



## Histopatología de *Peronospora tabacina* en hojas de tabaco

Yadira Margarita Ramos-Barraza, Isabel Cruz-Lachica, Juan Manuel Tovar-Pedraza, José Benigno Valdez-Torres, Raymundo Saúl García-Estrada\*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Subsele Culiacán, Carretera a El Dorado, Km 5.5, Campo El Diez, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México.

\*Autor de Correspondencia:  
Raymundo Saúl García-Estrada  
rsgarcia@ciad.mx

Sección:  
Edición periódica

Recibido:  
28 Febrero, 2025  
Aceptado:  
02 Julio, 2025  
Publicado:  
10 Julio, 2025

Cita:  
Ramos-Barraza YM, Cruz-Lachica I, Tovar-Pedraza JM, Valdez-Torres JB y García-Estrada RS. 2025. Histopatología de *Peronospora tabacina* en hojas de tabaco. Revista Mexicana de Fitopatología 43(3): 75. <https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2412-00>

### RESUMEN

**Antecedentes/Objetivo.** *Peronospora tabacina* es un oomiceto causante de moho azul en tabaco. Actualmente se conoce poco sobre el proceso de patogénesis de este patógeno, ya que los estudios disponibles se han centrado en aspectos generales de la infección, siendo escasos los análisis histológicos detallados; por lo tanto, el objetivo de este estudio fue describir los cambios histológicos que se presentan durante la infección de *P. tabacina* en plantas de tabaco inoculadas artificialmente.

**Materiales y Métodos.** El proceso de infección fue analizado mediante tinción diferencial de tejidos con safranina-verde rápido en plantas inoculadas bajo condiciones de invernadero. Los cortes de tejido se realizaron a las 2, 4, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 148, 172, 196 y 220 horas después de la inoculación (hdi).

**Resultados.** La presencia de esporangiosporas adheridas a la cutícula de la hoja se observó entre 2 y 48 hdi, las cuales germinaron a partir de las 96 hdi. La penetración del patógeno en las hojas ocurrió de manera directa por medio de apresorios 96 hdi. Las primeras hifas de infección emergieron a partir de 96-120 hdi y entre 168 y 192 hdi se desarrollaron hifas intracelulares que colonizaron el interior de los tejidos, provocando colapso celular en parénquima lagunar y clorofílico, así como alteraciones estructurales en haces vasculares y células epidérmicas. El patógeno completó su ciclo de infección al producir oosporas y esporangios a las 192 hdi, considerándose una fuente de inóculo para la infección de nuevos tejidos.

**Conclusión.** *Peronospora tabacina* es capaz de penetrar directamente el tejido foliar del tabaco mediante apresorios y desarrollar una infección progresiva tanto intercelular como intracelular, con alteraciones severas en la anatomía foliar y finalización del ciclo con producción de estructuras reproductivas en un periodo corto, lo que refuerza su potencial como patógeno agresivo en condiciones favorables.

**Palabras clave:** Patógeno intracelular, Patógeno intercelular, Oosporas, Patogénesis, Oomiceto, Biótrofo



## INTRODUCCIÓN

El tabaco (*Nicotiana tabacum*) se cultiva en 124 países (<http://tobaccoatlas.org/topic/growing/>) y se considera un cultivo comercial importante para la economía agrícola de dichos países, particularmente en las naciones en desarrollo de Asia y África (Nowicki *et al.*, 2022). Derivado de su uso principal que es la fabricación de cigarrillos y puros; entre otros, el cultivo de esta planta representa beneficios económicos y sociales generados tanto por las exportaciones de las mismas como por la creación de fuentes de trabajo tanto en el área rural como en la urbana. Debido a lo anterior, su producción es una actividad relevante en varias partes del mundo, como Brasil, China, EE. UU. e India (CONASAMA, 2023).

En México, el área de cultivo de tabaco se ha mantenido estable por una década. En 2008, se dedicaban 5,900 hectáreas para la siembra de este cultivo, el cual aumentó a 6,600 en el año 2018 (SIAP, 2023). En ese año, la producción de tabaco fue de 15,181 toneladas, incrementando en un 32 % con respecto al 2008 y ocupó la posición número siete entre los principales productores de América, por detrás de Brasil, Estados Unidos, Argentina, Cuba, Guatemala y Canadá. En 2019, el tabaco tuvo un incremento en su producción del 11 %, resultado de mayor rendimiento por parte de Nayarit, líder en producción de tabaco en México, en donde la mayor producción se obtiene durante el mes de mayo aportando alrededor de 43 % de la producción nacional anual. Cabe mencionar que, los agricultores en esta entidad, recibieron más de 37 mil 700 pesos mexicanos por tonelada (CONASAMA, 2023).

Al igual que otros cultivos, el tabaco es susceptible al daño por enfermedades causadas por patógenos infecciosos pertenecientes al grupo de los hongos y oomicetos. En este sentido, los oomicetos biotróficos de las plantas causan importantes problemas en la producción y pérdidas económicas en la agricultura moderna, ya que presentan una alta variabilidad genética y rápida adaptación para su sobrevivencia (Latijnhouwers *et al.*, 2003).

*Peronospora* spp. normalmente se limitan a hospedantes específicos o a un número de hospedantes relacionados y son capaces de causar daños graves, son oomicetos biotróficos pertenecientes al filo Oomycota, tradicionalmente confundidos con hongos, pero filogenéticamente más cercanos a las algas. Se caracterizan por ser patógenos obligados que infectan principalmente plantas dicotiledóneas, mostrando un alto grado de especificidad por el hospedante. Estos organismos pueden causar enfermedades devastadoras, como los mohos azules, debido a su capacidad para esporular profusamente y completar ciclos infecciosos en cortos periodos bajo condiciones favorables (Lee *et al.*, 2017). Se han reportado pérdidas económicas en cultivos ornamentales y cultivos alimenticios a nivel mundial y la enfermedad del mildiú vellosa causada por este fitopatógeno se considera una de las enfermedades más importantes del cultivo de tabaco, ya que puede provocar graves pérdidas económicas (Thines y Choi, 2016). En Estados Unidos, la *Peronospora tabacina* incluso ha sido clasificada como una potencial arma biológica, ya que su presencia podría afectar gravemente la economía de este país en lo que respecta a la industria del tabaco (Thines y Choi, 2016). Entre los seis oomicetos biotróficos más importantes se menciona a *P. tabacina*, causante del moho azul del tabaco. Este oomiceto es un biotrofo obligado que requiere del tejido vivo del hospedante para completar su ciclo de vida (Perfect *et al.*, 1999, Webster y Weber, 2007). El moho azul del tabaco es una enfermedad policíclica y en condiciones favorables para su

desarrollo, el patógeno puede completar su ciclo de vida en 10 días o menos (Heist *et al.*, 2002). El inóculo primario y secundario de *P. tabacina* consiste en esporangios asexuales, que normalmente son producidos en las hojas y tallos de plantas infectadas, observándose una esporulación activa en tejido foliar de hasta un millón de esporangios/cm<sup>2</sup>, siendo este un factor importante que puede contribuir a la devastación completa de los cultivos de tabaco infectados. Los esporangios de este patógeno tienen la capacidad de viajar largas distancias y causar enfermedades a varios cientos de kilómetros de su lugar de origen (Heist *et al.*, 2004; Spring *et al.*, 2018).

