

Nuevos conocimientos sobre el manejo de *Phytophthora* en el trópico*

New Insights into Managing *Phytophthora* in the Tropics

CITACIÓN: Wallace, S. (2016). Nuevos conocimientos sobre el manejo de *Phytophthora* en el trópico. *Palmas* 37(Especial Tomo I), pp. 115-118.

PALABRAS CLAVE: *Phytophthora*, plagas, enfermedades.

KEYWORDS: *Phytophthora*, pests, diseases.

*Artículo original recibido en inglés y traducido por Adriana Arias de Hassan.



SYDNEY WALLACE

Director de infraestructura de invernadero, Universidad de Maryland
Plant Growth Facilities Manager,
University of Maryland
swallac1@umd.edu

Resumen

El manejo de enfermedades causadas por *Phytophthora* en el trópico se torna complicado debido a las condiciones ambientales propicias para el desarrollo del patógeno. La correcta identificación a nivel de especies y la determinación de la etiología de la enfermedad constituyen dos factores principales que siguen siendo un reto en los ecosistemas tropicales. En nuestros estudios de referencia en los bosques tropicales de Costa Rica, Perú y Granada, además de las especies conocidas (por ejemplo, *P. palmivora*, *P. capsici* y *P. hevea*), se han identificado algo más de 20 nuevas especies. Las adaptaciones de nicho encontradas demuestran que algunas especies se desarrollan mejor en las partes aéreas de las plantas, mientras que otras prefieren ambientes acuáticos o el suelo. Los bosques tropicales de transición tuvieron la mayor diversidad de especies. Estos bosques son un reservorio importante para especies que presentan alto grado de patogenicidad y la principal fuente de especies de *Phytophthora* emergentes. La selección de los sitios de siembra y las prácticas de saneamiento, considerando la biología de las especies y la diversidad, seguirán siendo las herramientas de manejo más importantes para *Phytophthora* en el trópico.

Abstract

Managing *Phytophthora* in the tropic is challenging due to the rainy conducive environment. Correct species identification and determining the etiology of the disease have been two major components that continue to be challenging in tropical ecosystems. In our base line surveys in tropical forests of Costa Rica, Peru and Granada, besides the well-known species (e.g. *P. palmivora*, *P. hevea* and *P. capsici*) over 20 new species have been identified. Niche adaptations also exist, demonstrating that some species prefer an airborne biology whereas others are primarily waterborne or terrestrial. In addition, transitional tropical forests have the greatest species diversity. These forests represent a major reservoir for species of concern and the main source of emerging *Phytophthora*. Choosing plantation sites and sanitation practices considering the species biology and diversity will continue to be the most significant management tool for *Phytophthora* in the tropic.

□

Introducción

En la actualidad el comercio global de productos y recursos naturales exclusivos de distintas partes del mundo ocurre a una velocidad asombrosa. A pesar de los beneficios, la creciente globalización y el aumento del comercio internacional pueden abrir las puertas para la introducción y la diseminación de nuevas plagas y enfermedades exóticas que pueden dañar seriamente nuestros ecosistemas nativos, los cultivos agrícolas y posiblemente también la salud humana (Brasier, 2008, Liebhold y cols., 2012, Roy y cols., 2014). Son muchas las enfermedades que emergen en los bosques naturales y en las plantaciones a una velocidad cada vez mayor en el mundo entero (Aukema y cols., 2010). Probablemente las zonas tropicales sean las más vulnerables por la falta de recursos para efectuar estudios exhaustivos.

Entre los fitopatógenos, la especie *Phytophthora* surgió como un grupo de patógenos significativos de los ecosistemas naturales (Hansen, 2015). Por ejemplo, la *Phytophthora cinnamomi* causa casos severos de muerte de los eucaliptos comenzando en las hojas, y reduce la flora nativa de Australia. También se ha implicado en el diezmado de poblaciones de roble en la Europa mediterránea y en el noreste de Estados Unidos (Balci y cols., 2007). Más recientemente, el surgimiento del patógeno de la Muerte Súbita del Roble (*P. ramorum*) en la costa oeste de Estados Unidos, y la mengua del alerce (*Larix decidua*) en el Reino Unido son fenómenos que recalcan el papel destructivo de este grupo de fitopatógenos. El impacto devastador de la *P. ramorum*

en California ha motivado levantamientos sistémicos en los bosques y los viveros en busca de especies de *Phytophthora* de interés regulatorio. Sin embargo, estas investigaciones se hicieron principalmente en las zonas templadas (Balci y cols., 2007 y la bibliografía asociada), pero revelaron unos grupos endémicos y diseminados de especies de origen exótico.

Un reto que afrontamos con el manejo de los patógenos invasivos (por ejemplo, *Phytophthora*) es que casi todas las especies que producen deterioro de los bosques han sido desconocidas para la ciencia antes del brote. Esto se puede atribuir en gran medida a la falta de información y de estudios sobre la biodiversidad de los oomicetos y, en particular, la falta de levantamientos de fitopatógenos antes de que provoquen daños significativos. Por tanto, nuestro propósito fue explorar los ecosistemas nativos de Costa Rica para determinar la biodiversidad de las especies de *Phytophthora*. Nuestro objetivo fue generar conocimiento sobre la biodiversidad de este grupo extremadamente patogénico que básicamente no se ha explorado en los ecosistemas tropicales.

