

Agresividad de aislamientos de *Phytophthora nicotianae* Breda Haan adaptados a la resistencia parcial del cultivar cubano de tabaco 'Criollo 2010'



CU-ID: 2247/v37n1e03

Aggressiveness of isolates of *Phytophthora nicotianae* Breda Haan adapted to partial resistance of the Cuban tobacco cultivar 'Criollo 2010'

Verónica Toledo Sampedro^{1*}, Angélica de la C. González Toledo², Rosmery Labrada Corós¹

¹Instituto de Investigaciones del Tabaco, San Antonio de los Baños, Artemisa, Cuba.

²Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue evaluar la agresividad de aislamientos de *P. nicotianae* adaptados a los genes de resistencia parcial del cultivar de tabaco 'Criollo 2010'. Se seleccionaron los aislamientos 931, 134 y P-1 de agresividad media y el aislamiento Lp de baja agresividad. Todos los aislamientos, excepto el P-1, se inocularon a los 15 días posteriores al trasplante y se reaislaron de las plantas enfermas para la obtención de la próxima generación de aislamientos. El procedimiento se realizó en casas de cultivo durante ocho generaciones, para luego comparar la agresividad entre ocho generaciones de cada uno de los aislamientos en el cultivar 'Criollo 2010'. En condiciones de laboratorio, los aislamientos obtenidos de la generación ocho (931-8 y 134-8) y sus aislamientos respectivos de la primera generación (931-1 y 134-1), se caracterizaron en cuanto a periodo de incubación, índice de severidad y longitud de la lesión en el tallo en plantas de 'Criollo 2010'. Se demostró que la agresividad aumentó durante el proceso de adaptación con diferencias significativas con los aislamientos no adaptados de *P. nicotianae*. Los aislamientos 931-8 y 134-8 obtenidos en la generación ocho mostraron los mayores valores de intensidad de ataque en el cultivar 'Criollo 2010'. En condiciones de laboratorio, los aislamientos 931-8 y 134-8 resultaron ser los más agresivos, cuando se compararon con sus aislamientos correspondientes a la primera generación. Los aislamientos adaptados se caracterizaron por exhibir un periodo de incubación más corto, un aumento de la severidad y una mayor extensión de la necrosis en los tallos de las plantas.

Palabras clave: adaptación, resistencia inducida, agentes fitopatógenos, oomycetes.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the aggressiveness of *P. nicotianae* isolates adapted to the partial-resistance genes of the tobacco cultivar 'Criollo 2010'. The isolates 931, 134, and P-1 of moderate aggressiveness and the isolate Lp of low aggressiveness were selected. Except P-1, all isolates were inoculated 15 days after seedling transplantation and reisolated from diseased plants to obtain the next generation of isolates. The procedure was carried out in a greenhouse for eight generations, to then compare the aggressiveness among eight generations of each of the isolates in the cultivar 'Criollo 2010'. Under laboratory conditions, the isolates obtained from the eighth generation (931-8 and 134-8) and their respective isolates from the first generation (931-1 and 134-1) were characterized in terms of: incubation period, severity index, and length of the stem lesion on 'Criollo 2010' plants. Isolate aggressiveness was shown to increase significantly during the adaptation process if compared with that of not adapted isolates of *P. nicotianae*. Isolates 931-8 and 134-8 obtained in the eighth generation showed the highest attack intensity values in the cultivar 'Criollo 2010'. Under laboratory conditions, isolates 931-8 and 134-8 were the most aggressive when compared with their first generation isolates. The adapted isolates were characterized by exhibiting a shorter incubation period, an increase in severity, and a greater extent of necrosis in plant stems.

Key words: adaptation, induced resistance, phytopathogenic agents, oomycetes.

INTRODUCCIÓN

La pata prieta del tabaco, causada por el oomycete *Phytophthora nicotianae* Breda Haan, es una de las enfermedades más importantes del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) en el mundo. El uso de cultivares con altos niveles de resistencia es una excelente práctica de manejo para disminuir los altos costos que cada año se producen debido a las aplicaciones de fungicidas; además, brinda niveles de control ambiental, económica y socialmente aceptables (1).