Los síntomas que ocasiona *P. tabacina* comúnmente son lesiones o manchas amarillas en hojas de tabaco que aparecen individualmente o en grupos, y en muchas ocasiones se fusionan para formar áreas necróticas de color marrón claro. Algunas de las hojas presentan un moho vellosa de color gris azulado en el haz, lo cual puede acompañarse de deformaciones hacia arriba. Cuando hay abundante esporulación, especialmente bajo condiciones de alta humedad relativa, el color azulado en las plantas enfermas se vuelve bastante llamativo, de ahí el nombre de la enfermedad: moho azul del tabaco (Borrás-Hidalgo *et al.*, 2010). Dada la importancia de prevenir epidemias y pérdidas económicas ocasionadas por *P. tabacina*, resulta fundamental implementar estrategias de monitoreo que permitan una identificación temprana y confiable de posibles fenotipos de virulencia. Esto puede lograrse mediante la caracterización detallada de los atributos del patógeno que se correlacionan con su comportamiento infeccioso (Blanco-Meneses y Ristiano, 2011).

Conocer el proceso y las estrategias que utiliza *P. tabacina* para causar infección en las plantas de tabaco es de suma importancia, ya que algunas estrategias de ciertos patógenos están correlacionadas con la especificidad en el hospedante (Pring *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 2023), con lo cual determinar el proceso de infección proporcionaría herramientas útiles para un adecuado manejo de la enfermedad, al conocer el periodo en el que se desarrolla el patógeno en el hospedante. Actualmente se conoce poco sobre el proceso de patogénesis de *P. tabacina*, ya que los estudios disponibles se han centrado en aspectos generales de la infección, siendo escasos los análisis histológicos detallados en *Nicotiana tabacum* (Borrás-Hidalgo *et al.*, 2010; Ayliffe *et al.*, 2008); por lo tanto, el objetivo de este estudio fue describir los cambios histológicos que se presentan durante la infección de *P. tabacina* en plantas de tabaco inoculadas artificialmente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal e inóculo.** Se utilizaron plantas sanas de tabaco de tres meses de edad, correspondientes al cultivar Tlapacoyan, las cuales fueron sembradas y mantenidas bajo condiciones controladas hasta su uso. El experimento se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, subselección Culiacán y se repitió en tres ocasiones independientes, durante los meses de enero de 2022, 2023 y 2024, respectivamente. Como inóculo se utilizó el aislado Pt1SA de *P. tabacina*, proveniente de San Andrés, Tuxtla, Veracruz, México, previamente caracterizado molecularmente mediante los oligonucleótidos específicos PTAB e ITS4 (Ramos-Barraza *et al.*, 2023). La suspensión de esporangios se preparó a partir de hojas de plantas de tabaco previamente inoculadas y con esporulación activa, recolectando los esporangios con un pincel y ajustando la concentración a  $1 \times 10^6$  esporangiosporas mL<sup>-1</sup>, utilizando una cámara de Neubauer para el conteo.

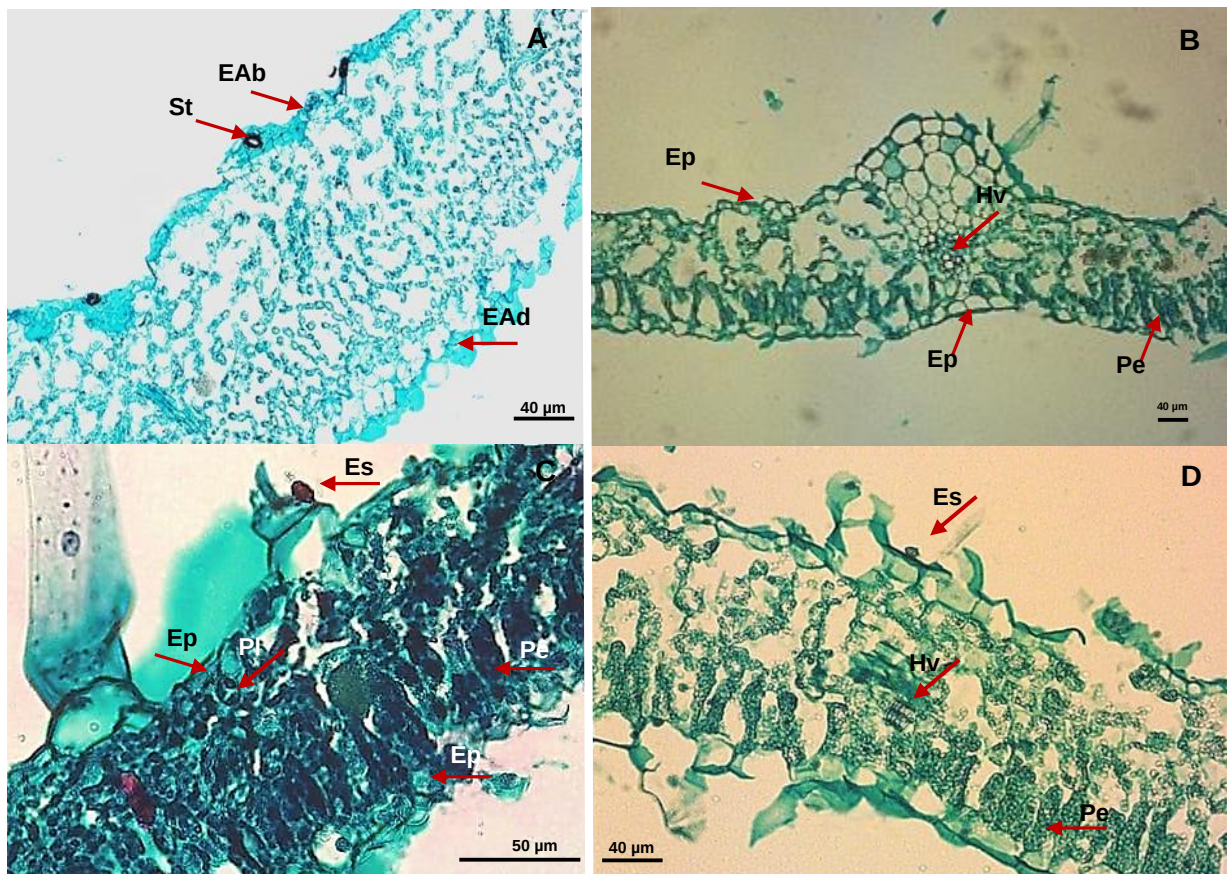
**Inoculación de plantas de tabaco.** La superficie del envés de 15 plantas de tabaco se desinfectó con etanol al 70 % por 1 min, se lavó con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se seleccionaron 10 sitios por hoja en cada planta de 1 cm<sup>2</sup> que fueron inoculados mediante la técnica de aplicación puntual con 10 µL de la suspensión de esporangiosporas. Como tratamiento testigo, se colocaron alícuotas de 10 µL de agua destilada estéril en cinco plantas de tabaco. Tanto las plantas de tabaco inoculadas como las plantas de tabaco testigo se colocaron en un invernadero tipo malla sombra a temperatura ambiente que varió en un rango de 15 a 17 °C y una alta humedad relativa (85-100 %), la cual se mantuvo de forma natural debido a las condiciones ambientales propicias para el desarrollo de la enfermedad.

