



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Tesis para optar por el Título Académico de Master en Agricultura Sostenible. Mención Sanidad Vegetal.

Respuesta de seis variedades comerciales de tabaco negro ante
Rhizoctonia solani Kühm.

Autor: Ing. Mileidy Cabrera Esmory.

Tutores: Dr. Lidcay Herrera Isla.

Año 2008
"Año 50 de la Revolución"



*A mis padres, hermana y esposo por el amor y la dedicación que me brindan
y el amor que les tengo.*

A mis amigos por su amor y comprensión.

A mis compañeros de la Estación Experimental del Tabaco de Cabaiguán, por su contribución en la etapa de desarrollo del trabajo, su cooperación y ánimo en la confección del documento.

A mis padres, esposo y familiares en general por su total cooperación, comprensión y apoyo en los momentos más difíciles.

A los técnicos del Centro de Investigación Agropecuaria (CIAP) de la U.C.L.V.

A los que de una forma u otra han contribuido al desarrollo de esta investigación.

En especial a mi tutor Dr. Lidcay Herrera Isla por el extraordinario apoyo que me ha brindado durante el transcurso de esta investigación.

A todos muchas gracias.

Resumen.

El tabaco es atacado frecuentemente por hongos. La afectación de la raíz y de la base del tallo causada por hongos del suelo se considera entre las enfermedades más importantes del tabaco. En nuestra investigación, titulada: Respuesta de seis variedades comerciales de tabaco negro ante *Rhizoctonia solani* k. se realizó en la Estación Experimental del Tabaco de Cabaiguán, se utilizaron seis variedades comerciales cultivadas actualmente en el país la Habana 92, Habana 2000, Criollo 98, Corojo 99, Sancti Spiritus 96 e IT 2004. Para el estudio en el caso que los ensayos lo requerían se utilizó suelo Pardo Sialíticos Carbonatado tomado del lugar donde se hizo la investigación. Para conocer la respuesta de las variedades ante el ataque de este organismo patógeno, se estudiaron dos ensayos de inoculación artificial consistieron en la inoculación directa en plántulas, la inoculación del suelo en el que aplicaron diferentes dosis del inóculo (micelio del hongo y granos de arroz + micelio del hongo). Los resultados obtenidos fueron procesados en el MLG Univariante del paquete estadístico SPSS 15.0. En la inoculación directa a plántulas se evaluó la longitud de las lesiones producidas por este patógeno y se obtuvo como resultado que del grupo de variedades estudiadas la Sancti Spiritus 96 fue la más afectada con un promedio de longitud de las lesiones de 1,26 cm. En la inoculación al suelo con ambos inóculos y en las tres dosis aplicadas fue la variedad IT 2004 la más afectada.

Palabras clave: hongos del suelo, inoculación, *R. solani*, tabaco.

ÍNDICE

página

1. Introducción.

1

2. Revisión Bibliográfica.

3

2.1. La agricultura sostenible.

3

2.2. Aspectos generales del cultivo del tabaco.

5

2.3. Taxonomía.

8

2.4. Descripción botánica.

8

2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo en Cuba

9

2.5.1. Moho Azul. (*Peronospora hyoscyami* de Bary f. sp. Tabacina)

10

2.5.2. Pata Prieta (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* Bread de Haan)

12

2.5.3. Virus del mosaico del tabaco (VMT).

14

2.5.4. *Rhizoctonia solani* (Khün).

16

3. Materiales y Métodos.

21

3.1. Respuesta varietal frente a *Rhizoctonia solani* Khün

22

3.1.1. Inoculación directa en plántulas.

22

3.1.2. Inoculación del suelo.

23

3.1.2.1. Inoculación del suelo con micelio del hongo.

23

3.1.2.2. Inoculación del suelo con granos de arroz + micelio del hongo.

24

3.2 Procesamiento estadístico.

25

4.

Resultados

y

Discusión.

28

4.1. Respuesta varietal frente a *Rhizoctonia solani* Kühn.

28

4.1.1. Inoculación directa en plántulas.	28
4.1.2. Inoculación del suelo.	30
4.1.2.1. Inoculación al suelo con micelio del hongo.	30
4.1.2.2. Inoculación al suelo con granos de arroz + micelio del hongo.	32
5. Conclusiones.	36
6. Recomendaciones.	37
7. Bibliografía.	38
8. Anexos.	

Introducción:

En Cuba en la producción se cultiva el tabaco negro en tres formas diferentes y tres tipos: tabaco sol en palo (15 056,84 has); tabaco sol ensartado (12 628,09 has); tabaco tapado (2 203,16 has); tabaco virginia (911,89 has) y tabaco burley (915.51has). El total de áreas destinadas a tabaco es de 31 715,49 has (Espino, 2006)

Debido a que las semillas de tabaco son muy pequeñas y endebles es difícil su uso en siembras directas por lo que es necesario obtener primeramente plantas o posturas en semilleros para después transplantarlas al lugar definitivo. Este cultivo posee una gran limitante, la alta incidencia de enfermedades conocida como marchitamiento de las posturas producidas por el complejo de hongos donde los géneros más habituales son *Phytophthora*, *Phytium*, *Sclerotium* y *Rhizoctonia*, causando perdidas de aproximadamente entre el 10 y el 15% de las plantas. Existen también plantas aparentemente sanas que llevadas al campo son fuentes de inóculo para comenzar una epifitotía.

Los productores intentan controlar la enfermedad con el uso intensivo de fungicidas para lo cual en los últimos

tiempos se trabaja fuertemente para reducir las aplicaciones de productos químicos por los daños que causan al medio ambiente y por supuesto, a la salud humana.

El tabaco tiene una participación fundamental en el desarrollo económico y el uso de variedades susceptibles fue una de las causas que redujo la exportación de habanos por muchos años, además la demanda creciente de los mismos para la venta requirió entonces de un incremento en los rendimientos. Por tal motivo el país se vio obligado a buscar en el exterior variedades que contaran con genes de todo tipo lo que incrementó la diversidad genética del banco de germoplasma existente.

En los momentos actuales uno de los mayores retos del hombre es la obtención de productos agrícolas en cantidad abundante para satisfacer las necesidades de la humanidad pero alterando lo menos posible el ecosistema.

En el presente trabajo se sintetizan los resultados de las investigaciones realizadas, relacionadas con el tema.

Hipótesis:

Si se cuenta con seis variedades que posean determinada respuestas a *Rhizoctonia solani* Khüm se puede obtener cosechas libres de esta enfermedad.

Objetivo General:

Evaluar la respuesta de seis variedades comerciales de tabaco frente a *Rhizoctonia solani* Khüm.

Objetivos Específicos:

- Determinar la respuesta de seis variedades comerciales de tabaco frente a la enfermedad causada por el hongo *Rhizoctonia solani* Khüm mediante la inoculación al suelo.

- Determinar la respuesta de seis variedades comerciales de tabaco frente a la enfermedad causada por el hongo *Rhizoctonia solani* Khüm mediante la inoculación en plántula.

2. Revisión Bibliográfica.

2.1. La agricultura sostenible.

Existe una estrecha relación entre la agricultura y la contaminación química. Al respecto Bucek (1989) a partir de las investigaciones ecológicas realizadas en Cuba señala: “el proceso de desarrollo de la agricultura provocó la degradación de los componentes del medio natural y en consecuencia una transformación tal del paisaje que es la propia agricultura la que sufre estos efectos”.

Altieri (1997) expresa que el gran desafío es crear políticas que incrementen el desarrollo agrícola sustentable a través de la promoción de tecnologías agroecológicas que se dirigirán entre otros aspectos a racionalizar los insumos.

El consumo de fertilizantes químicos tradicionalmente se ha caracterizado por ser alto en numerosos países y fue una consecuencia de la llamada revolución verde, donde se utilizó la práctica intensiva aumentando fertilizantes, plaguicidas y otras entradas al sistema (Pérez et al., 1995).

Es debido a ello que se plantea la sustitución del empleo sistemático y frecuentemente abusivo de los plaguicidas, por un “verdadero control organizado de plagas”, sustituyendo la lucha exclusivamente del tipo química por una lucha integrada (BAYER, 1993).

El concepto de agricultura sustentable implica, el aprovechamiento racional de la diversidad biológica, el uso y manejo de los recursos naturales renovables nativos, la revalorización del conocimiento tradicional, preservando la cultura agrícola autóctona, la potenciación de los ciclos internos del manejo de nutrientes, agua y energía, la evolución dinámica de una tecnología agrícola localmente apropiada, basada en un investigación

participativa, que respete y reconozca el saber tradicional y la seguridad alimentaria local, nacional y regional para todos y la no dependencia del mercado externo (Rodríguez, 2001) Cuevas et al., (2000) citan a autores del siglo pasado que se adelantaron a su tiempo al analizar los sistemas de su época y la importancia de practicar una agricultura respetuosa del equilibrio y manejo holístico de los recursos productivos.