En el tabaco, la resistencia completa a *P. nicotianae* es conferida por los genes *Php* y *Phl* de *Nicotiana plumbaginifolia* (Viv.) y *N. longiflora* (Cav), respectivamente. Estos genes confieren inmunidad a los aislamientos de la raza 0 de *P. nicotianae*; sin embargo, no protegen a las plantas contra los aislamientos de la raza 1 del patógeno (2). En la década de 1990, cuando se extendió el uso de los cultivares de tabaco con el gen *Php*, la raza 1 del patógeno tuvo una alta distribución e incidencia en las áreas tabacaleras de los Estados Unidos (3).

*Correspondencia a: Verónica Toledo Sampedro. E-mail: biologia@iitabaco.co.cu

Recibido: 15/07/2021

Aceptado: 07/12/2021

La resistencia parcial a la pata prieta del tabaco proviene de dos fuentes principales. La primera y más utilizada se deriva del tabaco Negro 'Florida 301', originada del cruce entre los cultivares de 'Little Cuba' y 'Big Cuba' (4). La resistencia parcial en 'Florida 301' está condicionada por 11 loci ligados a rasgos cuantitativos (QTL, del inglés *Quantitative Trait Loci*), con diferentes niveles de efectos contra todas las razas de *P. nicotianae*. El nivel de resistencia parcial, conferido por esta fuente de resistencia, varía de bajo a alto en las variedades comerciales, según el número y la expresión de los QTL incorporados. Se cree que la resistencia parcial en todas las variedades de tabaco cultivadas comercialmente en Estados Unidos se originó a partir de 'Florida 301' (5). Otra fuente potencial de resistencia parcial a la pata prieta es la variedad de tabaco Negro 'Beinhart 1000', aunque esta resistencia no se ha incorporado a otra variedad de tabaco comercial conocida (6). Cuando ocurre la adaptación del patógeno a los genes de resistencia parcial de los cultivares que la poseen, generalmente se describe como una erosión de la resistencia a lo largo del tiempo, en contraposición a una ruptura rápida de la resistencia completa (3). Los aislamientos de *P. nicotianae* superaron los genes de resistencia del cultivar 'Florida 301', después de inoculaciones continuas en este cultivar o cultivares que provenían del mismo (7).

Una búsqueda intensa y rigurosa en los ancestros de los cultivares comerciales de tabaco cubanos muestran que, probablemente, solo se introdujo en Cuba la resistencia parcial a la pata prieta que proviene de 'Florida 301'. Además, resultados moleculares evidenciaron que el gen *Php* no se introgresó como fuente de resistencia completa en los cultivares cubanos (8). Cuba posee resultados importantes con cultivares resistentes a esta enfermedad; sin embargo, luego de pocos años de explotación, la resistencia de estos cultivares disminuyó, lo que pudo provocar pérdidas importantes. Hasta el momento no se han realizado estudios que determinen las causas de las grandes afectaciones que se presentan en los cultivares resistentes cubanos, investigaciones que son requeridas para nuevos programas de mejoramiento genético.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la agresividad de aislamientos de *P. nicotianae*, luego de su adaptación a los genes de resistencia parcial del cultivar 'Criollo 2010'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron cuatro aislamientos de *P. nicotianae* de la colección de aislamientos perteneciente al Instituto de Investigaciones del Tabaco (IIT), conservados como cultivos puros en medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) (BioCen) a 15°C en una incubadora refrigerada (Selecta Holcold) a temperatura de 10°C en la oscuridad. Tal selección se realizó sobre la base del tipo de raza del patógeno y la patogenicidad, aspectos identificados tres meses antes de la presente investigación utilizando la metodología de Toledo (Tabla 1) (9).

Para obtener aislamientos adaptados a los genes de resistencia parcial del cultivar 'Criollo 2010', se desarrollaron semilleros en casa de cultivo a temperatura entre 27 a 28°C sobre sustrato de cachaza (10). Las medidas de riego y laboreo se realizaron según el Instructivo Técnico del Tabaco, pero sin aplicaciones de fungicidas (11). A los 30 días de edad, las plantas se trasplantaron de forma individual a bolsas negras de polietileno, que contenían 1,1 kg de suelo Ferralítico Rojo (12).

El inóculo de cada aislamiento fue reproducido previamente en sustrato de harina-arena, ajustando las concentraciones de todos los aislamientos para inocular por planta 3×10^4 unidades formadoras de colonias (contenidas en 1 ml en cada bolsa). Las inoculaciones se realizaron a los 15 días posteriores al trasplante. Para ello, se separó el suelo alrededor del tallo hasta ver las primeras raíces, sobre las cuales se añadió el inóculo (13).