De las plantas de tabaco, se realizaron cinco cortes de tejido (cada uno de 1 cm<sup>2</sup>) de los sitios inoculados a las 2, 4, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 148, 172, 196 y 220 horas después de la inoculación (hdi), y se colocaron en casetes de plástico para su fijación. El esquema de muestreo propuesto, con intervalos más cortos en las primeras horas después de la inoculación y más amplios en etapas posteriores, fue diseñado para capturar las diferentes fases del proceso infeccioso de *P. tabacina*. Este enfoque permite observar eventos tempranos, como la germinación y penetración del patógeno, así como etapas posteriores, como la colonización y destrucción de tejidos. Las muestras se sumergieron en solución fijadora FAA (10 % formaldehído, 5 % ácido acético glacial, 50 % etanol al 96 %) durante al menos 24 h. Los tejidos se lavaron tres veces en etanol a 50 % durante 15 min cada uno, luego se deshidrataron gradualmente en una serie de etanol (50, 70, 96 y 100 %), transfiriéndose posteriormente a alcohol absoluto-xileno (1:1), dos cambios de xileno y dos cambios en parafina Paraplast (3 horas por cada paso de deshidratación). La inclusión de los tejidos consistió en embeber las muestras en moldes metálicos con parafina fundida orientándolas longitudinal o transversalmente para, posteriormente, realizar cortes en un micrótopo (Rojo-Báez *et al.*, 2016; Cruz-Lachica *et al.*, 2018).

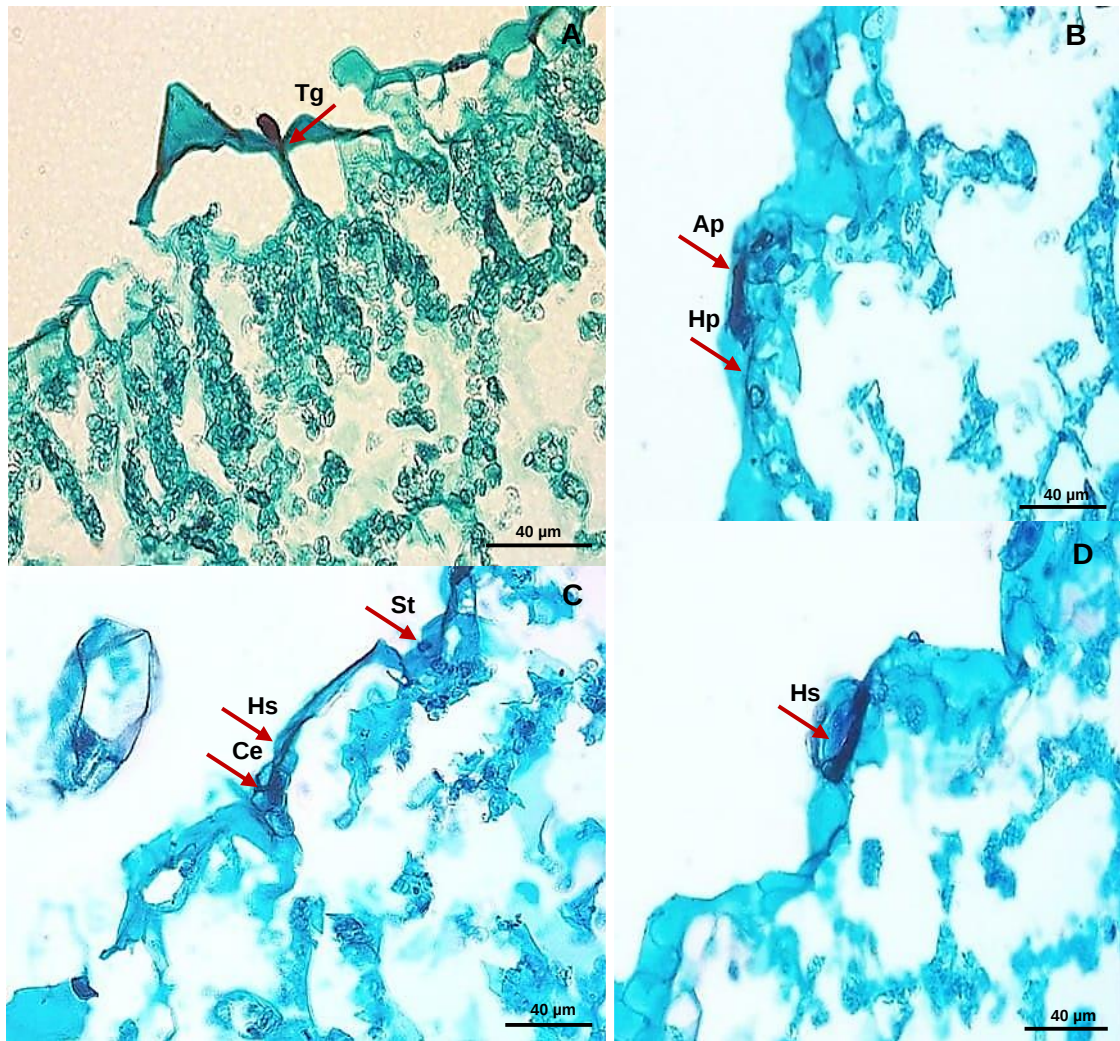
Se cortaron secciones longitudinales y transversales de 10 µm de espesor en un micrótopo rotatorio Leica RM2125 RT (Leica Biosystems, Nussloch, Alemania) y fueron adheridas en portaobjetos previamente preparados con adhesivo Haupt y agua en un calentador de portaobjetos (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.), a una temperatura de 40 °C durante 24 h para su secado. Posteriormente, se eliminó la parafina de los cortes mediante tres cambios de xileno (3 min en cada uno) y se hidrató con una serie gradual de alcohol etílico (100, 96, 70 y 50 %) por 3 min cada uno. La tinción en safranina al 1 % (preparada en alcohol etílico a 50 %) se realizó por 3 h. Después los cortes, se deshidrataron en una serie de alcohol etílico a 50, 70 y 96 % (3 min en cada uno) y tiñeron con verde rápido (Técnica Química®, México) al 1 % (preparada en alcohol etílico al 96 %) por 30s. Se lavaron y deshidrataron pasándolos por alcohol etílico al 96 y 100 %, por 3 min en cada uno. Finalmente, las secciones teñidas se sometieron a tres cambios de xileno (3 min en cada uno), se cubrieron con resina Entellan y los cubreobjetos se dejaron secar durante 24 h (Fierro-Corrales *et al.*, 2015). Los preparados histológicos fueron observados en un microscopio óptico marca Carl Zeiss Imager A2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania) con cámara integrada, para visualizar los daños en los tejidos en objetivos de 10, 20 y 40X.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al inicio del experimento, se observaron las características anatómicas de las hojas sanas de tabaco, con el objetivo de establecer un punto de comparación con las estructuras infectadas. En los cortes histológicos transversales y longitudinales de las hojas sanas (Figura 1A y 1B), se identificaron las epidermis adaxial y abaxial, sin presencia de estructuras del patógeno ni signos de daño celular. Se observaron esporangios de *P. tabacina* sin germinar, adheridos en la superficie de la hoja entre las 2 y 48 hdi (Figura 1C y 1D). La adhesión de las esporas a las plantas hospedantes es esencial para el inicio de la enfermedad en las interacciones patógeno-planta (Perfect *et al.*, 1999). El inicio de la germinación de los esporangios se observó a partir de las 96 hdi (Figura 2A) y el patógeno mostró la capacidad de formar apresorios melanizados en el extremo apical de los tubos germinativos de los esporangios de color café oscuro, de forma globosa a irregular (Figura 2B), mediante los cuales el patógeno se adhirió y penetró por aberturas naturales como lo son los estomas de las hojas (Figura 2A). La adhesión de los tubos germinativos y los apresorios a las superficies suele ser más fuerte que la de las esporas (Hardham, 2007).



