

Actualización de la Micobiota Patogénica del Cacao “arriba” (*Theobroma cacao*) presente en la Costa Ecuatoriana

*G. Maridueña, M.I. Jiménez, E.L. Peralta

Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Campus “Gustavo Galindo Velasco” La prosperina Km 30,5 vía perimetral, Guayaquil, Ecuador.

*ma.gabriela.ma.za@gmail.com

Resumen

El cacao (*Theobroma cacao* L) fino de aroma, uno de los cultivos de mayor importancia en el Ecuador, se ve afectado por la presencia de enfermedades fungosas como la moniliasis que ocasionan grandes pérdidas en la producción. El estudio de los agentes causales de los principales problemas fitosanitarios presentes en el cultivo constituye la base del manejo adecuado de estas patologías. El objetivo de este estudio inicial que abarca fincas ubicadas en las principales zonas cacaoteras del país ha sido la identificación de principales patógenos causantes de enfermedades fungosas. Se seleccionaron muestras con síntomas diversos y luego de proceder a su descripción y aislamiento se identificó la presencia de: *Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciosa* (ex *Crinipellis perniciosa*), *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp., *Pestalotiopsis* sp., y *Fusarium solani*.

Palabras Claves: Cacao Nacional, hongos patógenos

Abstract

Fine or flavor cocoa (*Theobroma cacao* L), one of the most important crops in Ecuador, is affected by the presence of fungous diseases as the moniliasis that cause serious losses in production. The study of the causal agents of the main fungal phytosanitary problems constitutes the base of the appropriate management of these pathologies. The objective of this preliminary study which includes different farms from the most important cocoa production areas of Ecuador, has been the identification of main pathogens associated to fungal cocoa diseases. Samples with different symptoms were collected and after their description and isolation, it was possible to identify the following pathogens: *Moniliophthora roreri*, *Moniliophthora perniciosa* (ex *Crinipellis perniciosa*), *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp., and *Fusarium* sp.

Keywords: National cocoa, fungal pathogens

1. Introducción

El cacao "nacional" ecuatoriano es reconocido internacionalmente por su excelente calidad y aroma floral. Existen 243.059 hectáreas de cacao como cultivo solo y 190.919 hectáreas de cultivo asociado. Las principales áreas de producción se ubican como sigue El área de producción se distribuye principalmente entre las provincias de Los Ríos (24.1%), Guayas (21.08%) y Manabí (21.63%); las provincias de Esmeraldas y El Oro participan con el 10.09 y 7.62%, respectivamente y el resto se ubica en provincias del callejón interandino y la Amazonía. La utilización de nuevas variedades de cacao redujo a un 4% el área de siembra del cacao nacional para 1996.¹

Debido a la aparición de enfermedades fungosas como la escoba de bruja y la moniliasis entre los años 1915 a 1920, su producción disminuyó drásticamente y motivó la introducción y utilización de variedades mejoradas con tolerancia a las enfermedades; no obstante, actualmente se conoce que estas enfermedades afectan en un 70% a la producción de cacao². En tal virtud, se realizó una evaluación de enfermedades fungosas en fincas de pequeños productores ubicadas en cinco provincias de la costa ecuatoriana, como parte de un esfuerzo para profundizar en el conocimiento de la micobiota patogénica del cultivo en el país y encontrar soluciones alternativas para su control.

¹ Tercer Censo Nacional Agropecuario, 2002.

² Instituto Nacional Autónomo de investigaciones Agropecuarias, 2001.

2.- Materiales y Métodos

2.1 Aislamiento de Hongos

Secciones de tallos, hojas y mazorcas fueron recolectadas de dos zonas denominadas “Mirador Sabalito” y “3 de Noviembre” en la provincia de Esmeraldas, Estero de Caña y La Reforma en Los Ríos, Abdón Calderón en la provincia del Guayas, Sarampión y Membrillo en Manabí y Laguna de Caña y San Agustín en El Oro. Se seleccionaron muestras con síntomas como: hojas cloróticas; manchas foliares diversas; necrosis parcial en ramas y secciones de tallos; yemas hipertrofiadas con aparente presencia de “escoba de bruja”; mazorcas con manchas color café; mazorcas atrofiadas “chupones”, mazorcas necróticas, mazorcas con signos de esporulación en la zona superior cercana al pedúnculo y en todo el fruto.

