



COMUNICACIÓN BREVE

## El patosistema *Solanum lycopersicum* - *Cladosporium fulvum* en las condiciones de cultivo protegido tropical en Cuba

### The *Cladosporium fulvum* - *Solanum lycopersicum* pathosystem in tropical protected cultivation conditions in Cuba

Alexander Bernal Cabrera<sup>1\*</sup> , Lidcay Herrera Isla<sup>1</sup> , Benedicto Martínez Coca<sup>2</sup> , Belkis Peteira Delgado<sup>2</sup> , Michel Leiva Mora<sup>3</sup> , Yosbel Lazo Roger<sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 54830

<sup>2</sup> Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Departamento de Protección de Plantas, Carretera a Tapaste y Autopista Nacional km 22½, San José de las Lajas, Cuba

<sup>3</sup> Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Biotecnología, Cantón Cevallos vía a Quero, sector el Tambo-la Universidad, 1801334, Cevallos, Tungurahua, Ecuador

<sup>4</sup> Centro de Gestión Internacional de Capacitación y Postgrado, El Carmen, Manabí, Ecuador

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 22/10/2020  
Aceptado: 17/12/2020

#### CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no existir conflictos de intereses.

#### CORRESPONDENCIA

Alexander Bernal Cabrera  
alexanderbc@uclv.edu.cu



#### RESUMEN

El moho de las hojas, causado por el hongo *Cladosporium fulvum* (sin. *Passalora fulva*), es una enfermedad muy común y destructiva en el cultivo del tomate bajo invernadero en el mundo. El objetivo del trabajo fue caracterizar cultural, patogénica y molecularmente una población de 36 aislamientos de *C. fulvum* procedentes de diferentes localidades del país. Los resultados de caracterización cultural mostraron que los aislamientos de *C. fulvum*, mantienen características culturales homogéneas que no guardan relación con la variabilidad patogénica. Desde el punto de vista patogénico se demostró la presencia de cepas de *C. fulvum* que pueden vencer el gen de resistencia *Cf-9*, resultado que se confirmó a través de la no amplificación del gen *Avr9*. Estos son los primeros resultados en el país sobre *C. fulvum* donde se combinan tres de los aspectos más importantes que caracterizan la variabilidad de este hongo fitopatógeno.

**Palabras clave:** genes *Cf*, genes *Avr*, moho de la hoja, tomate

#### ABSTRACT

Leaf mold, caused by the fungus *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), is a very common and destructive disease in

greenhouse tomato cultivation in the world. The objective of the work was to characterize culturally, pathogenetically and molecularly a population of 36 isolates of *C. fulvum* from different localities of the country. The results of cultural characterization showed that *C. fulvum* isolates maintain homogeneous cultural characteristics that are not related to pathogenic variability. From a pathogenetic point of view, the presence of *C. fulvum* strains that can overcome the *Cf-9* resistance gene was demonstrated, a result that was confirmed through the non-amplification of the *Avr9* gene. These are the first results in the country on *C. fulvum* where three of the most important aspects that characterize the variability of this phytopathogenic fungus are combined.

**Keywords:** *Cf* genes, *Avr* genes, leaf mould, tomato

El moho de la hoja, causado por el hongo *Cladosporium fulvum* Cooke, es una enfermedad muy común y destructiva en el cultivo y ha llegado a convertirse, en nuestro país, en el principal problema fúngico que incide en estas instalaciones de cultivo protegido, sobre todo en la época de primavera-verano (Bernal *et al.*, 2020); aunque ocasionalmente aparece en campos de tomate en condiciones húmedas.

La interacción entre *C. fulvum*- tomate ha sido estudiada por diversos investigadores durante varias décadas del siglo pasado hasta la actualidad y se considera un sistema modelo en fitopatología molecular para estudiar las relaciones gen a gen (de Wit, 2016; Kourelis y van der Hoorn, 2018).

El objetivo del trabajo fue caracterizar cultural, patogénica y molecularmente una población de 36 aislamientos de *C. fulvum* procedentes de diferentes localidades del país.