**Figura 1.** Etapas del proceso de infección de *Peronospora tabacina* en hojas de tabaco inoculadas artificialmente. A) Corte transversal de hoja sana mostrando epidermis abaxial (EAb) y adaxial (EAd) y estoma (St). B) Corte longitudinal de hoja sana mostrando epidermis (Ep), Haces vasculares (Hv) y Parenquima en empalizada (Pe). C) Corte longitudinal a 24 hdi con esporangio (Es) en base de tricoma. D) Corte longitudinal a 48 hdi con esporangio en epidermis. Barra = 40 µm.



**Figura 2.** Desarrollo de estructuras infecciosas de *Peronospora tabacina* en hojas de tabaco. A) Tubo germinativo (Tg) emergiendo de esporangio a 96 hdi. B) Hifas de penetración (Hp) emergiendo de apresorio (Ap) a 96 hdi. C) Hifas secundarias (Hs) invadiendo células epidérmicas (Ce) intracelularmente a 96 hdi. D) Hifas de infección (Hi) emergiendo de apresorio e invadiendo tejidos a 120 hdi. Barra = 40 µm.

La adhesión de los apresorios es particularmente fuerte para proporcionar una base firme para la penetración, lo que fue señalado por Pain *et al.* (1996), quienes indican que los fragmentos de la pared celular de los apresorios permanecen adheridos al sustrato después de la sonicación o agitación. La germinación directa de los esporangios ha evolucionado de forma independiente en varios géneros (por ejemplo, *Peronospora*). El modo de penetración del patógeno es tan diverso como el comportamiento del esporangio. Mientras que los oomicetos parásitos de las raíces suelen formar apresorios para invadir los tejidos internos penetrando directamente en las células rizodérmicas o apretándose entre la lámina media de las células (por ejemplo, *Pythium*, *Aphanomyces*, etc.), otras especies que atacan las hojas de forma similar (por ejemplo, *Peronospora* y *Bremia*), utilizan los estomas como puntos de entrada (Spring *et al.*, 2018a), aunque también se ha documentado la penetración por otras aberturas naturales como los tricomas o pelos foliares (Agrios, 2005; Judelson y Blanco, 2005; Hardham, 2007; Latijnhouwers *et al.*, 2003).

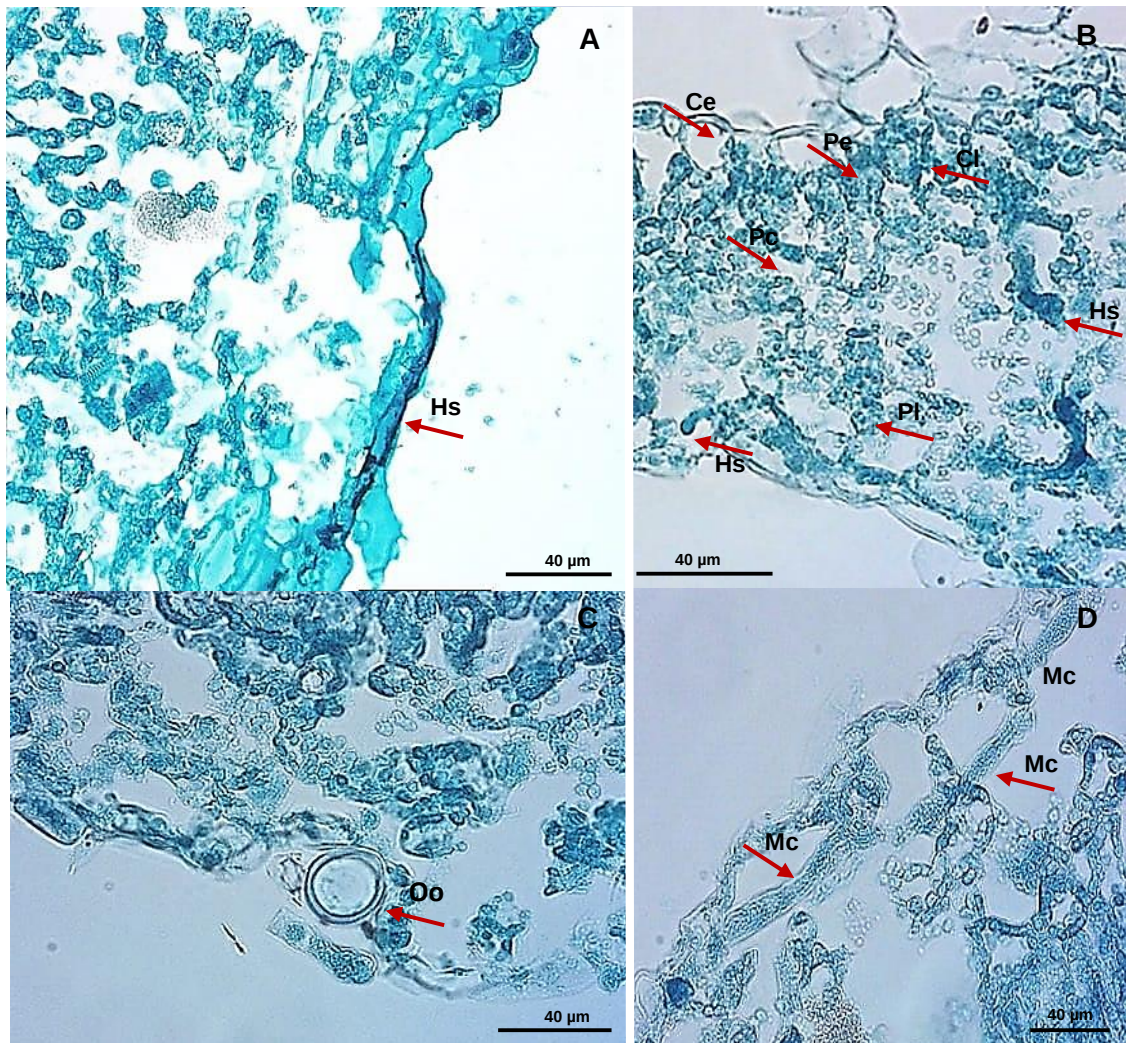
Después de la formación de los apresorios, se observó el desarrollo de las primeras hifas de infección, las cuales aparecieron entre las 96 y 120 hdi (Figura 2D). Estas hifas emergieron principalmente a través de aberturas naturales, como los estomas (Spring *et al.*, 2018a), y también se observó la penetración de una espora por una apertura natural asociada a la base de un tricoma (Figura 2A), lo que sugiere que *P. tabacina* puede utilizar múltiples vías naturales de ingreso al tejido foliar (Agrios, 2005; Hardham, 2007). En este mismo intervalo se detectó la presencia de hifas secundarias invadiendo de forma intracelular las células epidérmicas, principalmente en la epidermis adaxial (Figura 2C). Este hallazgo coincide con lo reportado por Milholland *et al.* (1981), quienes mencionaron que, aunque *P. tabacina* se propaga predominantemente de manera intercelular a través del tejido vascular, también pueden observarse hifas intracelulares en vasos del xilema y células del parénquima.