Materiales y métodos

Se seleccionaron 10 sitios en total para representar distintos tipos de bosque de los Parques Nacionales de Costa Rica. La primera visita de campo se realizó entre el 5 y el 15 de julio de 2012, y la segunda entre el 15 y el 25 de enero de 2013.

El muestreo se diseñó para explorar diferentes nichos ecológicos, entre ellos, ambientes aéreos, de suelos y acuáticos. El material de la muestra se tomó de cuatro fuentes distintas: 1) hojas de las plantas de menor estatura con lesiones necróticas, todavía adheridas a las plantas (LP); 2) hojas recién caídas del dosel con lesiones necróticas de color pardo oscuro (LF); 3) hojas sumergidas en agua con lesiones embebidas en agua (LS); 4) muestras de suelo recogidas alrededor de los árboles (S).

Los aislamientos se agruparon inicialmente utilizando la homología de secuencia con base en la región del separador interno transcrito (ITS, por sus siglas en inglés) del ADNr (con base en los ITS iniciadores 4 & 5; White y cols., 1990). Todos los aislamientos de los distintos grupos se analizaron para determinar las características morfológicas clave mediante una Lucid Key (Martin y cols., 2012). Cuando se encontró concordancia entre la morfología y la identificación de la secuencia basada en ITS no se hicieron secuenciaciones de *loci* adicionales. Los aislamientos en el interior de un grupo con identidad diversa de morfología y secuencia inferior a 99,9 % con respecto a cualquier secuencia de *Phytophthora* disponible en GenBank o las características morfológicas confirmatorias de la variación con respecto a las especies más próximas se consideraron posibles especies nuevas y se secuenciaron adicionalmente usando siete *loci* adicionales.

La clasificación se basó en observación y medición de las estructuras asexuales y sexuales tal como se indica en Martin y cols. (2012). Para calcular el promedio de variación de los tamaños se escogieron al menos 50 muestras. Se registró el patrón de crecimiento de las colonias en agar de dextrosa de papa (PDA) y en agar de jugo V8 clarificado (cV8A), y los requerimientos de la temperatura de cultivo (10 a 40 °C) utilizando cV8A (19 ml en una caja de Petri de 9 cm). Los requerimientos de temperatura de cultivo se repitieron dos veces con tres réplicas.

Resultados

Se recuperaron en total 417 aislamientos de *Phytophthora*. De esta colección, 257 provinieron de una fuente particular de material. Los 160 aislamientos

adicionales se identificaron como repeticiones y, por tanto, se excluyeron de la lista de la colección final (es decir, se identificó que los aislamientos eran de la misma especie derivada de la misma fuente de material). Los 257 aislamientos de *Phytophthora* se caracterizaron en 21 especies, entre ellas *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. cryptogea*, *P. hevea*, *P. macrochlamydozpora*, *P. palmivora*, *P. tropicalis*, *P. taxon* "PgChlamydo" y 13 especies nuevas. La descripción formal de los taxones nuevos se propone en otro artículo. El mayor número de aislamientos fue de *P. taxon* "Iagoariana" (aislamiento 40), seguido de *P. taxon* "sp1" (36).

La diversidad de las especies dependió del sitio del muestreo. En el sitio CR5 se descubrieron 15 especies. El contraste fue grande con los sitios CR3 y CR6-10, donde se aislaron entre 1 y 5 especies diferentes. Al agrupar los sitios por tipos de bosque, las tierras bajas de clima húmedo/seco (bosques de transición) presentaron la mayor diversidad de especies. Asimismo, en los sitios elevados de montaña (bosques nubosos) se encontró una mayor cantidad de especies diversas (por ejemplo, los sitios 1, 2, 3, 6). En los sitios en donde las condiciones de humedad persistían durante todo el año o donde predominaban los climas tropicales secos (por ejemplo, los sitios 4, 8, 7, 9, 10) la diversidad de las especies fue la más baja.

Ubicación filogenética

La *filogenia multilocus* ubicó las especies en siete ramificaciones o clados diferentes. Los clados 2 y 9 se representaron con seis especies, mientras que en los clados 4, 5, 6 y 8 se encontraron solamente dos especies. En el clado 7 se encontró solamente una especie (por ejemplo, *P. cinnamomi*). De las especies nuevas, cuatro se encontraron en el clado 9 y tres en el clado 2. Solamente una especie se encontró en todos los demás clados, salvo el clado 7. Hubo algunos consensos con respecto a las características morfológicas cuando se agruparon las especies con base en su clado molecular. En el clado 9, todas las especies tenían esporangios no papilados. Asimismo, todas las especies encontradas en el clado 2 tenían esporangios semipapilados. Sin embargo, no hubo consenso con respecto a la morfología y el nicho en donde se encontraron las especies.