Los aislamientos usados en los estudios son representativos de las tres regiones del país (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cantidad de aislamientos usados en el estudio por región del país

Región	Número de aislamientos
Occidental	8
Central	19
Oriental	9

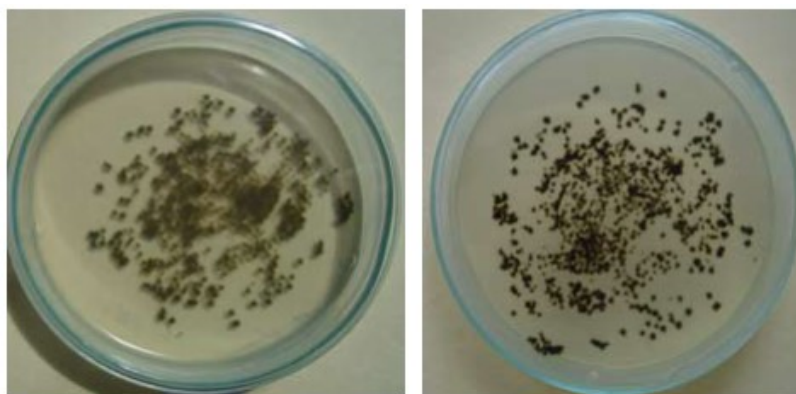
La caracterización cultural de los aislados de *C. fulvum* se realizó en medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA, Difco) a temperatura de 25°C y oscuridad durante 14 días. Se evaluaron los caracteres morfológicos cualitativos y

cuantitativos: color de la colonia, textura superficial, forma de los bordes, apariencia del reverso y diámetro de la colonia, según los procedimientos descritos por Bernal (2007). Para la identificación de las razas fisiológicas de *C. fulvum* se inocularon los aislados descritos anteriormente y el aislado raza 0 (R-0; control de referencia) (Tabla 1) sobre líneas isogénicas, cercanas del cultivar susceptible Moneymaker (MM) que portan genes individuales de resistencia, MM-*Cf-0*, MM-*Cf-2*, MM-*Cf-4*, MM-*Cf-5* y MM-*Cf-9* al moho de las hojas. Este experimento se realizó en casas de cristal. La obtención del inóculo, inoculación y criterio de evaluación se realizó según los procedimientos descritos por Thomma *et al.* (2005).

La amplificación del gen de avirulencia *Avr9*, se realizó mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El programa de PCR consistió de un paso de desnaturalización inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido por 34 ciclos de desnaturalización a 94 °C (30 segundos), hibridación a 55 °C (30 segundos) y extensión a 72 °C (1 minuto). Un paso de extensión final a 72 °C por 7 minutos concluyó la reacción (Stergiopoulos *et al.*, 2007).

Los aislados de *C. fulvum* no mostraron variaciones en los caracteres culturales en el medio de cultivo PDA. Las colonias presentaron color oliváceo, textura afelpada, bordes irregulares y color del reverso negro (Figura).

Estas características de las colonias coincidieron con las notificadas para la especie. En general, el nivel de especialización encontrado dentro de la población de *C. fulvum* no está relacionado con las características culturales.



**Figura.** Colonias de *C. fulvum* en el medio de cultivo PDA a las dos semanas de cultivo

La Tabla 2 muestra los resultados del estudio de identificación de razas. Como se observa las líneas diferenciadoras MM-Cf-0 y MM-Cf-9 fueron susceptible a todos los aislamientos del hongo patógeno; mientras que las líneas de tomate MM-Cf-2, MM-Cf-4 y MM-Cf-5 mostraron resistencia.

De acuerdo a los resultados, se detecta por primera vez la raza 9 de *C. fulvum*. Estos hallazgos sugieren que los híbridos de tomate utilizados en las provincias cubanas pueden carecer del gen de resistencia Cf-9 o que la población del patógeno puede carecer del gen *Avr9*.

En el mundo se ha informado que *C. fulvum* causa grandes pérdidas económicas en el tomate cultivado bajo invernadero en comparación cuando se cultiva a campo abierto. En Europa, Canadá y Japón, la mayoría de los híbridos de tomate portan múltiples genes de resistencia Cf que previenen brotes graves de la enfermedad, aunque a veces pueden desarrollarse nuevas razas (Iida *et al.*, 2015; de Wit, 2016).

La presencia de la raza 2 se ha documentado en Argentina, lo que sugiere que el gen de resistencia Cf-2 se ha utilizado en híbridos de tomate (Medina *et al.*, 2015).

