

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE *Monilophthora roreri* (CIF & PAR) EVANS EN CACAO (*Theobroma cacao* L), EN LA AMAZONIA ECUATORIANA Karina Carrera Sánchez^{*1}, Laura Mosquera Paredes¹, Leiva Mora Michel²

^{*1} Universidad Estatal Amazónica. Campus Principal km 2 ½ vía a Napo (Paso Lateral). Puyo –Pastaza – Ecuador. email mcarrera@uea.edu.ec

² Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

Introducción

Para el Ecuador la producción de cacao *Theobroma cacao* constituye de gran importancia económica y social. La provincia de Napo se localiza al noreste de la región amazónica y en ella se encuentra localizadas familias indígenas cacaoteras que manejan este cultivo orgánicamente, en chakras (Pérez 2013). Existen 500.000 ha de cacao, la mayoría asociadas con otras especies, establecidas en más de 100.000 fincas (familias), principalmente de pequeños productores de diversas culturas de las nacionalidades indígenas de la Amazonia. Siendo el tercer rubro agrícola más importante del país, generando el 6,7% del PIB agrícola (ANECACAO, 2012). Uno de las principales dificultades a las que se enfrentan los productores, es el ataque de hongos fitopatógenos, en particular *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans, que puede disminuir hasta el 80% de la producción de cacao en esta región (Villavicencio 2010); siendo una de las enfermedades más destructivas del cacao, registrada en 11 países latinoamericanos. La intensidad de la moniliasis, varía según la zona y época del año, de acuerdo con las condiciones climáticas (PROAMAZONIA, 2003). La Universidad Estatal Amazónica, como un aporte a la comunidad realiza investigaciones que permiten mejorar la producción de cacao tratando de ser amigable con el medio. Actualmente, no existen alternativas para el control de *M. roreri* en las plantaciones orgánicas de cacao en las comunidades kichwas de la provincia de Napo, ni se dispone de aislados adecuadamente caracterizados del agente causal, lo cual limita el desarrollo de alternativas biológicas para el control de moniliasis. Es por ello, que el rendimiento agrícola y la calidad del cacao fino de aroma se compromete así como los ingresos de los productores de este importante cultivo por lo que resulta urgente caracterizar fisiológicamente *M. roreri in vitro*. Por lo anteriormente expuesto, en este trabajo se plantearon los siguientes objetivos: 1) Determinar la influencia del pH y temperatura de incubación y las condiciones de iluminación más favorables para el mejor crecimiento de *M. roreri*.

Materiales y Métodos

Influencia de pH en el crecimiento de micelial de *M. roreri*.

Este ensayo se realizó con el objetivo de determinar la influencia del pH de incubación sobre crecimiento de *M. roreri*. Se utilizó un medio líquido compuesto por Caldo de Papa Dextrosa (PDB Cod: 254920) con una dosis de 3,6 gr en 150 ml de agua destilada, que se dispensó en un Erlenmeyer de 500 ml y esterilizó en autoclave SHENAN (LDZX-50FBS) a 121 °C y 1 atm por 15 minutos. En este medio se sembraron discos de micelio con la ayuda de un sacabocados de 4 mm de diámetro, el ajuste del pH se realizó antes de esterilizarlo, se modificaron con NaOH con una concentración de 0,001 Molar, manejándose un rango de pH desde 4 a 7,5 con una escala de 0,5 entre pH, se mantuvo en la incubadora a una temperatura de 26°C durante 21 días. Posteriormente se cosecho el micelio y se determinó la masa fresca y la masa seca del micelio de la cepa.



Figura 1. Procedimiento para determinar la influencia del pH sobre el crecimiento micelial de *M. roreri*.

Influencia de la temperatura en el crecimiento micelial de *M. roreri*.

Este ensayo se realizó con el objetivo de determinar la temperatura de incubación más favorable para el mejor crecimiento de *M. roreri*. Se utilizó el medio de cultivo semi sólido PDA en donde fue inoculado el hongo Evans (1987) y Phillips-Mora (2006), los aislados fueron mantenidos a una temperatura de 5 °C en el congelador del refrigerador, entre 10 °C y 15 °C en la parte inferior del refrigerador, mientras que en la incubadora fueron colocadas en el rango térmico de 20 °C, 25 °C y 30 °C y en la estufa fueron incubadas a 35 °C evaluando su crecimiento mediante la observación diaria de las cepas. Las temperaturas determinadas en cada equipo fueron monitoreadas por un periodo de 15 a 20 días para seleccionar la zona óptima de conservación de las cepas, estas temperaturas fueron evaluadas mediante la utilización de termómetros.



Figura 2. Diferentes valores de temperaturas usadas acorde en el experimento.

Influencia de diferentes condiciones de iluminación en el crecimiento de *M. roreri*.

Este ensayo se realizó con el objetivo de determinar las condiciones de iluminación favorables para el crecimiento de *M. roreri*. Se repicaron las cepas en medio de cultivo semi sólido PDA con una dosis de 39 gr en 240 ml de agua destilada y 10 ml de Gentamicina, con 3 réplicas de

cada cepa las cuales fueron evaluadas en condiciones de iluminación con luz blanca para ello se colocaron las cepas en un cajón con una lámpara de 200W, mientras que para la luz negra se colocó una lámpara modelo BLB40W 120V en la cámara de esporulación. La oscuridad se evaluó en la estufa apagada y el fotoperiodo se determinó dentro del laboratorio, las cepas fueron medidas diariamente hasta que el micelio complete su crecimiento en la caja Petri.