Uno de los objetivos que persigue la política agraria cubana es lograr una agricultura que se sustente con bajos insumos petroquímicos sin reducir cosechas. Esto ha requerido una mejor organización en la estructura de investigación y extensión agrícola. Los científicos cubanos están abocados a desarrollar promisorias prácticas orgánicas y tecnologías de bajos insumos utilizados en otros países (Marrero, 2001)

Se hace necesario en la etapa actual, el desarrollo de una agricultura sostenible, definida, como aquella que utiliza de forma óptima los recursos naturales y humanos disponibles localmente, siendo económicamente viable, ecológicamente racional, culturalmente adaptada al entorno y socialmente justa (Addiscott et al., 1991; Altieri, 1993 a,b,c; Altieri y Yurjevic, 1993; Reijntjes et al., 1994).

Nova (1997) expresa que más de tres décadas dedicadas a la práctica de una agricultura intensiva, basada en altos insumos con una elevada concentración de las tierras y organizada en grandes empresas estatales, está registrando grandes transformaciones y reclama un sistema productivo ajustado a una nueva forma y acorde con las limitaciones económicas vigentes.

En la actualidad se lucha por el alcance de una agricultura sostenible, la cual presupone la utilización óptima de diversos métodos, técnicamente efectivos, económicamente viables y compatibles con el ambiente (Fernández et al., 1996).

Por su parte Vandermeer (1999) señala que existe una tendencia hacia la agricultura sostenible, la cual reconoce abiertamente los problemas asociados con la agricultura moderna, así como la necesidad de buscar soluciones a los mismos.

2.2. Aspectos generales del cultivo del tabaco.

En estudios sobre la evolución del género *Nicotiana* se comprobó que el origen de *Nicotiana tabacum* (L.) es americano, constituyendo su área original de distribución natural el Noroeste de Argentina y su vecindad Boliviana (Goodspeed, 1954).

Ternovsky (1971) afirma que el tabaco de cultivo proviene de un cruzamiento natural de dos especies silvestres, la *Nicotiana sylvestris* y *Nicotiana Tomentosiformis* existentes hoy día, las que representan la última etapa de evolución del género. De la actual etapa, son las especies más jóvenes (24 pares de cromosomas), las que ocupan la más alta posición filogenética, a la que pertenece *Nicotiana tabacum* L. se cree que esta especie es un anfidiplóide, es decir un híbrido natural (FAO, 2001).

Los indios Americanos desde tiempos remotos hicieron múltiples usos del mismo, fumaron, mascaron, aspiraron, lamieron, bebieron; lo usaron en la medicina, en pinturas, píldoras, cosméticos, ritos religiosos y nupciales, además impregnaban la piel de los enfermos con tabaco porque para ellos poseía un poder mágico que actuaban sobre las personas, los animales y otras plantas (Núñez, 1994).

La planta a través del tiempo ha desempeñado un amplio papel en la cultura de viejo y el nuevo mundo, por los múltiples empleos y funciones que históricamente ha tenido (Alvarado y Tirado, 1995).

La importancia está dada en que es una planta que proporciona altos ingresos económicos y sirve de supervivencia a productores y campesinos; sus recursos genéticos han sido fuentes de variabilidad para las producciones tabacaleras tabacalera y para el mejoramiento de este cultivo (Linares, 1998).

Según FAO (2001), la producción y el comercio del tabaco a nivel mundial se basa fundamentalmente en que las labores comerciales son una mezcla de hojas de tabaco de diversos orígenes cuyas calidades vienen determinadas por numerosos factores naturales o tecnológicos, como:

- La variedad.
- Clima, suelo, y agua de riego.
- Técnica de cultivo, abonado, etc.
- Tecnología de la transformación: curado, fermentación, almacenamiento, ect.

El tabaco es un cultivo intenso en mano de obra, ya que por término medio unas 2 200 horas de trabajo por hectárea, más que cualquier otro tipo de cultivo.

El género *Nicotiana* está clasificado en tres subgéneros: rústica, tabacum y pentunoides con 14 secciones y 68 especies actualmente reconocidas (Goodspeed, 1954; Mondragón, 2005)

En la literatura internacional los principales tipos de tabaco según (Núñez, 2003) son:

Tipo Negro: son tabacos curados al aire, en casas especialmente diseñadas para este fin y se utilizan en la confección de “puros” y cigarrillos “negros”.

Tipo Virginia: el proceso de curación se hace de forma artificial en naves de curar tabaco con condiciones de temperatura y humedad controladas. Se utiliza en la industria de cigarrillos “suaves” como su principal componente.

Tipo Burley: curado al aire, de extraordinaria importancia en la mezcla de los cigarrillos suaves. También se usa en mezcla para pipas y como tabaco para mascar.

Tipo Oriental: como materia prima del llamado cigarrillo “oriental”. Las hojas secas son aromáticas.

Tipo Semi Oriental: Hoja con grandes dimensiones; superiores a los 50 cm de longitud, de color verde claro y nervaduras pronunciadas.

El tabaco se convirtió en la moneda base de todos los demás valores. Es vendido en función de la calidad y el precio, estando definida la primera, como una característica por la cual el comprador paga dinero (Akehurst, 1973).

Durante muchos años refiere Espino (1996), no han sido pocos los intentos de imitar la delicadeza y el sabor del tabaco cultivado en Cuba.

Morrera et al., (1995) afirmaron que existen muchas cosas que lo hacen algo tan especial: una combinación única de sol, suelo y sabiduría, un rígido control de la calidad y la tradición. Pero sobre todas las cosas, gran riqueza de destreza humana en cada uno de los muchos pasos que contemplan las hojas para la elaboración de cigarros.

La producción mundial de tabaco, de acuerdo a las estadísticas de la FAO (2006), indica que los países de mayor producción son China (3 438 000 t), Estados Unidos (733 000 t), Brasil (663 000 t), India (581 000 t), Zimbabwe (205 000 t) e Italia (149 000 t).

Cuba, aunque no está considerada entre los primeros productores de tabaco es reconocida universalmente por su calidad, constituyendo este cultivo uno de los rubros exportables y una fuente de divisa para el país. (Espino et al., 1998).

Según datos de FAO (2002) la producción promedio mundial de tabaco hasta el 2001 era de 5 943 005 toneladas métricas con un rendimiento de 1,3 ton/ ha y en Cuba de 37 871 toneladas métricas con un rendimiento promedio 0,65 ton/ ha.

2.3. Taxonomía: Según Amaranto (2004)

Reino: Vegetal.

Clase: Angiospermae.

Subclase: Dicotiledoneae.

Orden: Tubiflorae.

Familia: Solanaceae.

Género: *Nicotiana*.

2.4. Descripción botánica: Según Martínez (1987)

Hojas: son lanceoladas, alternas, sentadas o pecioladas. Se clasifican de abajo hacia arriba, atendiendo al orden de su aparición durante el desarrollo-crecimiento y recibiendo los siguientes nombres: primordiales, libre pie, centro, corona, florales.

Las hojas de *Nicotiana tabacum* son de forma ovals u oblongolanceoladas y éstas acostumbran a brotar directamente del tallo principal. La superficie de hojas tiene un aspecto mucho más mate que la *Nicotiana rústica*.

Flores: hermafroditas, frecuentemente regulares. El tamaño de las flores puede oscilar entre 5 y 6 cm, con ovario súpero formado por dos lóbulos. En la especie *tabacum* el color de la flor es rosado y en la *rústica* oscila entre el amarrillo y el verde. Esta planta presenta cinco estambres unidos a la base de la flor, su longitud varia un tanto; pero normalmente se encuentra, por lo menos algunos de ellos, a la misma altura del pistilo.

Tallo: es redondo, semi-leñoso de consistencia quebradiza. Altura hasta dos metros.

Fruto: cápsula recubiertas por un cáliz persistente, que se abre en su vértice por su valvas bífidas. El fruto puede variar con la variedad del tabaco.

Semillas: son numerosas, pequeñas y con tegumentos de relieves sinuosos más o menos acentados.

2.5. Principales enfermedades que afectan al cultivo en Cuba.

La muerte de las posturas por enfermedades se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo.

En los semilleros de tabaco la enfermedad más importante es la marchites de las posturas causadas por un complejo de hongos donde los géneros más habituales son *Phytophthora*, *Pythium*, *Sclerotium* y *Rhizoctonia*. En tabaco la especie predominante es *Phytophthora nicotinae* productora de la pata prieta. La pudrición del semillero y del tallo producidas por *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum* y *Pythium ultimum* es frecuente en esta etapa. (Agrios. 1991 y Mayea et al. 1983). Se describen entre las enfermedades más importantes las causadas por *Pseudomonas solanacearum* y *P. tabaco* como bacterianas. Existen 18 especies diferentes de agentes patógenos bacterianos en tabaco, estas pertenecen a 6 géneros: *Agrobacterium*; *Bacillus*; *Erwinia*; *Pseudomonas*; *Rhodococcus* y *Xanthomonas*. Dentro de estos la que más especies reportadas tiene es *Pseudomonas* con 8 especies. (Badbury. 1986).

González (2001) plantea que dentro de las enfermedades fungosas: el moho azul producido por *Peronospora tabacina* como la más importante en esta etapa. También citan a la úlcera del tallo donde el agente causal es *Rhizoctonia solani* Kühn: mancha de rana ocasionada por *Cercospora nicotinae*: mancha parda por *Alternaria tenuis* y la marchites producida por *Fusarium oxysporum* y *Verticillium sp.*

Román (1978) registra una larga lista de nemátodos asociado con el cultivo de tabaco *Meloidogyne spp*; *Heterodera tabacum*; *Trichodorus spp*; *Xiphinema spp*; *Ditylenchus dipsaci*; *Rotylenchus spp*; *Criconemoides spp*; *Longidorus spp*; *Paratylenchus proyeetus*; *Tetylenchus nicotiana* y *Helicotylenchus spp*. Informa además que los dos géneros de mayor importancia son *Meloidogyne spp* y *Pratylenchus spp*. En un segundo orden de importancia a *Paratylenchus proyeetus*; *Tylenchorhynchus spp* y *Trichodorus spp*.