Estos resultados demuestran que *P. tabacina* es capaz de invadir los tejidos de la hoja de tabaco tanto a nivel intercelular como intracelular, confirmando lo reportado por Milholland *et al.* (1981), sobre la presencia de hifas intercelulares en el xilema de plantas infectadas sistémicamente. Sin embargo, nuestros hallazgos amplían estas observaciones al evidenciar una invasión intracelular en el tejido vegetal, como el parénquima clorofílico y los haces vasculares, lo que sugiere una estrategia patogénica más agresiva durante las primeras etapas de infección. Este comportamiento ha sido respaldado por estudios genómicos y moleculares recientes, que destacan el avanzado repertorio de efectores y mecanismos de colonización de *P. tabacina*, facilitando su dispersión y establecimiento bajo condiciones ambientales específicas (Derevnina *et al.*, 2015; Borrás-Hidalgo *et al.*, 2010).

Entre las 168 y 192 hdi se observó el desarrollo de hifas primarias intracelulares (Figura 3A) e hifas secundarias cenocíticas colonizando el interior de los tejidos y provocando desorden celular y destrucción del parénquima lagunar, parénquima clorofílico y cloroplastos, haces vasculares y células epidérmicas de la hoja (Figura 3B-5D). Durante la colonización de plantas hospedantes, los oomicetos patógenos presentan dos modos principales de nutrición: biotrofia, en la que los nutrientes se obtienen de las células hospedantes vivas, y necrotrofia, en la que los nutrientes se obtienen de las células hospedantes muertas que han sido atacadas por el oomiceto (Perfect *et al.*, 1999). El patógeno en estudio, *P. tabacina*, pertenece a la familia Peronosporaceae, dentro de la cual se han desarrollado haustorios como una estructura celular especializada que penetra en la pared celular del hospedante, pero no altera el plasmalema (Agrios, 2005; Hardham, 2007). De este modo, las células vegetales afectadas permanecen vivas y su metabolismo apoya continuamente al patógeno. Este tipo de interacción es típico de los biótrofos como los mildius (Spring *et al.*, 2018b).

Las plantas sanas de tabaco utilizadas para la inoculación con el patógeno (Figura 4A) y las plantas sin inocular utilizadas como testigos (Figura 4B) no presentaron síntomas durante el ensayo. En contraste, en las plantas inoculadas se observó la destrucción de los tejidos epidérmicos (Figura 3A), asociada con la aparición de manchas amarillentas irregulares en la superficie de las hojas (Figura 4C) y con la presencia de esporulación visible en el envés (Figura 4D). Entre las 192 y 216 hdi, el patógeno completó su ciclo de vida al producir oosporas y esporangios (Figura 3C), los cuales son la fuente de inóculo para nuevas infecciones. Las oosporas se forman en el interior de los tejidos de la hoja afectada cuando esta entra en contacto con el suelo. Al madurar, no germinan de inmediato, sino hasta después de la caída de la hoja. Estas estructuras pueden permanecer

viabiles en el suelo y germinar en condiciones favorables para infectar plantas jóvenes. La formación de oosporas varía: en algunos casos es abundante, en otros su presencia es casi indetectable, probablemente debido a condiciones ambientales adversas. Se ha demostrado que las oosporas pueden sobrevivir durante largos periodos en el suelo, lo cual representa un reto para el manejo de las enfermedades causadas por oomicetos. Por ejemplo, en *Plasmopara halstedii*, agente causal del mildiu del girasol, las oosporas pueden mantenerse viabiles hasta por 10 años (Spring *et al.*, 2018b).



**Figura 3.** Invasión avanzada de *Peronospora tabacina* en tejido foliar de tabaco. A) Hifas secundarias (Hs) invadiendo intracelularmente a 120 hdi. B) Hifas cenocíticas creciendo intracelularmente a 192 hdi, provocando desorden celular, destruyendo parénquima lagunar (Pl), parénquima clorofílico (Pc) y cloroplastos (Cl). C) Formación de oosporas (Oo) a 192 hdi. D) Micelio cenocítico (Mc) causando desorden celular y destrucción de tejidos foliares a 192 hdi.

En el caso de *Phytophthora infestans*, responsable del tizón tardío de la papa, se ha reportado que sus oosporas pueden conservar su infectividad hasta por 48 meses, dependiendo del tipo de suelo (Turkensteen *et al.*, 2000). Asimismo, en *Peronospora viciae* f. sp. *pisi*, causante del mildiu del guisante, las oosporas mantuvieron una viabilidad superior al 25 % después de 29 semanas a bajas temperaturas (Inglis *et al.*,

1997). Estos datos respaldan la capacidad de las oosporas para persistir en el ambiente, aún en ausencia del hospedante.