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador para su análisis. Se les realizó una limpieza con hipoclorito de sodio (NaClO) al 2% y posteriormente un enjuague con agua destilada para luego ser sembradas en medio papa dextrosa agar (PDA) y Agar nutritivo (AN). Adicionalmente, se sembraron conidias presentes en muestras con síntomas compatibles a la moniliasis que presentaban esporulación en su parte externa. Las conidias fueron extraídas con una aguja de disección y sembradas en medio sólido V8 MAA (200 ml de jugo V-8, 20 g de maltosa; 1 g asparagina; 17 g agar), de acuerdo metodología descrita por Ausebel et al. (1989) [9].

Los aislamientos obtenidos a partir de los diferentes síntomas, fueron identificados de acuerdo a criterios morfológicos, empleando claves taxonómicas [2].

3. Resultados

3.1 Principales síntomas encontrados en campo

Los síntomas predominantes en las muestras colectadas en campo fueron clorosis foliar, poco crecimiento de yemas axilares, aparición de manchas que van de café a negruzca en la mazorca, mazorcas con una capa polvosa blanquecina, manchas circulares de color marrón en las hojas que terminaban en encarrujamiento a partir de su ápice, mazorcas necróticas, “chupones” nombre común de las mazorcas que no completaron su ciclo de crecimiento debido a la infección de la “escoba de la bruja” dando la impresión de una roseta, mazorcas con pintas, hojas

con secciones cloróticas y raíces que presentaban pudrición conducente a la muerte descendente de la planta, así como síntomas característicos de deficiencias nutricionales.

Los síntomas en mazorcas fueron los más frecuentemente encontrados, los daños ocasionados que mostraban pintas en mazorcas sólo se presentaron en las zonas de la provincia del Guayas, mientras que daños en hojas fueron más comunes en las provincias de Los Ríos y Guayas. Las Figuras 1, 2, 3 muestran algunos de los síntomas más comunes encontrados en plantaciones de cacao nacional en áreas de la costa ecuatoriana.



Figura 1. Sintomatología encontrada en sectores de la Provincia de El Oro. En la parte superior se destacan las afecciones en hojas encontradas en un 20% de las plantaciones inspeccionadas. En la parte inferior la diversidad de sintomatologías observadas en mazorcas como: mancha chocolate que se va extendiendo por toda la superficie, mazorcas con una capa pulverulenta de color crema y mazorcas con un crecimiento atrofiado.



Figura 2. Sintomatología encontrada en la provincia del Guayas: se destacan daños en hojas que

comprendían el 15% del follaje ocasionados por un defoliador que, debido a las condiciones climáticas de la zona (alto grado de humedad) propició el crecimiento de líquenes en los troncos, la aparición de basidiocarpos de *Moniliophthora perniciosa* y la sintomatología característica de la enfermedad de escoba bruja en mazorcas.



Figura 3. Sintomatología más común encontrada en la Provincia de Los Ríos: Aparición de pintas en las mazorcas que cubren la superficie, en la parte inferior de la figura 3 se observan, manchas en hojas acompañadas de una clorosis foliar.



Figura 4. Secciones negruzcas en los tallos ocasionaban la marchitez en hojas y ramas hasta la muerte posterior del árbol.

En la Tabla 1 se presentan más detalladamente los síntomas más relevantes encontrados.

Tabla 1. Descripción de la sintomatología más relevante encontrada en las diferentes zonas

Sintomatología	Secciones de Tejido
Clorosis foliar, manchas pequeñas en hojas.	
Basidiocarpo de <i>Crinipellis perniciosa</i>	
Manchas de mazorcas color chocolate.	
Mazorcas necróticas.	
Mazorcas con capa de micelio polvoso color crema	
Raíces de cacao.	
Tallos de cacao	

3.2 Aislamiento e identificación de hongos a partir de los síntomas observados

Los análisis morfológicos de las colonias obtenidas así como la caracterización de sus estructuras reproductivas a partir de las preparaciones y tinciones realizadas, permitieron la identificación de diferentes especies de hongos como posibles agentes causales de enfermedades en el cultivo. (Tabla 2; Figura 2).