2.5.1. Moho Azul. (*Peronospora hyoscyami* de Bary f. sp. *tabacina*)

La enfermedad conocida como moho azul del tabaco causado por *P. hyoscyami*, es capaz de causar pérdidas verdaderamente devastadoras, en un tiempo extraordinariamente breve, además se caracteriza por su agresividad patogénica (Main, 2005)

Esta enfermedad se ha reportado entre Enero y Marzo en condiciones de temperatura y humedad variables, y las lluvias favorecen su propagación. La infección, según el criterio de investigadores, se produce por la ocurrencia de condiciones meteorológicas, tales como: alta humedad relativa por más de una hora y media por la noche, temperatura

superior a los 23° C durante la mayor parte del tiempo, días nublados y oscuridad nocturna, entre otras (Ángel, 2003 y Lucas, 1965)

El moho azul del tabaco, apareció en Cuba en 1957, probablemente a causa de que su órgano reproductor (conidios), fuera arrastrado por el viento desde la Florida. Citado por (Angel, 2003)

El hongo *P. hyoscyami*, pertenece al orden Peronosporales, familia Peronosporaceae. En esta familia figura un número importante de patógenos del cultivo, es un parásito obligado, con escala limitante de hospedante. Los conidios del hongo, por lo general, germinan e invaden la hoja del tabaco desde la superficie superior, por medio de la penetración directa de las células epidérmicas o pelos glandulares, aunque ocasionalmente el tubo germinativo del conidio en germinación, entra en la hoja por los estomas (Schiltz y Delón, 1981)

El Moho Azul es quizás la enfermedad que más daño ocasiona al tabaco en Cuba, bajo estas condiciones no es económicamente viable la explotación de variedades que no sean resistentes a esta enfermedad, los síntomas se localizan fundamentalmente en las hojas y pueden aparecer también en el tallo, existen dos formas fundamentales de atacar a la planta, una sistémica y otras localizada, la primera afecta las hojas mediante el nervio central, la segunda se manifiesta en manchas en el parénquima de la hoja (Pino, 2007)

Es una enfermedad que ha ocasionado muchos daños a las plantas jóvenes de menos de un mes, éstas son muy susceptibles y pueden morir de inmediato frente a la situación. Algunas veces todos los tejidos de la hoja, excepto la punta vegetativa de la planta, quedan invadidos y mueren. Una vez producido el inóculo suficiente, se produce un brote general y el cantero completo se enferma de la noche a la mañana (Edreva, 1996).

El hongo puede destruir todas las hojas en cualquier etapa de crecimiento, además se puede producir lesiones en los botones, flores y cápsulas. En plantación se manifiesta por la presencia de grupos de manchas amarillas que aparecen como ronchas circulares en las hojas, a menudo estas, se unen para formar pequeñas zonas necróticas de color carmelita claro, las hojas se desfiguran, grandes proporciones de ellas se desintegran de tal modo que quedan totalmente inutilizadas (Ngugi y Scherm, 2006).

Peréz (1983), dice que las mayores condiciones para el ataque en Cuba son:

- Alta humedad relativa (superior a 90%)
- Temperatura moderadas (entre 16 y 24°C)

- Días nublados.
- Vientos suaves y húmedos.
- Persistencia de humedad sobre las hojas.

La exposición de las hojas de tabaco a las temperaturas elevadas durante el proceso de secado, curado y fermentación eliminan los conidios infecciosos (Supr et al., 2000)

Cuba (2006), plantea que el moho azul es difícil y costoso de controlar principalmente en las zonas tabacaleras en que las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de la enfermedad. Para el control del hongo todas las medidas conocidas deben estar presentes en el programa de prevención, comenzando por la selección del área de los semilleros y continuando durante toda fase agrícola, incluyendo la destrucción de los restos de cosechas una vez finalizada la misma.

Espino y Rey (1988), informa que una de las mejores medidas para la lucha contra el moho azul del tabaco sin lugar a dudas es la utilización de variedades resistentes.

Todo productor debe impedir que el hongo sobreviva una vez cosechada la plantación, por lo que debe proceder al corte de tallos y a eliminar los restos de cosechas mediante su enterramiento o quema. Una vez que el hongo se ha detectado en los semilleros debemos contribuir a evitar la infección inicial, reduciendo la severidad del ataque y ayudando al control, además debemos utilizar todos los procedimientos de saneamiento del semillero que sean posible (Cuba, 2001)

2.5.2. Pata Prieta (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* Bread de Haan)

La enfermedad Pata Prieta ha repercutido durante muchos años en nuestra economía, afectando en gran medida la producción tabacalera nacional, de esta forma ha ocasionada cuantiosas pérdidas tanto en el semillero, como en plantación (Espino, 1996). Existen más de 60 especies del género *Phytophthora* que son agentes patógenos de las plantas, estas afectan el cultivo a escala mundial (Stamps et al., 1990)

Desde el punto de vista patogénico el agente patógeno *P. nicotianae*, causante de la enfermedad pata prieta, presente en el cultivo del tabaco fue considerado relativamente estable durante muchos años; sin embargo, reportaron un aislado de muy baja virulencia en 1952, Power y Lucas (citado por Lucas, 1965).

Se fundó en 1960 el programa de Colaboración de Coresta sobre *P. nicotianae*, el objetivo fue analizar la variabilidad patogénica, como racial de la enfermedad pata prieta (CORESTA, 2007)

Se afirmó que el hongo pata prieta se propaga generalmente por el agua, por la tierra adherida a los aperos de labranza, patas de animales y zapatos de trabajadores (Lucas, 1965).

En la actualidad, a pesar del desarrollo que en las últimas décadas han alcanzado los métodos de control, este hongo sigue siendo considerado como uno de los agentes patógenos del suelo más dañinos del tabaco, debido a la falta de fungicida sistémicos y a la aparición de razas fisiológicas del hongo (Blancard, 1993)

Apple (1962), describió la raza 0 o raza común, además de la especialización fisiológica. Llamó raza 1 a aquellos aislados no patogénicos a *N. plumbaginifolia*, a diferencia de los que resultaban patogénicos a esta especie, que lo diferencio como raza 1, la más dañina según Li et al., 2006 También el autor demostró en 1967 que con el transcurso del tiempo la raza 1 se convertía en predominante, en una población que previamente fue reportada como 0, debido a la presión de selección de la semilla continua de *N. plumbaginifolia* o de variedades que tuvieran el gen de resistencia al agente patógeno.

En Cuba, Peñalver (1983), reportó la raza 0 de aislados obtenidos en la provincia de Pinar del Río, La Habana, Sancti Spiritus, Villa Clara, Granma y Holguín. También señaló la existencia de variabilidad patogénica entre estos aislados y confirmó, en trabajos posteriores, la existencia de biotipos naturales en la raza 0.

Según Toledo (2003), se ha presentado en varias ocasiones afectaciones inusuales en variedades resistentes a la raza 0 de *phytophthora*, todo esto hace pensar en un cambio en la virulencia de los aislados cubanos. En los diversos programas nacionales de mejoramiento genético se ha obtenido variedades resistentes para la disminución de las afectaciones por pata prieta (Quintana, 2005)

Las epidemias incidencias por especies de *Phytophthora* provienen de inóculo del suelo. Este género puede sobrevivir en forma de micelio, zoosporas, clamidosporas, esporangios y oósporas (Weste, 1983). Los propágulos de *Phytophthora* presentan comportamientos de germinación alternativas que depende de los factores ambientales y es de hecho una extraordinaria adaptación para la sobre vivencia (Ngugi y Scherm, 2006; Rogers, 2006).

Para el primer diagnóstico del agente causal de determinada enfermedad sistémica en los hongos, las zoosporas constituyen una herramienta fundamental, pero a la vez es la última expresión del proceso de desarrollo en el que interactúan relaciones complejas con su hábitat normal (Erwin, 1983)

2.5.3. Virus del mosaico del tabaco. (TMV)

El virus del mosaico del tabaco es el más importante por la magnitud de afectaciones que ocasiona en el cultivo, está presente en todos los países en que se cultiva, puede llegar a infectar entre el 90 y 100% de las plantas, su aparición es esporádica (Pandidam et al., 1995).

En Cuba el TMV constituye una enfermedad endémica, la estirpe más frecuente es la denominada severa (TMVs) (Santiesteban y Quintero, 1975). Según estos autores, las variedades de tabaco son resistentes por hipersensibilidad al virus del mosaico del tabaco, variedad severa de Cuba (TMVs). El estudio de su modo de herencia puso en evidencia que la resistencia al TMV es controlado por un par de genes de efecto dominante, que facilita la incorporación de la resistencia al TMV en nuestras variedades comerciales.