Al quinto día de inoculadas, se seleccionaron las plantas que mostraron los síntomas de la enfermedad (marchitamiento y necrosis en la parte basal del tallo), para ser procesadas en el laboratorio. Para obtener las nuevas generaciones de los aislamientos en estudio, se tomaron pequeñas fracciones de la médula afectada de cada una de las plantas, se colocaron en placas Petri que contenían medio selectivo P₁₀ARP y se incubaron a 27°C, en la oscuridad (14).

Para la obtención de los cultivos monospóricos de los aislamientos, se hicieron suspensiones de zoosporas, depositando 1 ml en placas Petri que contenían medio de cultivo agar-agua (2 %) (15). Las placas se incubaron durante seis horas a 27°C, en la oscu-

Tabla 1. Procedencia y patogenicidad de los aislamientos de *P. nicotianae*. / Origin and pathogenicity of isolates of *P. nicotianae*

Aislamientos	Variedad de <i>N. tabacum</i>	Procedencia	Provincia	Raza y patogenicidad
931	'Criollo 98'	CCS Francisco Pérez, Las Minas	Pinar del Río	Raza 0 agresividad media
134	'Criollo 98'	Tabaco Tapado Estatal, Florencia	Santi Espíritu	Raza 0 agresividad media
P-1	'Criollo 98'	CCS Isidro de Armas	Pinar del Río	Raza 0 agresividad media
Lp	'Criollo 98'	Empresa Lázaro Peña	La Habana	Raza 0 agresividad baja

ridad. Posteriormente, las zoosporas germinadas se transfirieron a tubos de ensayos con medio PDA en cuñas, bajo un microscopio óptico Olympus (ZEISS) y 100x aumento. Después de completar el desarrollo de la colonia, los tubos de ensayos se conservaron a 10°C, en la oscuridad. Los aislamientos desarrollados de cada generación se utilizaron para inocular al mismo cultivar y repetir el procedimiento de selección. Este ciclo de inoculación y selección se repitió durante ocho generaciones consecutivas (16). Del aislamiento P-1 solo se obtuvo una generación, la que se utilizó para comparar la agresividad entre las ocho generaciones de los aislamientos 931, 134 y LP, al final del ensayo.

Para comparar la agresividad entre las generaciones, para cada uno de los aislamientos, se siguieron los procedimientos descritos anteriormente. Transcurridos 21 días de las inoculaciones, se extrajeron las plantas de las bolsas cuidadosamente y se realizaron cortes longitudinales en los tallos y las raíces de todo el material vegetal, para observar los síntomas de la enfermedad. La asignación de categorías de las plantas se efectuó a través de la escala de grados donde se asigna: grado 0= planta sana; grado 1= presencia de la enfermedad con afectación en raíz; grado 2= afectación en raíz y tallo; grado 3= afectación en raíz, tallo y hojas; grado 4= planta muerta.

Para el cálculo de la Intensidad media del ataque del patógeno se utilizó la fórmula de Townsend y Heuberger (17).

$$I = \left[\frac{\sum_{j=0}^j n_v \cdot v}{j \cdot N} \right] \cdot 100$$

donde:

I: Intensidad del ataque del patógeno (en %)

n_v: Total de plantas con grado v de la escala

v: Grado respectivo de la escala

N: Total de plantas evaluadas

j: Grado máximo de la escala

El experimento se realizó con un diseño completamente aleatorizado (20 plantas por cada generación de aislamientos). Los datos obtenidos se compararon por Análisis de Varianza de clasificación simple, modelo de efectos fijos y, para la comparación de las medias, se utilizó la prueba *a posteriori* de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) mediante el Programa estadístico SPSS versión 22.0 (18).

Al considerar los resultados del experimento anterior, se seleccionaron los aislamientos 931-8 y 134-8 obtenidos en la generación ocho y sus aislamientos correspondientes de la primera generación (931-1 y 134-1). En condiciones de laboratorio, se caracterizó su agresividad utilizando tres variables: periodo de incubación, severidad de la enfermedad y longitud de la lesión en el tallo. En el ensayo se incluyó, además, un aislamiento del patógeno identificado con el código (NC), proveniente del cultivar 'Criollo 2010' con infección natural en áreas de producción

de la Empresa "Lázaro Peña" de San Antonio de los Baños, Cuba, con afectaciones de 68 % de plantas enfermas.