Una solución para limitar los brotes de epifitias del mohó de la hoja del tomate es la introducción de múltiples genes de resistencia Cf (Mesarich *et al.*, 2017). Una pirámide de múltiples genes Cf en los híbridos cubanos de tomate proporcionaría un nivel más duradero de resistencia a la enfermedad.

## CONTRIBUCIÓN DE CADA AUTOR

**Alexander Bernal Cabrera:** concibió la idea de la investigación. Realizó contribuciones en el análisis e interpretación de los datos. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación, en la recolección de los datos. Realizó pruebas para evaluar los resultados. Participó en el análisis, revisión y redacción del manuscrito final.

**Tabla 2.** Respuesta de las líneas diferenciadoras de tomate frente a los aislamientos de *C. fulvum*

Región	Número de de aislados	Líneas de tomate/Genes de resistencia				
		MM-Cf-0	MM-Cf-2	MM-Cf-4	MM-Cf-5	MM-Cf-9
Occidental	8	S	R	R	R	S
Central	19	S	R	R	R	S
Oriental	9	S	R	R	R	S
Netherlands	1 (Raza 0)	S	R	R	R	R

Leyenda: Susceptible (S), Resistente (R)

**Lidcay Herrera Isla:** concibió la idea de la investigación. Colaboró en el diseño de la investigación. Participó en la búsqueda de información. Participó en el análisis e interpretación de los resultados

**Benedicto Martínez Coca:** participó en el diseño de la investigación. Participó en el análisis de los resultados y la revisión crítica del contenido del manuscrito para la aprobación final.

**Belkis Peteira Delgado:** colaboró en la investigación. Participó en la búsqueda de información, en el diseño de la investigación.

**Michel Leiva Mora:** participó en la búsqueda de información. Participó en el análisis de los resultados y la revisión crítica del contenido del manuscrito para la aprobación final.

**Yosbel Lazo Roger:** participó en el procesamiento estadístico de los datos e interpretación de los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

- BERNAL, A. 2007. Caracterización de aislados de *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous provenientes de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de cultivo protegido. Tesis presentada en Opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, 71pp.
- BERNAL, A., INFANTE, D., MARTÍNEZ, B., *et al.* 2020. First report on the occurrence of *Cladosporium fulvum* strains in Cuba that can overcome the Cf-9 resistance gene. *Revista de Protección Vegetal*, 35(1).
- De Wit, P. J. G. M. 2016. *Cladosporium fulvum* effectors: weapons in the arms race with tomato. *Annual Review of Phytopathology*, 54: 1-23.
- IIDA, Y., VAN'T HOF, P., BEENEN, H., *et al.* 2015. Novel mutations detected in avirulence genes overcoming tomato Cf resistance genes in isolates of a Japanese population of *Cladosporium fulvum*. *PloS one*, 10 (4), e0123271.
- KOURELIS, J., VAN DER HOORN, R. A. 2018. Defended to the Nines: 25 years of Resistance Gene Cloning Identifies Nine Mechanisms for R Protein Function. *The Plant Cell*, tpc-00579.
- MEDINA, R., LÓPEZ, S. M. Y., FRANCO, M. E. E., *et al.* 2015. A survey on occurrence of *Cladosporium fulvum* identifies race 0 and race 2 in tomato-growing areas of Argentina. *Plant Disease*, 99: 1732-1737.
- MESARICH, C. H., ÖKMEN, B., ROVENICH, H., *et al.* 2017. Specific Hypersensitive Response-Associated Recognition of New Apoplastic Effectors from *Cladosporium fulvum* in Wild Tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(1): 145-162.
- STERGIOPOULOS, I., DE KOCK, M. J., LINDHOUT, P., DE WIT, P. J. 2007. Allelic variation in the effector genes of the tomato pathogen *Cladosporium fulvum* reveals different modes of adaptive evolution. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20 (10): 1271-1283.
- THOMMA, B. P. H. J., VAN ESSE, H. P., CROUS, P. W., DE WIT, P. J. G. M. 2005. *Cladosporium fulvum* (syn. *Passalora fulva*), a highly specialized plant pathogen as a model for functional studies on plant pathogenic Mycosphaerellaceae. *Molecular Plant Pathology*, 43:452-485.



Artículo de libre acceso bajo los términos de una *Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional*. Se permite, sin restricciones, el uso, distribución, traducción y reproducción del documento, siempre que la obra sea debidamente citada.