Santieteban y Quintero (1975), señala que los principales síntomas de una planta infectada son:

- Aclaración de las venas de las hojas jóvenes , en las que el tejido inmediatamente adyacente a ellas se desvanecen de color verde normal al color verde claro, destacándose estas, en contraste con el tejido que la rodea.
- Desarrollo de una reacción local o lesiones, que generalmente se manifiestan como manchas o anillos de tejidos cloróticos. A los pocos días de apreciarse los síntomas primario el veteado o moteado característico se desarrollo en las hojas inmaduras.

Estos autores exponen, que en plantas jóvenes las hojas presentan a menudo marcada desfiguración, así como, irregularidades en el crecimiento. En otros casos se suspende el desarrollo de la lámina de la hoja, la misma será estrecha e irregular.

En las hojas inmaduras de manifiestan con una clorosis parcial o completa o un jaspeado con distintos matices de verde. A menudo tales hojas desarrolladas ampolladas o tumefacciones de aspecto y distribución variada. Frecuentemente la planta se presenta raquítica y pesa menos que las normales de igual edad (Ciuperca et al., 2006)

Las plantas infestadas próximas a la madurez presentan los síntomas del jaspeado solamente en las hojas del extremo apical y en los retoños secundarios o hijos. En ellas se pueden desarrollar grandes zonas muertas en un total de 1-3 hojas del centro que no presentan veteado o moteado alguno. Tal tipo de lesión es llamada “quemadura del mosaico” y pueden causar daños considerables (Lucas, 1965).

Las flores de las plantas afectadas presentan ronchas típicas y en casos severos, están mal formadas (Stangi, 2006). En tal caso las cápsulas de semillas son anormalmente pequeñas y encogidas y por lo general contiene muy pocas semillas viables (Bertrand et al., 2007)

Wilkinson (2007), informa que la semilla del tabaco puede transmitir TMV.

El mosaico se propaga fácilmente y el mero hecho de contacto con una planta enferma y otra sana es suficiente para que esta última resulte afectada. El tabaco curado al aire es una fuente común de nueva infección. Los semillero a menudo son infestados por los trabajadores, que después de haber estado manipulando la cosecha del año precedente se dedican a esparcir la semilla pueden también introducir el virus. En cualesquiera de los casos la contaminación por lo regular se transmite de los dedos a las plantas, por la flotación (Lucas, 1965)

Expresa Quintero (1975), que la edad de la planta, la propagación del inóculo y las condiciones de crecimiento determinan, en general, si la expresión sintomática del TMV es aguda o crónica. El tiempo para la aparición de los síntomas se acorta con el aumento de la temperatura, la intensidad luminosa, la humedad del suelo y las condiciones de la capa vegetal, que permite un desarrollo rápido, aportan buenas condiciones para la infección natural. Además, cuanto más vigorosamente este creciendo una planta al ser infestada más pronunciadas serán los síntomas y con más generalidad habrán de manifestarse la infección sistemática. Las plantas jóvenes por lo general son más susceptibles que las viejas.

2.5.4. *Rhizoctonia solani* Khün.

El concepto de hongo del suelo, se desarrolló, teniendo en cuenta los pobladores del suelo, el potencial de inóculo, los exudados de las raíces, y la importancia del medio,

considerando entre estas a los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y otros (Lockwood, 1964).

Según la Organización para la alimentación y la agricultura FAO (1980), los hongos fitopatógenos producen pérdidas de hasta un 20% del potencial de rendimiento de las plantas cultivadas, cantidad ésta que serviría para alimentar una población de 500 a 600 millones de seres humanos. En las poaceas, por ejemplo, las pérdidas ocasionadas por plagas y enfermedades se elevan a un 34% del potencial de rendimiento lo que equivale a 34 mil millones de dólares aproximadamente.

En Lousiana, Estados Unidos Sinclair et al (1967) reportaron daños de importancia económica en semilleros de algodón y otros cultivos. Dentro de los agentes patógenos causantes de estos daños se destacó *R. solani* con mayor incidencia en damping off preemergente.

La remolacha azucarera es otro de los cultivos reportados como víctima de los ataques de *R. solani*. en la según refiere (Windel et al., 1997)

Sumner (1997), plantea que en el cultivo del maíz se presentan afectaciones por *R. solani* en la zona radical las que se hacen más intensas en los suelos arcillosos llegando a ocasionar damping-off, necrosis, raquitismo y clorosis foliar en las plántulas de maíz. Refiere además que aislados del patógeno obtenidos de otros cultivos afectados como el frijol, espinaca, maní, melón y sorgum que fueron inoculados al maíz fueron más virulentos en este cultivo.

Según Camara (1986) *R.solani* es considerada taxonómicamente como un miembro de importancia sobresaliente del orden *Agonomycetales* con la siguiente ubicación taxonómica:

Reino: Myceteae.

División: Amastigomycota.

Subdivisión: Deuteromycotina.

Clase de forma: Deuteromycetes.

Orden de forma: Agomycetales.

Género: Rhizoctonia.

Epecie: *Rhizoctonia solani* Khün.

Por su parte Herrera (1994), plantea que *R. solani* es un hongo de suelo que incluye en el Orden de forma Agonomycetales al que se le denomina micelio estéril, puesto que no produce conidios y se reproduce por fragmentación de hifas, *R. solani* tiene como estado perfecto *Thanatephorus cucumeris* que pertenece a la Clase Basidiomycetes. Además Herrera (1988) expresa que la biología de *R. solani*, así como su actividad patogénica están vinculadas con algunos factores abióticos como son la temperatura, el pH, luz y la humedad del suelo.

El patógeno se distribuye ampliamente por el mundo como: México (Sánchez y Cárdenas, 1991); Colombia (Orbando y Arias, 1986); Cuba (Mayea et al., 1983); Costa Rica (Mora y Blumm, 1990); África y Latinoamérica (Abawi y Corrales, 1990); India (Kataria y Grover, 1992); España (Casanovas, 1996); Egipto (Fouly, 1996), entre otros.

También según Zhou et al, (1997), el hongo fitopatógeno *R solani* se considera como uno de los que mayor cantidad de hospedantes afecta, provocando en ellos pérdidas de un alto valor, las que pueden alcanzar la cifra de hasta un 3% de un 8% provocadas por los hongos en general.

Por su parte Seidel (1976) reporta afectaciones de *R. solani* en cultivos como son: la col, gandul, pimiento, fruta bomba, frijol, caña de azúcar, berenjena, caucho, cítricos, coco, café, zanahoria, ajonjolí, papa, cebolla, lechuga, tomate, alfalfa, tabaco, arroz, espinaca y malanga blanca, además Windels (1997) lo encuentra afectando pecíolos de las hojas de la remolacha azucarera, y afectaciones considerables en sus posturas.

Algunos aislamientos del suelo multinucleados de *R. solani* desarrollaron un estado perfecto correspondiente a (*Thanatephorus cucumeris*), mientras que los binucleares dieron origen a una especie de *Ceratobasidium R. solani*. ha sido considerada una especie extremadamente variable, con un amplio rango de plantas hospedantes y un número indefinido de cepas, difiriendo en morfología, fisiología y hábitos (Monteith y Dahl (1928); Haw y Vaterpool (1953)).

Según Herrera (1988) los factores del ambiente tiene un efecto importante sobre este grupo de patógenos, destacando el efecto de la temperatura sobre *R. solani* lo que ha sido objeto de muchos estudios realizados por varios investigadores: Monteith y Dahl (1928) y Allison (1952) quienes encontraron que el rango de temperatura óptima es de 25 a 30 °C. Este rango fue confirmado posteriormente por Cedeño (1978) en relación con grupos de

anastomosis en aislamientos de *R. solani* Richards (1921) encontró que la temperatura óptima para el desarrollo de las lesiones del tallo es de 18 °C. Papaviza y Davey (1962) destacaron que la actividad saprofítica del hongo se realiza en el suelo a temperaturas entre 20 y 30 °C.

La supervivencia de *R. solani* en el suelo es considerada como muy alta por diferentes autores, de ahí su condición de organismo habitante del suelo. Las fases saprofíticas y parásitas de este hongo se alteran en el tiempo, no conociéndose con exactitud las condiciones que determinan cambio saprofítico o parásitico (Durbin, 1959)

En los suelos infestados de forma natural *R. solani* existe de forma saprofítica como varios clones de morfología distinta donde se presentan cepas desde no patógenicas hasta altamente patógenicas las que pueden afectar a cultivos como frijol, soya, remolacha y trigo (Davey, 1962)

Según Ariosa y Gómez (2002) las formas de propagación y de supervivencia son diferentes a las de otros microorganismos, destacándose además que las partes de las plantas que atacan y circunscriben a la porción subterránea de estas: raíces, bulbos, tubérculos y base de tallo, aunque infectar partes aéreas incluyendo los frutos por ejemplo el tomate (*Lycopersicon lycopersicum* Linn.), pepino (*Cucumis sativum* Linn), ect y algunas leguminosas.

La clorosis y el marchitamiento así como la pudrición de las raíces son síntomas característicos encontrados por Tsrer et.al (1997) en varios cultivos; lo cual es producido en un 39% por *R. solani* y *Pythium intermedium* en un 20% de las plantas afectadas.

Parmeter et al (1970), estudiando estos caracteres han demostrado que especies y aislamientos reportados como *R. solani* pueden ser divididos en dos grupos: uno con células hifales multinucleadas y otro con sólo dos núcleos por célula.