Para la obtención del inóculo (zoosporas) se desarrollaron previamente los aislamientos en placas Petri con medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar (Biocen), durante siete días a 27°C, en oscuridad. Posteriormente, se transfirieron discos de agar de 5 cm de diámetro, conteniendo el micelio de cada aislamiento, de forma independiente a nuevas placas Petri con 10 ml de agua destilada estéril, para inducir la producción de esporangios. Las placas se incubaron en el laboratorio durante cinco días a 26°C, bajo luz constante. La liberación de las zoosporas se produjo cuando las placas que contenían los discos miceliales se incubaron a 4°C durante 1 h, seguido de la incubación a 28°C durante 30 min (15). La concentración de la suspensión de zoosporas se determinó en Cámara de Neubauer y se ajustó a 1 x 10³ zoosporas ml⁻¹. La inoculación en condiciones de laboratorio se realizó dos horas después de la recolección de zoosporas.

Se colocaron plántulas de 30 días de edad de 'Criollo 2010' en tubos de ensayos de 9 cm de largo y 3 cm de diámetro, que contenían 45 ml de agua destilada y 5 ml de la suspensión de zoosporas. Se consideró, además, un tratamiento control, en el cual los tubos de ensayos donde estaban las plantas solo contenían 50 ml de agua destilada. La cantidad de agua de cada tubo de ensayo se rectificó en días alternos, para mantener los 50 ml de agua. El experimento se incubó a 26°C y 80 % de humedad relativa con fotoperiodos alternos de 12 horas luz y 12 de oscuridad, durante 14 días.

Para determinar el periodo de incubación, las plantas se observaron aproximadamente a la misma hora todos los días para detectar la presencia de necrosis en la raíz y marchitez permanente, evaluando la presencia de síntomas a los 3, 5, 7, 9, 11 y 14 días (Tabla 2). Se consideró el periodo de incubación como el número de días transcurridos desde la inoculación hasta mostrar los primeros síntomas de necrosis en las raíces de las plantas. Teniendo en cuenta que no todas las plantas fueron sintomáticas, los valores se convirtieron en índice de severidad de la enfermedad utilizando la escala descrita por McCorkle *et al.* (16) (Tabla 2).

La longitud de la lesión necrótica en los tallos se evaluó a los 14 días, utilizando una regla graduada (mm); se midió desde la base hasta el extremo de la necrosis en el tallo (19).

El experimento se desarrolló con un diseño completamente aleatorizado, utilizando 10 plantas por aislamiento. Los valores medios de periodo de incubación, severidad de la enfermedad y longitud de las lesiones de cada uno de los aislamientos se compararon por Análisis de Varianza de clasificación simple, modelo de efectos fijos. Las medias obtenidas entre los aislamientos se compararon mediante la prueba *a posteriori* de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) a través del programa estadístico SPSS versión 22.0 (18).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislamientos 931-8 y 134-8 (obtenidos en la generación ocho) mostraron los mayores valores de intensidad de ataque. Estos aislamientos resultaron ser los más agresivos, al ser comparados con las primeras generaciones de aislamientos (Fig. 1 A y B); a partir de la segunda generación de aislamientos (931-2 y 134-2), fueron aumentando significativamente su agresividad.

Las primeras generaciones del aislado Lp (Lp-1, Lp-2 y Lp-3) no mostraron diferencias significativas

en la agresividad. A partir de la cuarta generación (Lp-4) se observó un ligero incremento y se alcanzaron valores de 28 % de intensidad de ataque en la última generación de aislamiento (Fig. 1C). Esto pudiera deberse a que el aislamiento Lp, clasificado como de baja agresividad, necesita mayor tiempo de exposición para ir seleccionando poblaciones más agresivas frente a cultivares altamente resistentes.