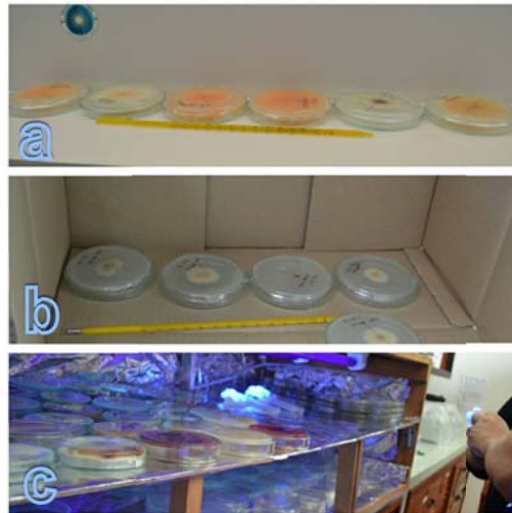


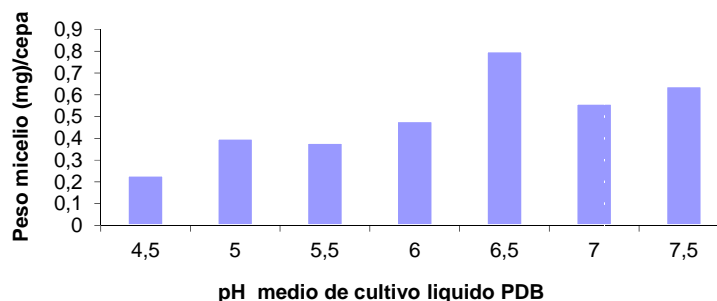
Figura 3. Diferentes condiciones de iluminación, a) fotoperiodo, b) luz blanca y c) luz negra.

Resultados y Discusión

Influencia de diferentes pH en el crecimiento micelial de *M. roreri*.

El rango entre 4,5 a 7 de los pH utilizados, se observó el crecimiento micelial de *M. roreri*, Sin embargo los mayores valores se apreciaron en el pH 6,5 seguido por los pH 7,5, los cuales tuvieron diferencias significativas con los otros valores evaluados en la cepa CC-UEA-Mr5.3 (Gráfico. 1). En condiciones controladas *M.roreri* crece y esporula fácilmente con un rango de pH entre 4,5 a 7, 5. Para el desarrollo micelial el pH está entre 5,0 y 6,5; mientras que para la formación de conidios requiere pH 7,5. Para este parámetro no se reportan resultados con los cuales se pueda hacer una comparación.

Gráfico 1 Crecimiento micelial de la cepa CC-UEA-Mr5. en diferentes pH.



Al evaluar el crecimiento micelial en PDA utilizando seis temperaturas de incubación diferentes se determinó que en las temperaturas de 20°C a 30°C se observó la presencia de micelio de *M. roreri*, sin embargo, a la temperatura de 25°C, el crecimiento micelial obtenido fue superior. Este

resultado resalta la importancia de conocer la temperatura de incubación favorece el crecimiento micelial en condiciones controladas, catalogándolo como un patógeno psicrófilo facultativo.

Para la producción *in vitro* de micelio de *M. roreri* se ha utilizado diferentes temperaturas de incubación, Villamil, *et al.*, (2012) obtuvieron un crecimiento micelial con el empleo del medio de cultivo PDA a 25°C, que coinciden con los resultados de esta investigación. En todas las condiciones de iluminación utilizadas, se observó un crecimiento micelial de *M. roreri*. Sin embargo, la producción de micelio que se obtuvo en oscuridad fue superior con diferencias significativas respecto a las demás tipos condiciones de iluminación evaluadas (tabla 1).

Respecto a las diferentes condiciones de iluminación utilizadas en este estudio en la literatura científica consultada, no existen trabajos debido a que mayormente han manejado solo la temperatura de incubación más no las condiciones de iluminación. Este resultado de igual modo indicó la necesidad de considerar el factor de iluminación pues tiene influencia sobre el crecimiento de micelio en condiciones controladas.

Tabla 1 Crecimiento micelial de la cepa CC-UEA-Mr5.1 en diferentes condiciones de iluminación.

Condiciones de iluminación	Crecimiento micelial (mm)
Fotoperiodo	1,81 b
Luz blanca	0,62 c
Luz negra	1,16 bc
Oscuridad	2,61 a
EE	± ,844

Referencias:

1. ANECACAO. 2012. Asociación Nacional de Exportadores de Cacao. Cacao de exportación. Sección: Elaborados. p10.
1. Evans, H.C, J.A. Stalpers, A.R. Samson, G.I. Benny.1987. On the taxonomy of *Monilla roreri*, an important pathogen of *Theobroma cacao* in South America. Canadian Journal of Botany. 2528- 2532.
2. Pérez S. 2013. Kallari, historia de un grupo de artesanos y agricultores emprendedores y patriotitas de la provincia de Napo, Ecuador. Estudio de caso. Quito, Ecuador. 17 pp.
3. Phillips M, Coutiño F, Ortiz P, López J, Hernández A. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in México. Plantpathology. 55-584.
4. PROAMAZONIA (Programa para el Desarrollo de la Amazonía). 2003. Caracterización de las zonas productoras de cacao en el Perú y su competitividad. Lima - Perú. 208 pp.
5. Villamil J, Blanco J, Rosero S. 2012.Evaluacion in vitro de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliphthora roreri* Cif & Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.).Revista Facultad Nacional de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Medellin - Colombia. 65 (1): 6305-6315.
6. Villavicencio M. 2010. Caracterización morfológica, fisiológica y patogénica de *Moniliophthora roreri* aislados de cinco Provincias de la Costa Ecuatoriana. Tesis para

aspirar al título de Ingeniera Agrícola y Biológica. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. 59 pp.