Los aislamientos multinucleados desarrollaron un estado perfecto correspondiente a *R. solani* (*Thanatephorus cucumeris*), mientras que los binucleados dieron origen a una especie de *Ceratobasidium*. En 1963, Hussain y Mckenn propusieron la especie *Rhizoctonia fragariae* para identificar un hongo que causa severos daños a la fresa. Ellos diferenciaron esta especie de *R. solani* basados en que no forman esclerosios. Sin embargo, años más tarde Whitney (1970) demostraron que las células hifales de *R. fragariae* eran binucleadas y que daban origen a un estado perfecto correspondiente a

Ceratobasidium. Siete grupos de anastomosis (GA) de *R. solani* fueron reportados por Ogoshi (1976); Kunaga et al., (1979); Kunaga y Yokosawa (1980); Martín y Lucas (1984); obtuvieron de 107 aislados de *Rhizoctonia spp.* en Israel los grupos de anastomosis (GA) 1,2,3,4,5 y 6 de *R. solani*, dos grupos de *R. Zeae* y tres grupos de *R. spp* binucleales (AG-A, AG-F y AG-K).

En Cuba, *R. solani* fue reportada por primera vez por Cook y Horne 1905.

3. Materiales y Métodos.

La investigación fue realizada en la Estación Experimental del Tabaco de Cabaiguán, ubicada a dos kilómetros del municipio cabecera, en la carretera de Santa Lucia, provincia de Sancti Spiritus, localizada entre los 22° y 25' de latitud Norte y 79° 32' longitud Oeste, con una elevación de 134 msnm. El trabajo se realizó en el período comprendido de 2007 al 2008 bajo condiciones controladas. Algunas de las variables climáticas en que se encontraban los experimentos se registraron mediante un psicrómetro instalado en el lugar donde se realizaron los estudios.

Las variedades de tabaco negro utilizadas para la investigación fueron la seis variedades comerciales cultivadas actualmente en el país la cuales fueron: "Habana 92", "Habana 2000", "Criollo 98", "Corojo 99", "Sancti Spiritus 96" (SS-96) e "IT 2004" para la selección de estas se siguieron varios criterios:

- Cantidad de área cultivada de cada variedad.
- Valor comercial.
- Resistencias a las principales enfermedades que atacan al cultivo pata prieta (*Phytophthora parasitica*), moho azul (*Peronospora hyocyami f sp tabacina*), virus del mosaico del tabaco (VMT).
- Altos rendimiento y buena calidad.
- Adaptación a condiciones climáticas.

El suelo utilizado fue Pardo Sialíticos Carbonatado de acuerdo a la nueva versión de clasificación genética de los suelos (Cuba, 1999), es uno de los más representativos de la producción tabacalera en las provincias centrales y orientales.

Este tipo de suelo tiene un alto contenido de arcilla y muestra menos efecto antagónico, permitiendo un favorable lecho para el desarrollo de *Rhizoctonia solani* Kühm según Camara (1987) y Jiménez (2008)

Para el estudio de la respuesta varietal ante *R. solani* en el caso que los ensayos lo requirió la utilización de suelo, este fue tomado en la Estación Experimental del Tabaco Cabaiguán y esterilizado en autoclave a 121 °C por 30 minutos.

3.1. Respuesta varietal frente a *Rhizoctonia solani* Kühn.

Para el estudio de la respuesta varietal a *R. solani* se empleó un cultivo puro del hongo, procedente de la colección ubicada en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas la cepa elegida fue la AG-4, para su selección nos basamos en su agresividad como inóculo para ocasionar infección. El cultivo puro de este patógeno se reprodujo en placas de Petri de 10 cm de diámetro en un medio de cultivo de papa, dextrosa, agar PDA (Foto 1).

Para conocer la respuesta de las variedades ante el ataque de este organismo patógeno, se estudiaron dos ensayos de inoculación artificial estos consistieron en la inoculación directa en plántulas y la inoculación del suelo. Para la selección de los mismos nos apoyamos en algunos estudios realizados anteriormente por Herrera et al (1984), Herrera et. al (1985) y Camara (1987).

Los datos primarios obtenidos en estos estudios se encuentran disponibles en una base de datos de la Estación Experimental del Tabaco de Cabaiguán.

3.1.1. Inoculación directa en plántulas.

Para este ensayo donde se realizó la inoculación directa en plántulas, se sembraron semillas de tabaco de seis variedades “Habana 92”, “Habana 2000”, “Criollo 98”, “Corojo 99”, “Sancti Spiritus 96” (SS-96) y “IT 2004” en un semillero en bandejas flotante ubicado a 100 m del laboratorio experimental. Cuando las plántulas alcanzaron los 35 días de edad se extrajeron cuidadosamente de las bandejas, se seleccionaron teniendo en cuenta el

vigor, porte, desarrollo y el estado fitosanitario de las mismas a esa edad, posteriormente se lavaron con agua destilada hasta quedar totalmente libres de suelo.

Luego se procedió a la fijación con cinta adhesiva en portaobjetos de 7.5 x 2.5 cm, se colocaron en bandejas metálicas y se cubrieron las raicillas con algodón humedecido con agua destilada para evitar la desecación. A 0.5cm de distancia del cuello de la raíz se colocó de un disco de PDA de 1cm de diámetro que contenía el cultivo puro de *R. solani* de siete días de edad (Foto 2). Consecutivamente a todo lo anterior descrito se crearon las condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre 24 y 28⁰C, las cuales favorecen el desarrollo del hongo y la penetración del mismo en la planta. En este ensayo se utilizaron diez plántulas por cada variedad.

Para evaluar el grado de ataque, se midió la longitud de las lesiones producidas sobre los tallitos en centímetros, estas se realizaron una vez a las 72 horas después de realizada la inoculación, según la metodología de Herrera et. al (1985), y Camara (1987)

3.1.2. Inoculación del suelo.

Para el ensayo de inoculación del suelo se emplearon dos tipos de inóculo: micelio y granos de arroz + micelio, se utilizaron semillas sin peletizar de cada una de las variedades “Habana 92”, “Habana 2000”, “Criollo 98”, “Corojo 99”, “Sancti Spiritus 96” (SS-96) y “IT 2004”, las cuales fueron tomadas del banco de germoplasma de tabaco, con alto porcentaje de germinación mayor del 90%, libres de patógenos y baja humedad, excelente pureza varietal y uniformidad en cuanto a tamaño. Ambos se desarrollaron bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad.

A continuación se describe como se obtuvieron y el procedimiento utilizado en cada uno de los ensayo.

3.1.2.1. Inoculación del suelo con micelio del hongo.

En este ensayo, para la obtención del micelio del hongo se añadió en Erlenmeyers de 500 ml, 200 ml de medio líquido de papa glucosada esterilizada en autoclave, un disco del cultivo puro del hongo de 1cm de diámetro el cual se encontraba en PDA y se incubó durante de siete días de incubación bajo condiciones de oscuridad permanente a una temperatura de 28 ⁰C (±1). El micelio se extrajo y se seco a una temperatura ambiente

(Foto 3 y 4). Se trituró y se mezcló con suelo según cada dosis, las cuales se enuncian a continuación.

- **Dosis 1:** mezcla de 0.47g de inóculo (micelio) en 46.53g de suelo que representa un 1% de la masa total.

- **Dosis 2:** mezcla de 0.67g de inóculo (micelio) en 46.33g de suelo que representa un 1.32% de la masa total.

- **Dosis 3:** mezcla de 1.88g de inóculo (micelio) en 45.12g de suelo que representa el 4% de la masa total.

La inoculación consistió en mezclar las diferentes dosis del micelio secado a temperatura ambiente. Luego de realizar la mezcla se vertió en placas de Petri de 7.0 cm de diámetro con volumen de 47g. La mezcla se humedeció con agua destilada, se dejó a temperatura ambiente por 48 horas y se procedió a sembrar 50 semillas de cada variedad, regándose con agua destilada con frecuencias de días alternos ya que la humedad de los suelos tiene un papel predominante para el desarrollo de este patógeno en este medio. Según varios autores han reportado que para este patógeno del suelo, cuando alcanza los valores próximos a la saturación, favorece el proceso infeccioso de este hongo (Galindo *et al.* 1982 y Cole *et al.* 1962).

Para el ensayo se utilizaron cinco réplicas por cada variante en cada variedad y un testigo con suelo estéril sin inocular. Las evaluaciones consistieron en determinar el porcentaje de damping-off postemergente. Las mismas se realizaron a los 15 días de sembradas las semillas.

3.1.2.2 Inoculación del suelo con granos de arroz + micelio del hongo.

En la inoculación del suelo, en este ensayo para la obtención del inóculo (granos de arroz + micelio) se utilizaron Erlenmeyers de 1000 ml, a los que se le añadieron 200g del medio sólido esterilizado en autoclave de granos de arroz con cáscara humedecidos con agua destilada (Foto 4). Sobre este se sembró un disco del cultivo puro del hongo de 1cm de diámetro de siete días de edad el cual se encontraba sobre PDA y se incubaron. Después de 15 días de incubación en condiciones de oscuridad constante, a temperatura de 28 °C (± 1) y de haber crecido el hongo en el medio sólido se mezcló con el suelo según las dosis que se exponen a continuación:

- **Dosis 1:** mezcla de 2.35g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 44.65g de suelo que representa el 5% de la masa total.
- **Dosis 2:** mezcla de 4.7g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 42.3g de suelo que representa el 10% de la masa total.
- **Dosis 3:** mezcla de 7.05g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 39.95g de suelo que representa el 15% de la masa total.