El aislamiento P-1, de agresividad media, al no estar sometido a las múltiples y continuas inoculaciones en 'Criollo 2010', mantuvo su agresividad al final del ensayo (Fig. 1D). La adaptación observada en las ge-

Tabla 2. Escala de índice de severidad considerando el período de incubación/ *Severity index scale considering the incubation period*

Días en que aparecen los primeros síntomas	Índice de severidad de la enfermedad
tres días	10
cinco días	8
siete días	6
nueve días	4
11 días	2
No síntomas a los 14 días	0

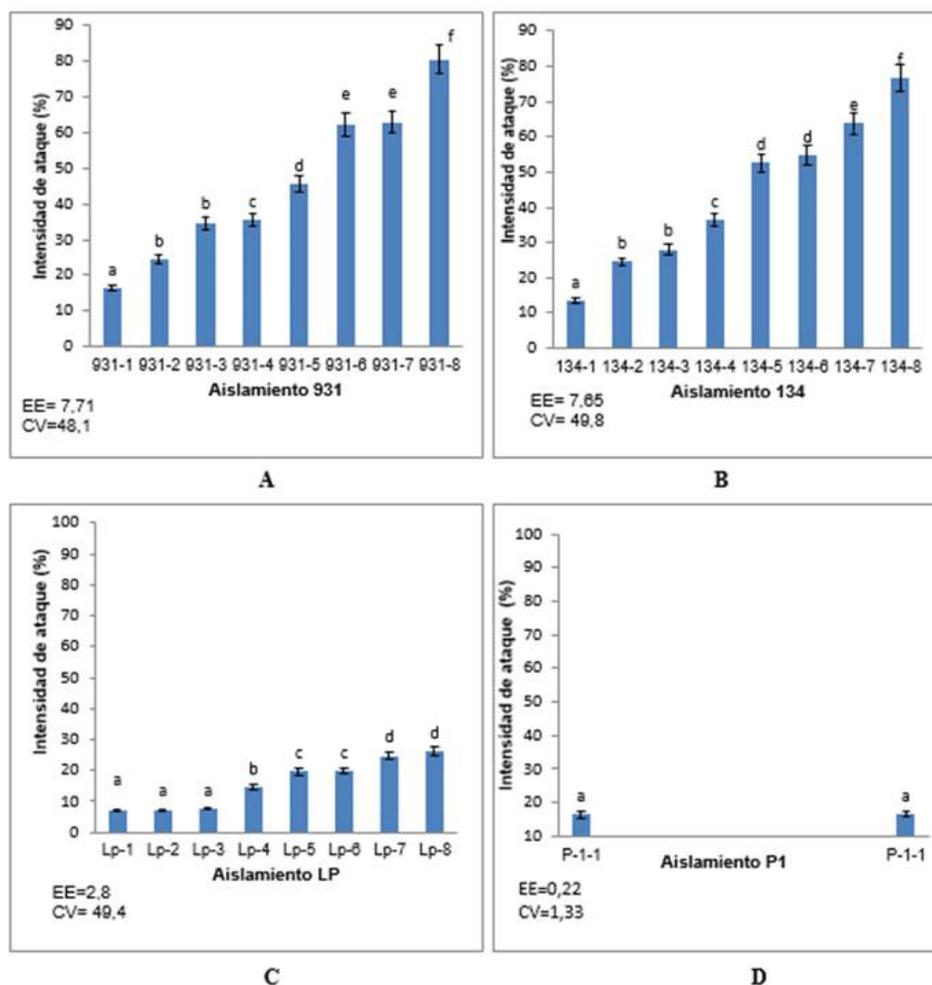


Figura. 1. Intensidad de ataque de los aislamientos de *P. nicotianae* luego de ocho generaciones de inoculaciones sucesivas en el cultivar 'Criollo 2010'. A - aislamiento 931, B - aislamiento 134, C - aislamiento LP y D - aislamiento P-1 (nunca fue reinoculado) / *Attack intensity of isolates after eight generations of successive inoculations on the cultivar 'Criollo 2010'. A - isolate 931, B - isolate 134, C - isolate Lp and D - isolate P-1 (never reinoculated)*

neraciones de aislamientos en el cultivar 'Criollo 2010' coincide con informes de otros autores que describen la adaptación de aislamientos de *P. nicotianae* cuando son expuestos continuamente a cultivares resistentes en condiciones de campo (16).