Discusión

Este estudio se cuenta entre los primeros levantamientos sistémicos de la biodiversidad de las especies de *Phytophthora* en los bosques tropicales. El hallazgo de 22 taxones, incluidas 13 especies nuevas en tan solo diez sitios de estudio, demuestra que estos bosques albergan mucha más diversidad de *Phytophthora* que los bosques templados. La diversidad también es muy alta en el bosque tropical cuando se considera un solo sitio. Identificamos 15 especies en el Parque Nacional Carrara (CR5), en comparación con los bosques templados en donde el número de especies reportadas oscila entre 1 y 4.

Considerando la mala fama de las especies de *Phytophthora* por su patogenicidad, en este estudio hemos demostrado que se encuentran fácilmente en nichos ecológicos diversos, sin daño obvio para la comunidad vegetal. Salvo por un caso en el que se aisló *P. palmivora* en retoños marchitos de las plantas de menor altura, no se observó mortalidad de las plantas en ninguna otra situación de bosque. Las infecciones en las plantas vivas observadas en el momento del muestreo constaron de pequeñas secciones necróticas en las hojas. Sin embargo, todas las especies conocidas encontradas en este estudio son fitopatógenos importantes distribuidos en el mundo entero (Erwin y Ribeiro, 1996). Con excepción de la *P. macrochlamydospora*, la cual se ha reportado únicamente en la soya (*Glycine max*) en Australia, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. cryptogea*, *P. hevea*, *P. palmivora* y *P. tropicalis* tienen una lista muy larga de hospederos que superan los centenares de especies vegetales (Erwin y Ribeiro, 1996, Farr y Rossman, 2015). En esta colección, *P. palmivora*, *P. capsici* y *P. tropicalis* fueron las más comunes. Su presencia frecuente va de la mano con su impacto en los trópicos, en donde se ubican entre las especies más infecciosas de *Phytophthora* que afectan a la mayoría de los cultivos arbóreos en los trópicos, exceptuando el banano (Drenth y Guest, 2013, Uchida y Kadooka, 2013).

Vale la pena recalcar la presencia generalizada de la especie denominada provisionalmente *P. taxon* “Pg-Chlamydo” porque es la primera vez que se encuentra en un ambiente tropical. Esta especie se ha descubierto en muchos países, con adaptaciones a diversos ecosistemas (Brasier y cols., 2003, Greslebin y cols., 2005, Burgess y cols., 2009, Reeser y cols., 2011, Hüberli y cols., 2013).

En nuestro estudio también se han hecho evidentes las adaptaciones de la *Phytophthora*. La mayor diversi-

dad de especies se encontró en los bosques húmedos tropicales de altura (bosques nubosos) sujetos a grandes fluctuaciones de temperatura, y en las tierras bajas de bosques de transición con ciclos de humedad/sequía. En los bosques tropicales, las áreas de clima variable ofrecen mayor ventaja al género *Phytophthora* en comparación con las áreas en donde las condiciones climáticas son relativamente constantes. Una razón particular para explicar esas adaptaciones a un nicho podría ser la menor capacidad competitiva de las especies de *Phytophthora* cuando están presentes diversos organismos. Un ciclo seco con grandes fluctuaciones de temperatura podría reducir el inóculo de organismos antagonistas y ser ventajoso para la *Phytophthora*.

Se encontraron 17 especies asociadas con las partes aéreas de las plantas. Esto nunca se había demostrado en ningún otro estudio de las especies de *Phytophthora*. Si bien las especies aéreas existen en las regiones templadas, se considera que son exóticas tanto aquellas que causan daño a las plantas leñosas como las que afectan a los cultivos agrícolas. Varios estudios han demostrado cómo se disemina la *P. palmivora* al dosel a través de la salpicadura de lluvia, de distintos escarabajos y hormigas, moluscos y vertebrados (Guest y Drenth, 2013), y un mecanismo semejante podría explicar las especies encontradas en este estudio. Si bien las áreas tropicales parecen ser puntos de actividad para las especies de *Phytophthora* aérea en su función como colonizadoras iniciales del follaje, los estudios de su “biología críptica” prometen nuevo conocimiento acerca de su papel funcional.

En la práctica, la identificación de los taxones nuevos que podrían representar una amenaza para la salud de la planta es una labor difícil para los fitopatólogos. Considerando que la gran mayoría de las especies pertenecientes al género son fitopatógenos, quizá todas tengan el potencial de causar enfermedades. Sin embargo, sería imposible predecir cuál de los taxones nuevos podrían ser “asesinos del bosque”, como *P. ramorum* o *P. cinnamomi* con base en la morfología, la filogenia o la ecología únicamente. No obstante, nuestro método de muestreo nos brindó pistas sobre su comportamiento y los hábitats posibles de su predilección. Por otra parte, *P. cinnamomi* se encuentra solamente en el suelo. Este tipo de conocimiento de la ecología podría ayudar enormemente a afinar los enfoques de diagnóstico y manejo y los esfuerzos de estudio para determinar la presencia de estos patógenos en caso de su introducción en ambientes nuevos.