Inmediatamente de realizar la mezcla se vertió en placas de Petri de 7.0 cm de diámetro. La composición se humedeció con agua destilada, se dejó a temperatura ambiente por 48 horas y se procedió a sembrar 50 semillas de cada variedad, regándose con agua destilada con las frecuencias de días alternos con la finalidad antes descrita.

Se utilizaron cinco réplicas por variedad en cada variante ensayada y un testigo con suelo estéril no inoculado. Las evaluaciones consistieron en determinar el porcentaje de damping-off postemergente de las plántulas de tabaco germinadas. Las evaluaciones se realizaron a los 15 días posteriores a la siembra de las semillas.

3.2 Procesamiento estadístico.

Los resultados obtenidos fueron procesados en Modelo Lineal General (MLG) Univariante del paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows (Español) versión 15.01 (22 Nov 2006) proporcionando un análisis de varianza para una variable dependiente con respecto a un factor específicamente se realizó un ANOVA simple.

Con el procedimiento MLG se pueden contrastar hipótesis nulas sobre los efectos de otras variables en las medias de varias agrupaciones de una única variable dependiente.

Figuras



Figura 1: Vista del crecimiento del hongo en PDA



Figura 2: Inoculación directa en plántulas.



Figura 3: Medio líquido de papa glucosada donde se desarrollo el micelio del hongo



Figura 4: Masa de micelio.



Figura 5: Inoculación al suelo con micelio del hongo



Figura 6: Medio sólido de granos de arroz con cáscara donde se desarrolló el hongo



Figura 7: Inoculación al suelo con granos de arroz + micelio

4. Resultado y Discusión.

4.1. Respuesta varietal frente a *Rhizoctonia solani* Kühn.

Los resultados en cada una de las inoculaciones (directa a plántulas y al suelo) frente a *R.solani* son expuestos a continuación.

4.1.1. Inoculación directa en plántulas:

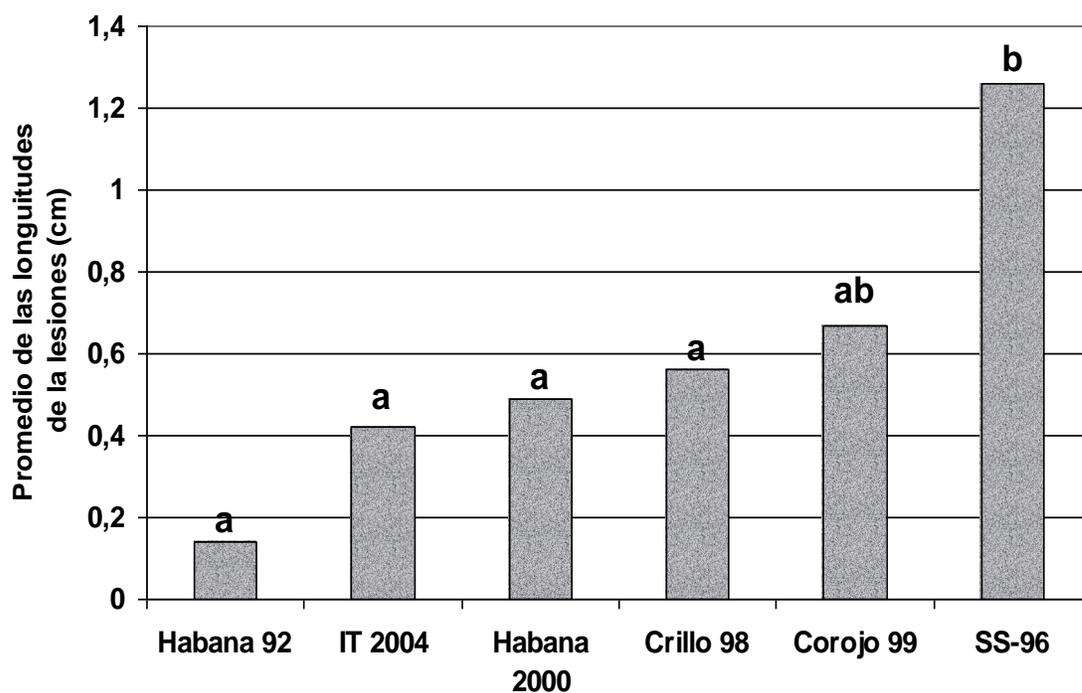
Este ensayo de inoculación directa en plántulas de tabaco consistió en la medición de las longitudes en (cm) de las lesiones producidas por *R. solani*. Los resultados obtenidos aparecen en el Figura 1.

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos en el ensayo de inoculación directa a plántulas donde se comprobó que de las seis variedades estudiadas la SS-96 resultó ser la más afectada por *R. solani* ya que la longitud promedio de las lesiones en el cuello de la raíz fue de 1. 26 cm. En orden decreciente de los valores promedio de las longitudes de la lesiones (cm) se situó la variedad Corojo 99, siguiendo de Criollo 98, Habana 2000, IT 2004 y Habana 92. De acuerdo a estos resultados se observa como varia la agresividad de *R. solani* con respecto a las variedades.

El análisis estadístico realizado expresó según la prueba de Dunca la agrupación en dos subconjuntos homogéneos (a y b) para $p < 0.05$. El subconjunto a estaba conformado por la Habana 92, Habana 2000, IT2004, Criollo 98 y Corojo 99 con una significación de 0.157; el subconjunto b por la Corojo 99 y la Sancti Spiritus 96 con una significación de 0.78 (Anexo 1).

Es decir, según los resultados obtenidos en el estudio no hay diferencia significativa entre las variedades que conforman cada grupo; en el caso particular la variedad Corojo 99 que se encuentra en ambos subconjuntos homogéneos se debe a que posee algún grado de similitud con las variedades que conforman ambos grupos.

Figura 1: Promedio de las longitudes de la lesiones (cm) producida por *R. solani* en cada una de las variedades



Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

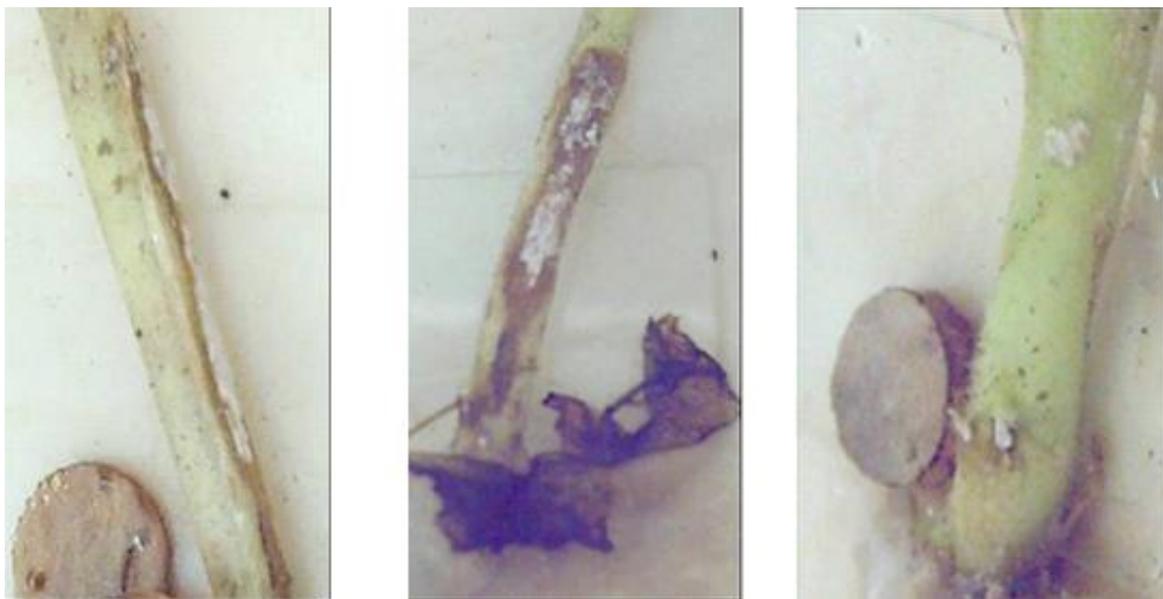


Foto 1: Lesiones producidas por *R. solani* en los tallos de las plántulas de tabaco.

En esta investigación se obtienen resultados similares a los obtenidos por Herrera et al. (1984), Herrera et al. (1985) y Camara (1987) en las variedades de tabaco C-30, P-1-6,

Cabaiguán 72, Escambray 70 y Corojo donde se obtuvieron longitudes de lesiones entre el rango 0.76 – 1.18 cm.

En este ensayo de inoculación directa de plántulas ante el ataque de *R. solani* permite evaluar los mecanismos de defensivos de la corteza del cuello de la raíz. Según Christou (1965) y Flentje (1965) la penetración de este hongo en la plántula puede ocurrir por tres vías diferentes, siendo la penetración directa la que permite evaluar más acertadamente la reacción varietal.