Todas las fuentes de resistencia para *P. nicotianae* ejercen presión de selección sobre el patógeno, lo que puede favorecer la adaptación y el establecimiento de nuevas razas o poblaciones con mayor agresividad sobre los genotipos resistentes (19). En los ensayos para lograr la adaptación de aislamientos de *P. nicotianae*, a diferentes fuentes de resistencia en condiciones de casas de cultivo, se demostró que los aislamientos, después de exposiciones continuas, vencieron la resistencia parcial de genotipos provenientes de 'Florida 301', 'Beinhart 1000' y la resistencia derivada de *N. rustica* (Wz) (16).

Los ensayos desarrollados en condiciones de laboratorio, utilizando los aislamientos adaptados de las generaciones (931-8 y 134-8), no mostraron diferencias significativas cuando se compararon con el aislamiento NC de *P. nicotianae* para el periodo de incubación, la severidad y la longitud de las lesiones en los tallos. Los mismos se caracterizaron por exhibir el periodo de incubación más corto (3,8 a 4,2 días), mostrar índices de severidad de la enfermedad más intensos y mayores longitudes de la necrosis en los tallos (6,9 a 7,5 cm). Los aislamientos parentales 931-1 y 134-1 manifestaron diferentes comportamientos con respecto a los aislamientos adaptados, con los periodos de incubación más largos, los valores más bajos de severidad de la enfermedad y las lesiones en los tallos no superaron a los 3 cm (Tabla 3).

Las diferencias observadas entre los aislamientos no adaptados y los adaptados, en cuanto a los parámetros evaluados, evidenciaron un aumento en la agresividad de los aislamientos durante el proceso de adaptación para vencer la resistencia parcial presente en el cultivar 'Criollo 2010'.

Los aislamientos de *P. nicotianae* adaptados a la resistencia parcial tuvieron mayores eficiencias de infección y producción de esporangios en las puntas de las raíces, así como un periodo de incubación más corto y causaron lesiones más extensas a lo largo de las plantas (20).

Entre las alternativas de control de la enfermedad pata prieta en el país se encuentra la siembra de cultivares altamente resistentes. Sin embargo, con frecuencia y cuando las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad, se producen cuantiosas pérdidas del cultivo. Nuevas acciones se deberán implementar para evitar que las poblaciones del patógeno se adapten a los nuevos cultivares resistentes. La pirimidización genética, donde se combinan diferentes fuentes de resistencia a *P. nicotianae*, las adecuadas secuencias de cultivares y la correcta rotación de cultivo serán alternativas efectivas para evitar que el patógeno se adapte a la resistencia parcial de los cultivares de tabaco en un corto periodo de tiempo.

Se demostró la habilidad de *P. nicotianae* para adaptarse a los genes de resistencia parcial del cultivar 'Criollo 2010', en condiciones de casas de cultivo. La agresividad aumentó durante el proceso de adaptación con diferencias significativas con los aislamientos no adaptados de *P. nicotianae*. Los aislamientos adaptados se caracterizaron por exhibir un periodo de incubación más corto, aumento de la severidad de la enfermedad y mayor extensión de la necrosis en los tallos de las plantas.

REFERENCIAS

- Gallup CA, Shew HD. Occurrence of race 3 of *Phytophthora nicotianae* in North Carolina, the causal agent of black shank of tobacco. Plant Dis. 2010; 94:557-562.
- Johnson ES, Wolff MF, Wernsman EA, Atchley WR, Shew HD. Origin of the black shank resistance gene, *Ph*, in tobacco cultivar Coker 371-Gold. Plant Dis. 2002; 86:1080-1084.
- Gallup CA, McCorkle KL, Ivors KL, Shew D. Characterization of the black shank pathogen, *Phytophthora nicotianae*, across North Carolina tobacco production areas. Plant Dis. 2018; 102:1108-114.
- Xiao B, Drake K, Vontimitta V, Tong Z, Zhang X, Li M. Location of genomic regions contributing to *Phytophthora nicotianae* resistance in tobacco cultivar Florida 301. Crop Sci. 2013; 53:473-481.