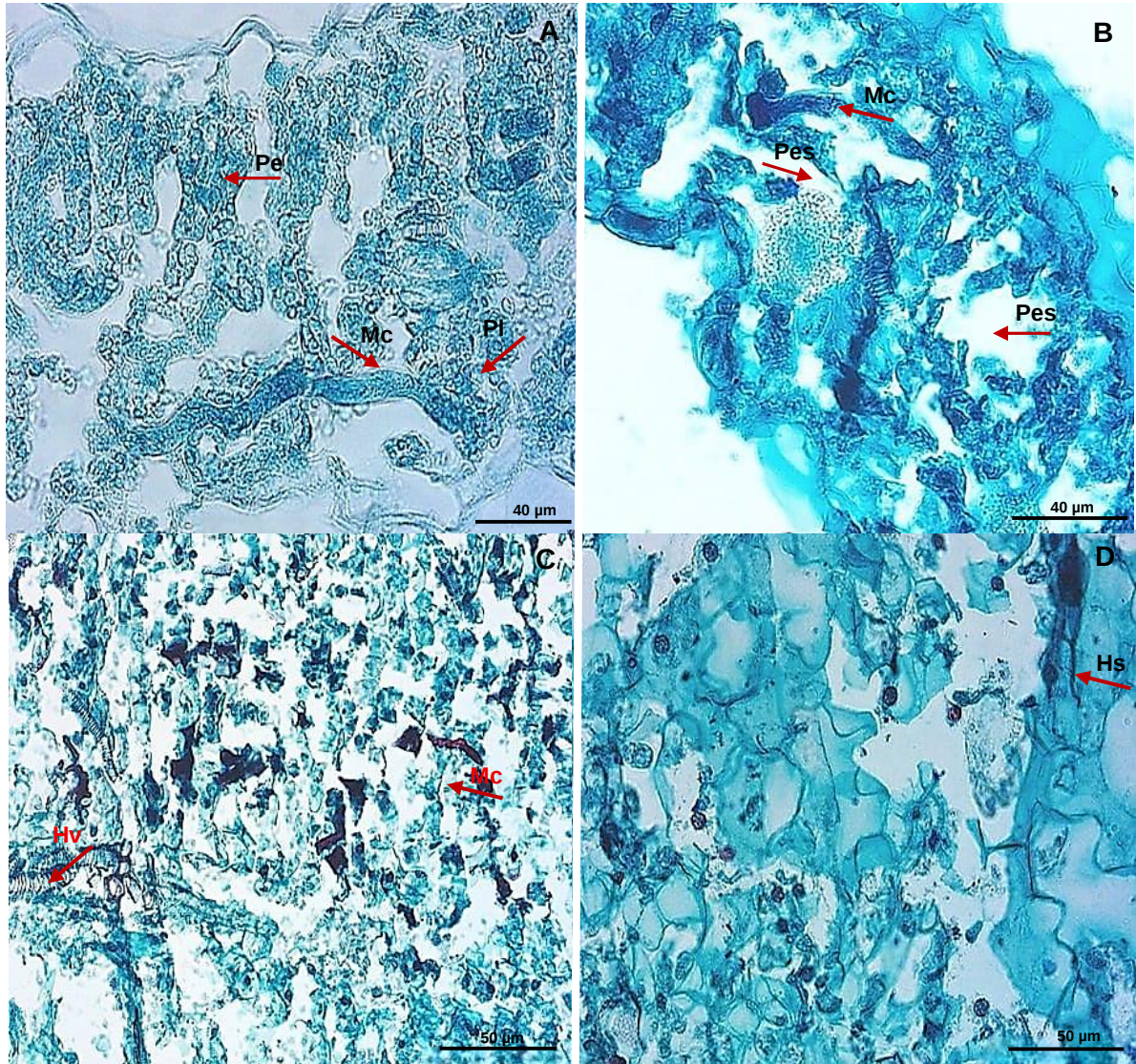
**Figura 4.** Síntomas foliares causados por *Peronospora tabacina* (aislado Pt1SA) en tabaco. A) Plantas sanas utilizadas para la inoculación. B) Plantas testigo no inoculadas. C) y D) Hojas con síntomas en las superficies adaxial y abaxial a partir de las 168 hdi.

En el caso específico de *P. tabacina*, también se ha documentado la producción de oosporas como estructuras de supervivencia en el suelo, aunque su formación puede variar significativamente entre aislados y condiciones ambientales (LaMondia, 2010).

La detección temprana de esporangios y oosporas a las 96 hdi resulta relevante tanto desde el punto de vista biológico como fitosanitario, ya que indica el inicio de la fase reproductiva de *P. tabacina* antes de la manifestación de síntomas visibles. Su capacidad para completar parte de su ciclo de vida en un periodo relativamente corto enfatiza la importancia de implementar estrategias de monitoreo temprano en los cultivos de tabaco. La identificación oportuna de éstas estructuras reproductivas podría ser clave para aplicar tratamientos preventivos que limiten la propagación del patógeno y reduzcan el impacto de la enfermedad en el cultivo (Milholland *et al.*, 1981; Borrás-Hidalgo *et al.*, 2010; Derevnina *et al.*, 2015).

En los cortes histológicos realizados en hojas de tabaco con síntomas visibles de la enfermedad causados por *P. tabacina*, se observó una alteración significativa en la arquitectura tisular, con presencia de micelio cenocítico intercelular e intracelular en el

mesófilo, así como destrucción parcial de células del parénquima y tejidos vasculares (Figura 5A-D). Las hifas se distribuyeron ampliamente entre los espacios intercelulares del parénquima esponjoso y en algunos casos se observan estructuras de penetración que sugieren actividad invasiva. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Milholland *et al.* (1981), quienes describieron la colonización de *P. tabacina* en tejidos vasculares de plantas infectadas sistémicamente.



**Figura 5.** Cortes longitudinales de hoja de tabaco a las 192 hdi y 216 hdi mostrando colonización del mesófilo foliar por *Peronospora tabacina*. A) Micelio cenocítico (Mc) invadiendo los tejidos del parénquima en empalizada (Pe) y parénquima lagunar (Pl). B) Hifas intercelulares en el parénquima esponjoso (Pes). C) Distribución de micelio cenocítico en el mesófilo foliar. D) Acumulación de hifas secundarias (Hs) en espacios intercelulares.

Esta destrucción celular generalizada no solo compromete la integridad del tejido vegetal, sino que también puede interferir con funciones esenciales como la fotosíntesis. La pérdida de organización celular observada en la epidermis, mesófilo y haces vasculares sugiere un deterioro en la capacidad de las hojas para llevar a cabo procesos fisiológicos clave. Este fenómeno es consistente con los mecanismos patogénicos descritos para otros

oomicetos, como *Phytophthora infestans*, cuya invasión del tejido vegetal afecta directamente la función fotosintética (Latijnhouwers *et al.*, 2003). En el caso de *P. tabacina*, la inducción de necrosis en las células del parénquima podría ser la causa principal de los síntomas foliares observados, como el amarillamiento y la muerte del tejido.