Entonces esto podría indicarnos que de las variedades estudiadas, la SS-96 posee mayor infección ante el ataque de este hongo debido primeramente a las características morfológicas o anatómicas de los tejidos

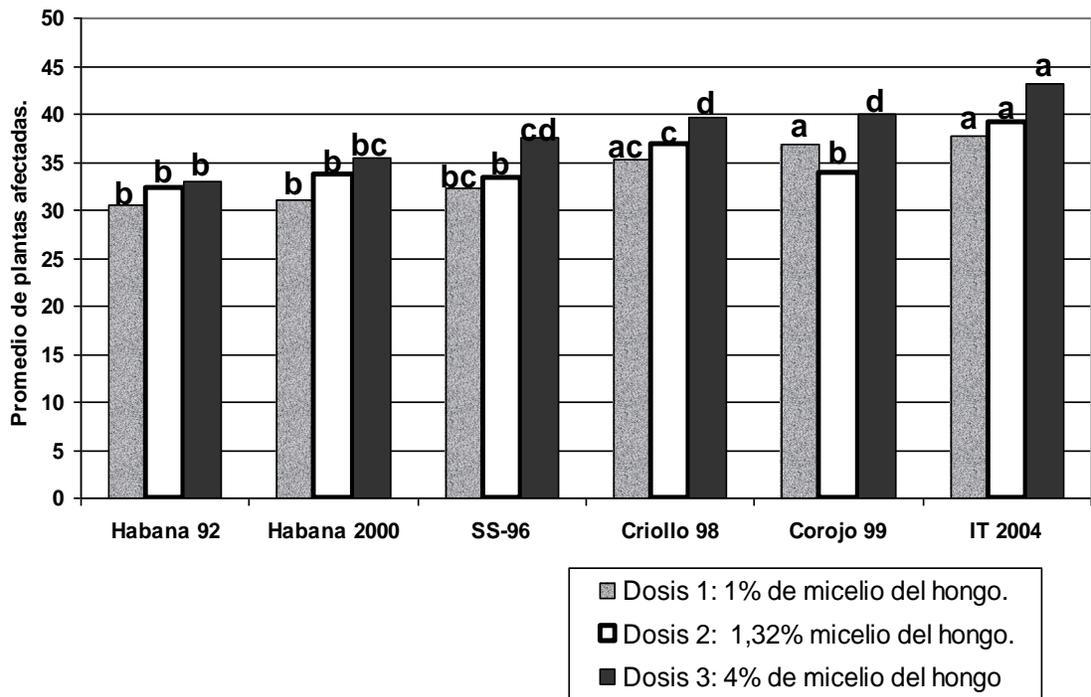
4.1.2. Inoculación del suelo:

En este ensayo las evaluaciones consistieron en apreciar las afectaciones de damping-off postemergente producidas por *R. solani* en la fase de germinación. Como se explico anteriormente en los materiales y métodos se utilizaron dos tipos de inóculo y en cada uno de ellos tres Dosis donde a continuación se exponen los resultados.

4.1.2.1 Inoculación al suelo con micelio del hongo.

El ensayo donde se realizó la inoculación al suelo con micelio del hongo el efecto que tiene el ataque de *R. solani* cuando se aplican las tres dosis estudiadas en cada una de las variedades como se observa en la Figura 2, podemos apreciar que en general a medida que aumentan las dosis, aumentan las afectaciones producidas por este patógeno. De las seis variedades estudiadas según los resultados obtenidos que aparecen en la Figura 2 podemos decir que cuando se aplican las tres dosis estudiada la variedad IT 2004 fue la que mayor cantidad de plantas afectadas tuvo en las tres dosis estudiadas, en orden decreciente se encuentra Corojo 99, Criollo 98 seguida de SS-96, Habana 2000 y Habana 92.

Figura 2: Promedio de plantas afectadas por damping-off postemergente producido por *R. solani* de las variedades en las diferentes dosis en las que se utilizó como inóculo el micelio.



Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

En este ensayo de inoculación al suelo utilizando como inóculo los micelios del hongo las evaluaciones consistieron en contar la cantidad de afectaciones producidas por el hongo durante la germinación donde se observa que dentro del grupo de variedades estudiadas cuando se aplican las diferentes dosis hay diferencias significativas en al menos una de las variedades.

En la Figura 2 se observa la formación de varios subconjuntos homogéneos los que fueron obtenidos mediante Duncan en cada una de la dosis los cuales se ilustran a continuación.

Dosis 1: se agrupaban en tres subconjuntos homogéneos (**a**, **b** y **c**) para $p < 0.05$ (Anexo 2). El subconjunto **a** estaba conformado por la Corajo 99, IT2004 y Criollo 98 con una significación de 0.115; el subconjunto **b** por la Habana 92, Habana 2000 y SS-96 con una significación de 0.327 y el subconjunto **c** por la Criollo 98 y SS-96 con significación de 0.058.

Desde el punto de vista estadístico no hay diferencia significativa entre las variedades que conforman cada subconjunto homogéneo; pero en el caso particular la variedad Criollo 98

se encuentran formando dos grupos (**a** y **c**) y la SS-96 en los grupos (**b** y **c**) ya que poseen algún grado de similitud con el resto de las variedades que conforman ambos grupos.

Dosis 2: se agrupaban en tres subconjuntos homogéneos (**a**, **b** y **c**) para alfa igual a 0.05 (Anexo 2). El subconjunto **a** estaba conformado por la IT2004 con una significación de 1.0; el subconjunto **b** por la Corojo 99, Habana 2000, Sancti Spiritus 96 y la Habana 92 con significación de 0.147 y el subconjunto **c** por la Criollo 98 con una significación de 1.0.

Dosis 3: se agrupaban en cuatro subconjuntos homogéneos (**a**, **b**, **c** y **d**) para alfa igual a 0.05 (Anexo 2). El subconjunto **a** estaba conformado por la IT2004 con una significación de 1.0; el subconjunto **b** por la Habana 92, Habana 2000 con una significación de 0.54; el subconjunto **c** por la Habana 2000 y SS-96 con significación de 0.76 y el subconjunto **d** por la Habana 2000, Corojo 99, y Criollo con significación de 0.66

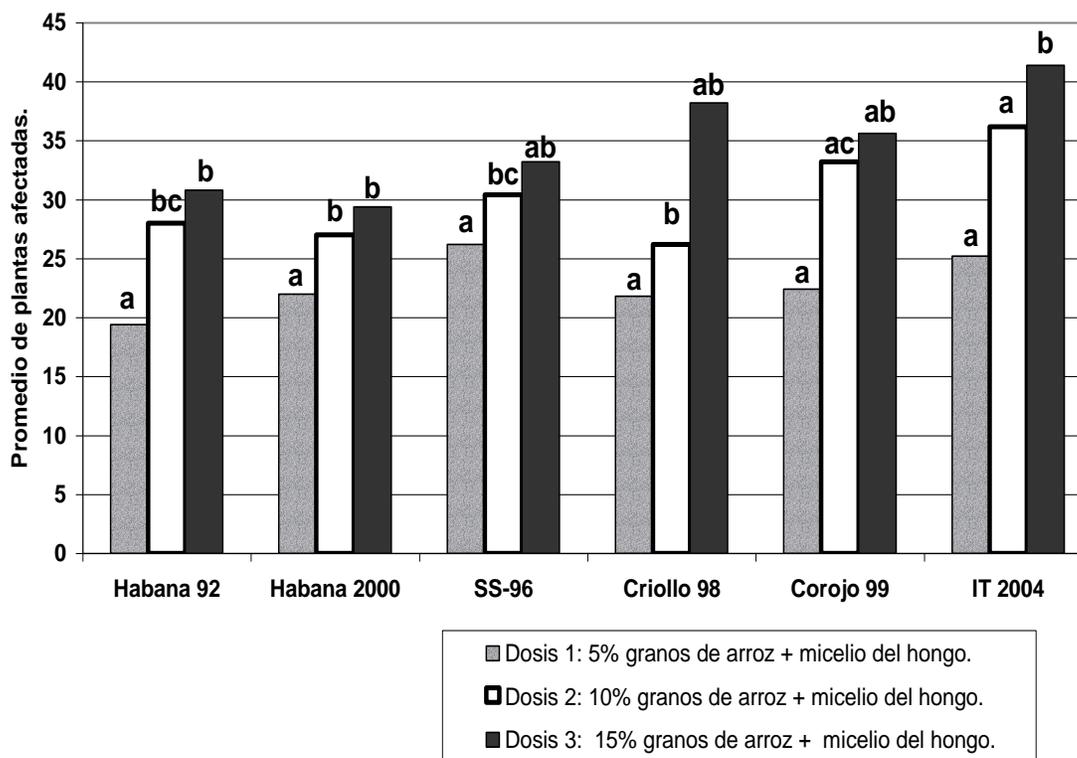
Desde el punto de vista estadístico no hay diferencia significativa entre las variedades que conforman cada subconjunto homogéneo; pero en el caso particular la variedad SS-96 se encuentran en dos grupos (**c** y **d**) y la Habana 2000 en los grupos (**b** y **c**) ya que posee algún grado de similitud con el resto de las variedades que conforman ambos grupos.

4.1.2.2 Inoculación al suelo con granos de arroz + micelio del hongo.

Los resultados obtenidos en la utilización de este tipo de inóculo (granos de arroz + hongo) constituyen estudios primarios en este cultivo.