Tabla 3. Valores medios del periodo de incubación, severidad y longitud de la lesión en los tallos causada por los aislamientos de *P. nicotianae* en el cultivar 'Criollo 2010'. *Average incubation period, severity and progression of stem lesion caused by P. nicotianae isolates on 'Criollo 2010' cultivar*

Aislamientos	Periodo de incubación (días)	Valor medio de severidad de la enfermedad	Longitud de la lesión (cm)
931-8	4,2 a	8,8 a	7,2 a
134-8	3,8 a	9,3 a	6,9 a
NC	4 a	9 a	7,5 a
931-1	7,2 b	5,8 b	2,7 b
134-1	6,8 b	6 b	3 b
Error Estándar	2,87	2,76	1,68
Coefficiente de Variación	7,77	7,65	2,83

5. Vontimitta V, Lewis RS. Mapping of quantitative trait loci affecting resistance to *Phytophthora nicotianae* in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) line Beinhart-1000. Mol. Breed. 2012; 29:89-98.
6. Vontimitta V, Lewis RS. Growth chamber evaluation of a tobacco 'Beinhart 1000'×'Hicks' mapping population for quantitative trait loci affecting resistance to multiple races of *Phytophthora nicotianae*. Crop Sci. 2012; 52:91-98.
7. McCorkle KL, Drake-Stowe K, Lewis RS, Shew D. Characterization of *Phytophthora nicotianae* resistance conferred by the introgressed *Nicotiana rustica* region, *Wz*, in flue-cured tobacco. Plant Dis. 2018; 102:309-317.
8. Martínez J, Castro M, Toledo V, González A. El gen *Php* no es una fuente de resistencia en el tabaco cubano. Cultivos Tropicales. 2019; 40(1):a12-e12.
9. Toledo V. Metodología para la diferenciación de la raza 1 y los tres grupos patogénicos de la raza 0 en los aislamientos de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan del tabaco en Cuba. Cuba Tabaco. 2009; 10(1):67-71.
10. Espino E, López M. "Criollo 2010": Nuevo híbrido androestéril de tabaco negro cubano (*N. tabacum* L.) con posibilidades comerciales en Cuba. Cuba Tabaco. 2013; 14 (1):47-52.
11. MINAG, Ministerio de la Agricultura, Cuba. Instructivo técnico para el cultivo del Tabaco en Cuba, Ed. Instituto de Investigaciones del Tabaco, Artemisa. 2012; 148 pp.
12. Pérez J, Bosh D, Rivero L. Nueva versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba, Instituto de Suelos, 64 pp, AGRINFOR, La Habana, 1999.
13. Toledo V, González A. Determinación de la densidad de inóculo e identificación racial de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan en los suelos de la Empresa Tabacalera "Lázaro Peña" Cuba Tabaco. 2017; 18 (2):42-48.
14. Kannwischer M, Mitchell D. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. (abstr.). Pro. Ann. Phytopathol. Soc. 1978; 3:338.
15. Taylor GS. Rapid production of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* zoospores in vitro from infested cloth. Plant Dis. Rep. 1978; 62:281-282.
16. McCorkle KL, Lewis RS, Shew HD. Adaptation of *Phytophthora nicotianae* to multiple sources of partial-resistance genes in tobacco. Phytopathology. 2016; 106:76-85.
17. González A, Toledo V. Evaluación de fuentes de resistencia del género *Nicotiana* frente a aislamientos cubanos de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan. Rev. Protección Veg. 2019; 34 (1):1-7.
18. SPSS versión 22., Brief guide. Disponible en línea en: http://www.sussex.ac.uk/its/pdfs/SPSS_Brief_Guide_22.pdf. Último acceso 20 de septiembre 2019.
19. Sullivan MJ, Parks EJ, Cubeta MA, Gallup CA, Melton TA, Moyer JW. An assessment of the genetic diversity in a field population of *Phytophthora nicotianae* with a changing race structure. Plant Dis. 2010; 94:455-460.
20. Jin J, Shi R, Lewis RS, Shew HD. RNAseq Reveals Differential Gene Expression Contributing to *Phytophthora nicotianae* Adaptation to Partial Resistance in Tobacco. Agronomy. 2021; 11 656: 1-29 <https://doi.org/10.3390/agronomy11040656>

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Verónica Toledo:** concibió la idea y planificó los tratamientos para la investigación. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación, en la recolección de los datos. Participó en el análisis de los resultados y redacción del borrador del artículo y la revisión crítica de su contenido y en la aprobación final. **Angélica González:** participó en las pruebas realizadas para evaluar los resultados. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación, en la recolección de los datos. Participó en la redacción del artículo y la revisión de su contenido. **Rosmery Labrada Corós:** colaboró en la investigación. Participó en los ensayos realizados para evaluar los resultados. Participó en la búsqueda de información, y en la revisión del artículo.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)