Las alteraciones histológicas observadas, como la destrucción de las células epidérmicas, la invasión del parénquima y la formación de estructuras reproductivas del patógeno dentro del tejido vegetal, tienen implicaciones fisiológicas significativas en las plantas de tabaco. La disrupción de la epidermis compromete la barrera protectora de la hoja, facilitando la pérdida de agua por transpiración y aumentando la susceptibilidad a otros patógenos. La colonización del parénquima, especialmente del mesófilo en empalizada, puede interferir con la fotosíntesis, debido a la reducción de células funcionales, la pérdida de cloroplastos y el colapso celular (Berger *et al.*, 2007; Rojas *et al.*, 2014). Estas modificaciones impactan directamente en la producción de fotoasimilados y, en consecuencia, en el crecimiento vegetal.

Asimismo, se ha reportado que la colonización de tejidos vasculares por especies de *Peronospora* interfiere en el transporte de agua y nutrientes, lo cual afecta la turgencia celular y el metabolismo general de la planta (Latijnhouwers y Govers, 2003). Estas alteraciones fisiológicas derivan en síntomas visibles como clorosis, necrosis y marchitez, que pueden culminar en la pérdida funcional del órgano afectado (Ah-Fong *et al.*, 2019).

Además, patógenos biotróficos como *P. tabacina* manipulan el metabolismo de la planta hospedante para favorecer su desarrollo, interfiriendo con rutas hormonales y señales de defensa, lo cual contribuye a un mayor deterioro funcional del tejido infectado (Dodds y Rathjen, 2010; Lorrain *et al.*, 2003). En conjunto, estas evidencias refuerzan que las alteraciones estructurales observadas en este estudio no solo evidencian el avance del patógeno, sino que explican el deterioro fisiológico que compromete el rendimiento y la supervivencia de la planta. Dado el impacto significativo de *P. tabacina* en la fisiología de la planta y su capacidad para comprometer funciones esenciales, es fundamental establecer estrategias de manejo que reduzcan su propagación y efectos adversos.

El conocimiento detallado sobre la patogénesis de *P. tabacina* obtenido en este estudio podría tener implicaciones significativas para el manejo integrado de plagas (MIP) en el cultivo de tabaco. Dado que el patógeno puede invadir los tejidos intracelularmente en las primeras 96 hdi, se recomienda un monitoreo intensivo durante las primeras etapas del cultivo, con el fin de detectar esporas y tomar medidas preventivas oportunas. Además, el uso de variedades resistentes podría desempeñar un papel clave en la reducción de la severidad de la enfermedad, lo que disminuiría la dependencia de tratamientos químicos (Rivas, 2012).

Este estudio también tiene implicaciones para la agricultura sostenible, ya que proporciona un enfoque más preciso sobre cómo *P. tabacina* infecta y afecta los cultivos de tabaco. El entendimiento detallado de la patogénesis y la dinámica de la infección permite a los agricultores implementar prácticas de manejo más eficaces, con menos dependencia de productos químicos. Además, el uso de técnicas de manejo biológico y la selección de variedades resistentes pueden contribuir a un control más sostenible de la enfermedad, reduciendo el impacto ambiental y mejorando la rentabilidad del cultivo a largo plazo (Blanco Marquizo *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2019).

## CONCLUSIONES

Este estudio permitió describir los cambios histológicos durante la infección de *Peronospora tabacina* en plantas de tabaco inoculadas artificialmente, proporcionando evidencia de su capacidad para infectar de manera intercelular e intracelular a su hospedante. Se observaron síntomas en hojas de tabaco a las 168 h después de la inoculación, mientras que la producción de esporangios y oosporas ocurrió desde las 96 h, completando su ciclo de vida en ese periodo. Estos hallazgos contribuyen al entendimiento del proceso de patogénesis de *P. tabacina*, complementando los estudios previos sobre infección y ofreciendo información relevante para el desarrollo de estrategias de manejo de la enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la contribución económica del SECIHTI para la realización de este proyecto y de igual manera al laboratorio de Fitopatología, técnicos e investigadores del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Subsede Culiacán.

## REFERENCIAS

- Ah-Fong AMV, Kagda MS, Abrahamian M and Judelson HS. 2019. Niche-specific metabolic adaptation in biotrophic and necrotrophic oomycetes is manifested in differential use of nutrients, variation in gene content, and enzyme evolution. *PLoS Pathog* 15(4): e1007729. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007729>
- Agrios GN. 2005. *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press. [https://books.google.com.mx/books?id=CnzbgZgby60C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=CnzbgZgby60C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Ayliffe M, McDonald B, & Gossen B. 2001. Cocultures of *Peronospora tabacina* and *Nicotiana* species to study host-pathogen interactions. *Phytopathology*, 91(12): 1224-1230. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.12.1224>
- Berger S, Sinha AK and Roitsch T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: Plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany* 58(15-16): 4019-4026. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm298>
- Blanco Marquizo A, Bianco E, Paraje G, Gouda HN, Birckmayer J, Welding K, Reynales-Shigematsu LM, Foster ND, Roa R, Sandoval RC y Bialous SA. 2022. Seguir avanzando en las Américas: el control del tabaco fomenta el desarrollo sostenible. *Rev Panam Salud Publica* 46:e159. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.159>
- Blanco-Meneses M, & Ristaino, JB. 2011. Detection and Quantification of *Peronospora tabacina* Using a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay. *Plant Disease* 95(6): 673-682. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-10-0333>
- Borrás-Hidalgo O, Thomma BPHJ, Silva Y, Chacón O and Pujol M. 2010. Tobacco blue mould disease caused by *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina*. *Molecular Plant Pathology* 11(1): 13-18. doi:10.1111/j.1364-3703.2009.00569.x
- CONASAMA (Comisión Nacional contra las Adicciones). 2023. Ficha técnica para la conmemoración del Día Mundial sin Tabaco 2023. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/conasama/documentos/dia-mundial-sin-tabaco-2024?idiom=es>
- Cruz-Lachica I, Marquez-Zequera I, Allende-Molar R, Leon-Felix J, Sañudo-Barajas JA, Ley-Lopez N and García-Estrada RS. 2018. Infection process of *Gilbertella persicaria* in papaya (*Carica papaya* L.) fruits. *Journal of General Plant Pathology*. doi:10.1007/s10327-018-0798-z
- Derevnina L, Petre B, Kellner R, Dagdas YF, Sarowar MN, Giannakopoulou A, Kamoun S. 2016. Emerging oomycete threats to plants and animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371(1709): 20150459. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0459>
- Dodds PN and Rathjen JP. 2010. Plant immunity: Towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11(8): 539-548. <https://doi.org/10.1038/nrg2812>