En los resultados obtenidos que aparecen en la Figura 3 se observa como en cada una de las variedades las afectaciones producidas por *R. solani* aumentan paulatinamente a medida se aumentan las dosis del inóculo

Figura 3: Promedio de plantas afectadas por dampig-off postemergente producido por *R. solani* de las variedades en las diferentes dosis en las que se utilizó como inóculo los granos de arroz + hongo.



Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

Cuando se aplica la Dosis 1, se observa que todas las plantas fueron afectadas sin diferencias significativas entre ellas (significación de 0.305). Los valores promedios de cada variedad se encuentra en el Anexo 3.

El la Dosis 2 se pudo apreciar que dentro del grupo de variedades estudiada existen diferencias significativas entre ellas (significación de 0.04). En la Figura 3 podemos apreciar que cuando se aplica esta dosis la variedad mas afectada es la IT 2004 en orden decreciente se encontraban la Corajo 99, SS-96, seguida Habana 92, Habana 2000 y Criollo 98 se ubican en esta dosis podemos observar la formación de tres subconjuntos homogéneos en los que se encontraban las variedades Habana 92, SS-96 y Corajo 99 que eran comunes en algunos grupos los cual se debe a la similitud que existir entre ellas.

En este ensayo las evaluaciones consistieron en las afectaciones producidas por el hongo durante la germinación donde se observa que en las dosis utilizando la Dosis 3 representada en la Figura 2, desde el punto de vista estadístico existen diferencias significativas entre cada una de las variedades estudiada. Se observa que la variedad más

afectada fue IT 2004 seguida en orden decreciente la Criollo 98, Corojo 99, Sancti Spiritus 96, Haban 92, Habana 2000.

Valoración entre los métodos de inoculación al suelo utilizado.

En la inoculación al suelo en ambos ensayos utilizados se puede observar en cuanto a los resultados que los valores de las afectaciones producidas por *R.solani* son muy similares. En cuanto a la estabilidad en el ensayos donde se aplico como inóculo granos de arroz + micelio del hongo se puede ver que las variedades se comportaron mas estables no así en la inoculación con micelio solamente donde la variedad Corojo 99 en la Dosis 2 no se comporto de forma creciente como el resto de las variedades.

Haciendo una comparación de ambos ensayos utilizados en la inoculación al suelo se puede decir que el inóculo granos de arroz + micelio de hongo tiene mayor estabilidad. El micelio del hongo coloniza los granos de arroz que sirven como vehiculo garantizando una mayor supervivencia, favoreciendo que el inóculo se mantenga vivo por mucho mas tiempo cuando se aplica, al regar se puede lograr una mayor homogeneidad, es mas estable y su producción es mucho mas fácil.

Efectividad de los dos ensayos de inoculación (directa en plántulas y al suelo) de *R. solani*.

Cada uno de estos ensayos nos permite evaluar por separado diferentes estadios de la plántula.

En el caso específico de la inoculación directa en plántulas se observa el efecto directo del hongo sobre la planta es decir, la relación planta-patógeno, este estudio es más detallado, se utiliza para aquellas investigaciones donde se desea conocer la respuesta exacta de la misma por ejemplo se puede utilizar en segregaciones de un genotipo. Se observa el efecto de la corteza de la raíz y del tallo en la que se ha alcanzado determinadas características anatómicas y morfofisiológicas que formaran un mecanismo de defensa propio de la planta permitiendo evaluar la reacción de la misma frente al patógeno.

5. Conclusiones.

1. Se obtuvo una respuesta diferencial ante *R. solani* en la inoculación directa a plántulas las variedades estudiadas, siendo la Sancti Spiritus 96 la de mayor afectación y el resto mostró un comportamiento similar.
2. En ambos métodos de inoculación al suelo se obtuvo una respuesta similar de plantas afectadas, no obstante, el empleo de granos de arroz permite realizar ensayos a mayor escalado.
3. En el grupo de variedades estudiadas en la inoculación al suelo la IT 2004 resultó ser la más afectada por *R. solani*.
4. Los valores promedios de los daños obtenidos en la inoculación directa a plántulas se encontró en el rango 0.14 a 1.26 cm y en la inoculación del suelo el rango fue de 19 a 41.4 plantas afectadas.
5. La respuesta de estas seis variedades comerciales de tabaco cultivadas actualmente en nuestro país frente a *R. solani* constituye un estudio primario realizado en esta temática.
6. Estas metodologías permiten evaluar material genético de los programas de mejoramiento ante este patógeno.

6. Recomendaciones.

1. Continuar evaluando variedades de tabaco del Banco de germoplasma para obtener mayor información.

2. Perfeccionar el método con la utilización de más dosis para evaluar la respuesta de las plantas ante el ataque de *R. solani*.
3. Determinar los factores involucrados presentes en las variedades que determinan la reacción ante este patógeno.

Referencias bibliograficas.

- Agrios, G. 1991. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 756 pag.
- Cook, H.1906. Primer informe de la Estación Central Agronómica de Cuba 1^o de Abril de 1904 – 30 de Junio de 1905. La Habana. Imprenta y papelería La Universal. 202 pag.
- Davey, C; Papavizas, G. 1962. Comparison of methods for isolating *R. solani* from soil. Cann J. Microbiol. 8:847.853.
- Durbin, R. 1959. Factors affecting the vertical distribution of *Rhizoctonia solani* Kuhn and *Fusarium solani* Snyder and Hansen in the roting of potato tubers. Ann. Bot, N. S. 22:399-416.
- Herrera, L. Camara, M; Galantai, E. 1988. Biotecnología y Métodos de Lucha contra Hongos Fitopatógenos del Suelo en Cuba II.UCLV. 112 pag.
- Lucas, G. 1965. Enfermedades del tabaco. Ediciones Revolucionarias. Instituto del Libro. La Habana. 711pag.
- Menzies, J. 1970. The first century of *Rhizoctonia solani*. Biology and Pathology *Rhyzictonia solani*. Univ. California press Berkeley. 3-5.
- Molot, P. Simone, S. Leroux, J. 1965. Influence of soil micro-organisms on *Rhizoctonia violacea*. Phytopathology. 55: 277-281.
- Papavizas, G; Davey, C. 1962. Isolation and pathogenicity of *Rhizoctonia* saprophyticall existing in soil. Phytopathology. 53: 834-840.
- Sinclair, J; Darrag, I; Burum, D. 1967. Systemic fungicide for control of soreshin of cotton seedlings. Belwide Cotton Prod. Res. Conf. Proc. 55pp.
- Windels, E. 1997. Carcaterización y patogenicidad de *Rhizoctonia solani* en la remolacha azucarera en Minesota. Plant Dis. 81(3): 245-249.

En la inoculación al suelo influyen sobre el hongo los factores del suelo como son microorganismos, pH entre otros. En este caso se evalúa la relación planta-patógeno-suelo.

En la revisión de la literatura sobre esta temática no permite comparar nuestros resultados, por lo que estos son estudios primarios no realizados anteriormente por otros investigadores en este cultivo.

Anexo 1: Promedio de las longitudes de las lesiones en cm producidas por *R.solani*.

Variedades	Promedio de las longitudes de las lesiones (cm)
Habana 92	0,14 a
IT 2004	0,42 a
Haban 2000	0,49 a
Crillo 98	0,56 a
Corojo 99	0,67 ab
SS-96	1,26 b

Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

Anexo 2: Promedio de plantas afectadas en la inoculación al suelo utilizando como inóculo los micelios del hongo en las tres dosis estudiadas.

Variedades	Promedio de plantas afectadas		
	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
Habana 92	30.6b	32.2b	33.0b
SS-96	32.2bc	33.4b	37.6cd
Habana 2000	31.0b	33.6 b	35.4bc
Corojo 99	37.8 ^a	33.8 b	39.6d
Criollo 98	35.2ac	36.8 c	40.0d
IT 2004	36.8 ^a	39.2a	43.2a

Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

Leyenda:

- **Dosis 1:** mezcla de 0.47g de inóculo (micelio) en 46.53g de suelo que representa un 1% de la masa total.
- **Dosis 2:** mezcla de 0.67g de inóculo (micelio) en 46.33g de suelo que representa un 1.32% de la masa total.

- **Dosis 3:** mezcla de 1.88g de inóculo (micelio) en 45.12g de suelo que representa el 4% de la masa total.

Anexo 3: Promedio de plantas afectadas en la inoculación al suelo utilizando como inóculo granos de arroz + hongo en las tres dosis estudiadas.

Variedades	Promedio de plantas afectadas		
	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
Habana 92	19.4a	28.0bc	29.4b
Habana 2000	21.8a	27.0b	30.8b
SS-96	22.0a	30.4bc	33.2ab
Corojo 99	22.4a	33.2ac	35.6ab
Criollo 98	25.2a	26.2b	38.2ab
IT 2004	26.2a	36.2a	41.4a

Promedios con letras no comunes, difieren por Duncan a ($p < 0.05$)

Leyenda:

- **Dosis 1:** mezcla de 2.35g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 44.65g de suelo que representa el 5% de la masa total.

- **Dosis 2:** mezcla de 4.7g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 42.3g de suelo que representa el 10% de la masa total.

- **Dosis 3:** mezcla de 7.05g de inóculo (granos de arroz + micelio) en 39.95g de suelo que representa el 15% de la masa total.