suelo.

En condiciones de producción, se observó la efectividad de la aplicación de este biocontrol en suelos con niveles de infección por *P. nicotianae* bajos o no detectables, pero en suelos con niveles de inóculo del patógeno superiores a 1 propágulo/ g de suelo, no fue adecuado ya que se observaron tiros o riegos dentro de las áreas en los semilleros con afectaciones severas de la enfermedad, lo que puede ocasionar daños de consideración en el cultivo (Tabla 6).

DISCUSIÓN

La detección y el aislamiento de las especies de *Phytophthora* de plantas enfermas y de suelo es difícil, sobre todo aquellas de crecimiento más lento que son limitadas por la microflora secundaria, antagonista y de desarrollo rápido, por lo que se han desarrollado técnicas especiales como el empleo de trampas o cebos y medios selectivos, que posibilitan este propósito (Tsao 1983). El desarrollo de medios selectivos ha hecho posible no solo la detección, y el aislamiento, sino la cuantificación de los propágulos de *Phytophthora* en suelo (Mitchell y Kannwischer-Mitchell 1992). Los primeros medios selectivos para el aislamiento de *P. nicotianae* se utilizaron por Eckert y Tsao (1960, 1962). Posteriormente para *P. nicotianae* un método y medio selectivo recomendados es el descrito por Kannwischer y Mitchell (1978) en el que se emplean fungicidas y antibióticos (Mitchell y Kannwischer-Mitchell 1992) que inhiben el desarrollo de microorganismos antagónicos (Tsao 1983), sin afectar considerablemente el desarrollo de *P. nicotianae*. Por ello en nuestros estudios a pesar de que el hymexazol y el PCNB redujeron un poco el desarrollo de *P. nicotianae*, fue necesaria la inclusión de estos fungicidas en el medio selectivo modificado P₅ ARP_cH₂₅. Sin embargo, la disminución de la pimarcina (de 10 mg/l a 5 mg/l) y el hymexazol (de 50 mg/l a 25 mg/l) permitieron un mejor desarrollo de *P. nicotianae* que cuando se utilizó la variante del medio original descrito por Kannwischer y Mitchell (1978), posiblemente por la adición

de 50 mg de hymexazol/L en el medio selectivo descrito por los autores antes referidos.

En Cuba, este método y medio selectivo modificado, posibilitó la determinación del nivel de contaminación de los suelos anualmente antes de la siembra en aquellos campos destinados para semilleros y plantaciones de tabaco, comprobándose su aplicación práctica en la agricultura tabacalera cubana. Derivado de estos estudios estos métodos se establecieron a nivel nacional dentro del manejo de la enfermedad pata prieta en semilleros de tabaco (CNSV 1995). La determinación de los niveles de contaminación de los campos, antes de la siembra permite seleccionar a aquellos campos donde no se detecta el patógeno y descarta aquellos campos contaminados, aún en niveles muy bajos. Esta labor ha permitido demostrarle a los agricultores el peligro que representa para la producción plantar en sitios donde se detecte el patógeno porque bajo condiciones favorables la enfermedad tiene un desarrollo rápido y que es una enfermedad policíclica, en la que se desarrolla rápidamente un ciclo de infección después de otro dando lugar a la epidemia (Fernández 1998). Por otra parte es imprescindible la localización de las áreas afectadas, para impedir el traslado del inoculo a áreas libres del patógeno (Shea y Broadbent 1983).

Según Lucas (1969), las epidemias de pata prieta comienzan con más frecuencia a partir del inoculo establecido en semillero de tabaco. Los agricultores tienden a emplear su mejor tierra para la producción de tabaco, con lo cual se corre el riesgo de la acumulación del inoculo de *P. nicotianae* en suelo y la aparición de epidemias de la enfermedad con consecuencias desastrosas para la producción.

Otra medida imprescindible en la lucha contra la enfermedad pata prieta es la utilización de densidades bajas de plantas en los canteros de los semilleros de tabaco (Todd 1981), aspecto que observamos cuando empleamos densidades bajas de 3-4 g de semilla en canteros de 18 m², con la cual se obtuvo valores del desarrollo de la enfermedad significativamente inferior.

La selección de áreas libres de la enfermedad para el establecimiento de semilleros, es una medida imprescindible con el propósito de disminuir el potencial de inoculo del patógeno en los suelos, la incidencia de la enfermedad y los daños en el cultivo. Esto es importante porque según Shea y Broadbent (1983), la habilidad que tiene *Phytophthora spp* de incrementar rápidamente su densidad de inoculo es la base de su éxito como patógeno de las plantas.