- Fierro-Corrales D, Apodaca-Sánchez MA, Quintero-Benítez JA, Leyva-Mir SG, Flores-Sánchez JL and Tovar-Pedraza JM. 2015. Morphological characterization and histopathology of *Peronospora ciceris* in chickpea (*Cicer arietinum* L.) leaves and seeds. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 21(1): 81-92. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2014.02.010>
- Hardham AR. 2007. Cell biology of plant-oomycete interactions. *Cellular Microbiology* 9(1): 31-39. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00833.x>
- Heist EP, Zaitlin D, Funnell DL, Nesmith WC and Schardl CL. 2004. Necrotic lesion resistance induced by *Peronospora tabacina* on leaves of *Nicotiana obtusifolia*. *Phytopathology* 94: 1178-1188. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1178>
- Heist EP, Nesmith WC and Schardl CL. 2002. Interactions of *Peronospora tabacina* with roots of *Nicotiana* spp. in gnotobiotic association. *Phytopathology* 92: 400-405. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.4.400>
- Inglis GD, Kawchuk LM and McKenzie DL. 1997. Survival of *Peronospora viciae* f.sp. *pisi* oospores under field and laboratory conditions. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19(2): 132-139. <https://doi.org/10.1080/07060669709500593>
- Judelson HS and Blanco FA. 2005. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nature Reviews Microbiology* 3(1): 47-58. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1064>
- LaMondia JA. 2010. January temperatures predict tobacco blue mold severity: Evidence for local source and long-distance transport of inoculum in Connecticut. *Plant Disease* 94:119-124. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-1-0119>
- Latijnhouwers M and Govers F. 2003. A *Phytophthora infestans* G-Protein  $\beta$  Subunit Is Involved in Sporangium Formation. *Eukaryotic Cell* 2(5): 971-977. <https://doi.org/10.1128/ec.2.5.971-977.2003>
- Latijnhouwers M, de Wit PJGM and Govers F. 2003. Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in Microbiology*. 11(10): 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2003.08.002>
- Lee JS, Shin HD, Lee HB and Choi YJ. 2017. Taxonomy and Phylogeny of *Peronospora* Species (Oomycota) Parasitic to *Stellaria* and *Pseudostellaria* in Korea, with the Introduction of *Peronospora casparyi* sp. nov. *Mycobiology* 45 (4): 263-269. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.4.263>
- Lorrain S, Launay A, Vailleau F and Roby D. 2003. Lesion mimic mutants: Keys for deciphering cell death and defense pathways in plants? *Trends in Plant Science* 8(6): 263-271. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00108-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00108-0)
- Milholland R, Papadopoulou J and Daykin M. 1981. Histopathology of *Peronospora tabacina* in systemically infected burley tobacco. *Phytopathology* 71:73-76. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1981Articles/Phyto71n01\\_73.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1981Articles/Phyto71n01_73.pdf)
- Nowicki M, Hadziabdic D, Trigiano R, Runge F, Thines M, Boggess S, Ristaino J and Spring O. 2022. Microsatellite markers from *Peronospora tabacina*, the cause of blue mold of tobacco, reveal species origin, population structure, and high gene flow. *Phytopathology* 112: 422-434. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-21-0092-R>
- Pain NA, Green JR, Jones GL and O'Connell RJ. 1996. Composition and organization of extracellular matrices around germ tubes and appressoria of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Protoplasma* 190: 119-130. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01281311>
- Perfect SE, Hughes HB, O'Connell RJ and Green JR. 1999. *Colletotrichum*: A Model Genus for Studies on Pathology and Fungal-Plant Interactions. *Fungal Genetics and Biology* 27(2-3): 186-198. <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1143>
- Pring RJ, Nash C, Zakaria M and Bailey JA. 1995. Infection process and host range of *Colletotrichum capsici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46:137-152. <http://dx.doi.org/10.1006/pmpp.1995.1011>
- Ramos-Barraza YM, Cruz-Lachica I, Tovar-Pedraza JM, Valdez-Torres JB, Márquez-Zequera I, Osuna-García LA, Gómez-González G and García-Estrada RS. 2023. Identification and characterization of microsatellites in isolates of *Peronospora tabacina* collected in tobacco producing states of Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology* 41(2): 229-240. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2206-5>
- Rivas A, Rivas R, Hinojosa D, Pérez JC, Méndez A y Martínez MA. 2012. Percepción de productores de tabaco sobre insectos plagas y su manejo en el municipio Jesús Menéndez (Las Tunas). *Revista de Protección Vegetal* 27(1): 19-25. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522012000100004&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000100004&lng=es&tlng=es).
- Rojas CM, Senthil-Kumar M, Tzin V and Mysore KS. 2014. Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. *Frontiers in Plant Science* 5: 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00017>
- Rojo-Báez I, García-Estrada RS, León-Félix J, Sañudo-Barajas A y Allende-Molar R. 2016. Histopatología del proceso de infección de *Colletotrichum truncatum* en hojas de papaya y chicharo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 316-325. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1604-3>

- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. [https://nube.agricultura.gob.mx/cierre\\_agricola/](https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/)
- Singh B y Singh AK. 2019. Mejora genética en el cultivo del tabaco: mecanismos moleculares y regulación. *Revista de Investigaciones ULCB* 6(2): 41-54. <https://doi.org/10.36955/RIULCB.2019v6n2.004>
- Spring O, Gomez-Zeledon J, Hadziabdic D, Trigiano RN, Thines M and Lebeda A. 2018a. Biological Characteristics and Assessment of Virulence Diversity in Pathosystems of Economically Important Biotrophic Oomycetes, *Critical Reviews in Plant Sciences* 37(6): 439-495. <https://doi.org/10.1080/07352689.2018.1530848>
- Spring O, Zipper R and Andert J. 2018b. Persistence and survival structures of downy mildew pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 150: 509-517. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1304-5>
- Thines M and Choi YJ. 2016. Evolution, Diversity, and Taxonomy of the Peronosporaceae, with Focus on the Genus *Peronospora*. *Phytopathology* 106(1): 6-18. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0127-RVW>
- Turkensteen LJ, Flier WG, Wanningen R and Mulder A. 2000. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 49(6): 688-696. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00506.x>
- Webster J and Weber R. 2007. Introduction to fungi (Vol. Tercera edición): Cambridge University Press. 875 pág. <http://deskuenvis.nic.in/pdf/WEBSTER30521807395.pdf>
- Zhang Y, Wang Y, Zhao X, Chen Y and Wang X. 2023. Host specificity and resistance response of wild *Nicotiana* species to *Peronospora tabacina*. *Journal of Plant Pathology* 105(2): 345-353. <https://doi.org/10.4454/jpp.v105i>