Por otra parte, la rotación de cultivo es una medida agrotécnica que se ha empleado desde hace mucho tiempo y ha sido efectiva para múltiples propósitos agrícolas (Zadocks y Schein 1979). Específicamente se considera muy efectiva para la disminución de las poblaciones de *P. nicotianae* en suelo (Todd 1981)

Para este patógeno, Peñalver *et al.* (1987), determinaron el efecto de la rotación de cultivo en la disminución

de la incidencia de la pata prieta del tabaco y concluyeron que una rotación larga (3-4 años) fue más efectiva que rotaciones de 1 o 2 años. Durante mucho tiempo la rotación ha sido la principal práctica cultural y permite obtener un óptimo uso de los nutrientes, junto a un adecuado control de malezas y de enfermedades (Rotem y Palti 1979). Específicamente se considera muy apropiada para disminuir el inoculo de los hongos del suelo entre ellos *P. nicotianae* (Todd 1981).

Uno de los propósitos de las prácticas culturales consiste en impedir que se desarrollen epidemias con el consecuente daño económico. El desarrollo de estas prácticas para controlar las enfermedades refleja como los agricultores en su agroecosistema particular evitan el salto de enfermedades a pico epidémico. El propósito principal es reducir al mínimo el contacto entre huésped susceptible y el inoculo viable del patógeno, con lo que se reduce la tasa de infección y el desarrollo posterior de la enfermedad, considerándose tres enfoques principales para este fin que son, la eliminación del desarrollo del inoculo o destruir el existente en el suelo (cultivación, rotación de cultivo o desinfección por calor); liberar a los cultivos de ataques potenciales mediante la selección de campos antes de la siembra con menor riesgo de enfermedad (época de siembra, la topografía, niveles adecuados de siembra, fertilización e irrigación adecuada (Rotem y Palti 1979).

La acción hiperparasítica del género *Trichoderma*, se demostró por primera vez por Weindling (1934) sobre hongos patógenos de las plantas como *Rhizoctonia solani* y *Pythium sp.* Malajczuk (1983), señaló que son parásitos activos de las hifas de *Phytophthora* y se ha evidenciado que contribuyen a que la población del patógeno disminuya considerablemente en suelo.

Durante los últimos años en nuestro país se han desarrollado diversas investigaciones con relación al uso de especies del género *Trichoderma* como biocontrol de *P. nicotianae*, *P. capsici* Leonian, *Pythium aphanidermatum*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium spp* (Stefanova 1993). De los aislados probados de *Trichoderma*, los más promisorios para el control de *P. nicotianae*, fueron A-53 y A-84, con los que se obtuvieron buen control de la enfermedad bajo condiciones controladas, semicontroladas y de campo (Sandoval y Saenz 1992, Stefanova y Sandoval 1995), aunque se evidenciaron afectaciones considerables (73.9 a 39.8 %) por pata prieta en semilleros con antecedentes de la enfermedad donde el nivel de infestación del suelo era alto. Por ello y según lo obtenido en nuestros estudios, ejerce un mejor control aplicar el biocontrol con densidades de inoculo de *P. nicotianae* bajas o no detectables en suelo.

Para el manejo de la pata prieta, deben seleccionarse los suelos para semilleros con niveles muy bajos de infección, ya que el conjunto de medidas a aplicar son menos complejas y costosas, además de ser efectivos. Evitar la selección de campos para semilleros de tabaco

con altas infecciones del patógeno, pues ni aún en los casos en que se utilizó Bromuro de metilo, pudo obtenerse un control total de la enfermedad en el semillero, mucho menos si no se emplea el biocontrol *Trichoderma* como protector ante reinfecciones de los suelos. Es necesario considerar el efecto nocivo que posee el Bromuro de metilo sobre el ambiente, por lo debe tenerse en cuenta su sustitución por las diferentes opciones propuestas para el control de la enfermedad que son más inocuas al ambiente (Fernández 1998).

La potencialidad de *P. nicotianae*, es la posibilidad que tiene de incrementar su densidad de inóculo rápidamente, así como su dispersión rápida en el semillero, donde existen condiciones ideales para el desarrollo de la enfermedad. La medida fundamental como se ha demostrado en nuestros estudios, es básicamente establecer estrategias para disminuir el potencial de inóculo del patógeno en el suelo, tales como la rotación de cultivo o la selección de áreas. Es necesario la aplicación de medidas cuarentenarias y fitosanitarias entre ellas la aplicación del biocontrol *Trichoderma* en el suelo, que contribuyan a evitar el desarrollo de epidemias con consecuencias desastrosas para la producción del cultivo del tabaco. Gallup *et al.* (2006) también considera que el manejo de esta enfermedad requiere el uso de diferentes prácticas, entre ellas las culturales, así como el empleo de variedades resistentes.

Agradecimientos

A los agricultores y directivos de las empresas Tabacaleras de Pinar del Río y La Habana, a los especialistas de los Laboratorios Provinciales de Sanidad Vegetal de las provincias de Pinar del Río, Sancti Spiritus y Ciego de Ávila, así como la Dirección Provincial de Sanidad Vegetal de esas provincias y al Departamento de Protección de Plantas del Centro Nacional de Sanidad Vegetal de Cuba, que sin su colaboración no se hubiesen podido realizar estos estudios.

Referencias

CNSV. 1995. Registro e Información Estadística Fitosanitaria de los Cultivos. Mod. 20-04 /CNSV. La Habana: MINAG. CNSV.

Eckert JW, Tsao PH. 1960. A preliminary report on the use of pimaricin in the isolation of *Phytophthora* spp from root tissues. *Plant Diseases Report* 44: 660-661.

Eckert JW, Tsao PH. 1962. A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. *Phytopathology* 52: 771-777.

Espino ME. 1996. Cuban's Cigar Tobacco. USA: TFH, Publication Inc.

Fernández Ana. 1998. Biología, epidemiología, nocividad y control de *Phytophthora nicotianae* (*Phytophtho-*

ra parasítica) en tabaco. Tesis en opción al Grado de Doctor en ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La Habana. 149 p.

Gallup CA, Sullivan MJ, Shew HD. 2006. Black Shank of Tobacco. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0717-01. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/BlackShank.aspx>

Kannwischer ME, Mitchell DI. 1978. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. *Proceeding Annual Phytopathological Society* 3: 338.

Lucas GB. 1969. Enfermedades del tabaco. La Habana: Ediciones Revolucionarias: Instituto del Libro.

Malajczuk N. 1983. Microbial antagonism to *Phytophthora*. En *Phytophthora Its Biology, Ecology, Taxonomy and Pathology* (Erwin DC, Bartnick-Garcia S, Tsao P, eds). St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society, 97-218 pp.

Mitchell DJ, Kannwischer-Mitchell ME. 1992. *Phytophthora*. En *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi* (Singleton LL, Mihail JD, Rush CM, eds.). St. Paul, Minn: The American Phytopathological Society, 31-38 pp.

Peñalver Nilda, Padrón JJ, García Milagros. 1987. Utilización de un esquema de rotación para estudiar la longevidad de la *Phytophthora parasítica* var. *nicotianae* en los suelos. I. Ferralítico Cuarcítico Amarillo Lixiviado. *Ciencia y Técnica en la Agricultura: Tabaco* 10: 3-7

Rotem J, Palti J. 1979. Epidemiological factors as related to plant disease control of by cultural practices. In *Epidemiology and plant disease management*. New York: Oxford University Press. 427 p.

Sandoval Ileana, Sáenz Mercedes. 1992. Estudio preliminar del biocontrol de *Phytophthora nicotianae* y *Rhizoctonia solani* en tabaco mediante *Trichoderma* spp. En *Resúmenes Biotecnología Habana* /.

Shea SR, Broadbent P. 1983. Developments in cultural and biological control of *Phytophthora* diseases. In *Phytophthora Its Biology, Ecology, Taxonomy and Pathology* (Erwin DC, Bartnick-Garcia S, Tsao P, eds.). St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society, 335-350 pp.

Stefanova Marusia, 1993. Empleo de biopreparados de *Trichoderma* en el control de hongos fitopatógenos en tabaco, pimiento y tomate de hidropónico. En *Forum de Ciencia y Técnica*. 8. La Habana: Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.

Stefanova Marusia, Sandoval Ileana. 1995. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp en el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Boletín Técnico* 2. La Habana. 22p.

Todd FA. 1981. Flue-cured tobacco producing crop. North Carolina: Parker Graphics. 172p.

- Towsend G, Heuberger IW. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicides experiments. *Plant Diseases Reporter* 27: 340-343.
- Tsao PH. 1983. Factors affecting isolation and quantification of *Phytophthora* from soil. In *Phytophthora Its Biology, Ecology, Taxonomy and Pathology* (Erwin DC, Bartnick-Garcia S, Tsao P, eds.). St. Paul Minnesota: The American Phytopathological Society, 392 p.
- Weindling R. 1934. Studies a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other fungi. *Phytopathology* 24: 1153-1179.
- Zadocks J, Schein RD. 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*. Oxford: Oxford University Press.