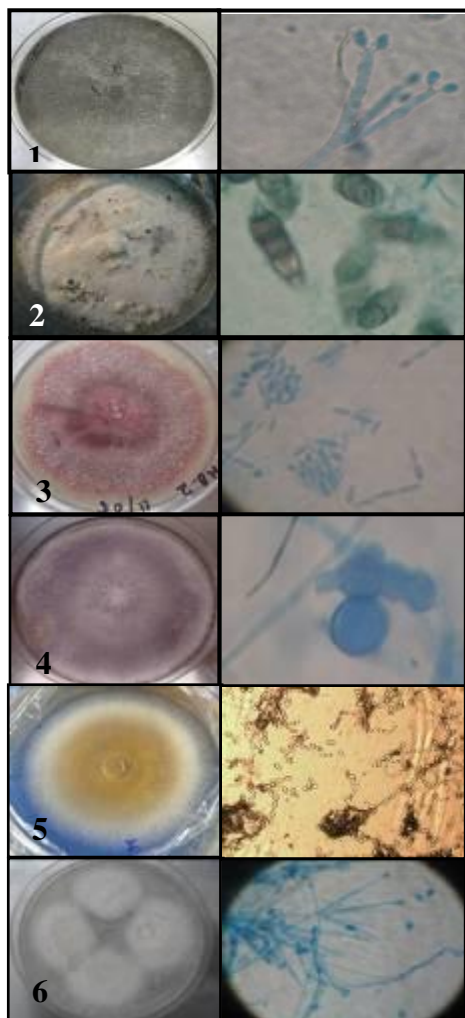


Figura 2. Estructuras microscópicas y colonia del patógeno. 1. *Rhizoctonia solani*, 2. *Pestalotiopsis sp.* 3. *Fusarium sp.* 4. *Fusarium oxysporum*. 5. *Moniliophthora roreri*. 6. *Verticillium sp.*

Entre las diferentes zonas se encontró variación de acuerdo al porcentaje de daño de cada uno de los síntomas, es así como en la zona de Esmeraldas los diagnósticos fitosanitarios en las fincas mostraron un grado de afectación del 60% de Escoba de la bruja y un 40% de moniliasis, para la zona de Manabí los porcentajes de incidencia del 40% de Escoba de la bruja y un 30% de moniliasis, para las fincas de Guayas 40% de incidencia de escoba bruja y un 20% de moniliasis, en El Oro los niveles de incidencia de escoba de la bruja se encontraron en 30% y 50% para Moniliasis y en la provincia de Los Ríos los niveles de infección de escoba de bruja llegaban a 30%. El resto de fitopatógenos encontrados se ubican en proporciones de 10% de *Verticillium sp.*, 13,3% de *Fusarium oxysporum* y 6,7% de *Fusarium sp.* y 36,7 de *Colletotrichum sp.*, *Pestalotiopsis sp.* aproximadamente para todas las provincias

En cuanto a tallos los problemas de muerte ascendente se presentaron en zonas en Esmeraldas y Los Ríos.

Tabla 2. Descripción de la morfología de los patógenos en cacao (*Theobroma cacao*)

Características de las colonias		Tipo esporas observadas	Especie
Coloración	Textura		
Blanca	Aterciopelada	Conidios elipsoides	<i>Verticillium sp.</i>
Verdusca y blanca	Aterciopelada	basidiosporas	<i>Crinipellis perniciosa</i>
Crema	Pulverulenta	Conidios globosos, subglobosos y elípticos	<i>Moniliophthora roreri</i>
Blanco y violeta	Algodonosa	Macroconidios y microconidios	<i>Fusarium sp.</i>
Púrpura	Algodonosa	Macroconidios y microconidios	<i>Fusarium oxysporum</i>
Verde y blanco	Algodonosa	Conidias ovaladas	<i>Colletotrichum sp.</i>
Negro	Aterciopelada	No presenta conidias	<i>Rhizoctonia solani</i>
Blanco	Algodonoso	Conidias oscuras septadas	<i>Pestalotiopsis sp.</i>

Los aislamientos más frecuentes a partir de mazorcas afectadas fueron los de *Moniliophthora roreri*. Las colonias de estos aislamientos presentaron coloraciones variadas: crema-café oscuro-café claro-blanco, café claro-blanco, café oscuro-crema-blanco (Figura 3), con presencia de bordes regulares y textura pulverulenta. En cuanto a la apariencia de sus conidias, todas presentaron formas globosas, subglobosas y elípticas con diámetros entre 5 a 15 μ m.

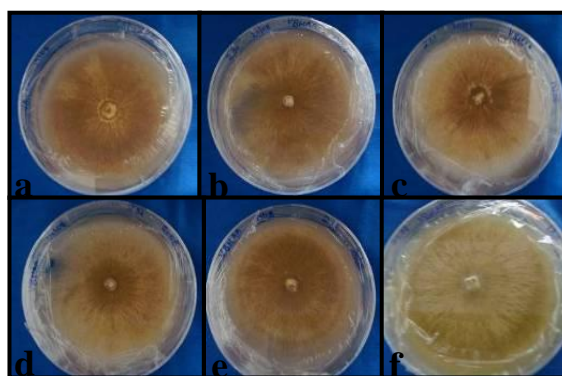


Figura 3. Variaciones de coloración observadas en colonias de *Moniliophthora roreri*: café oscuro-café claro-blanco (a); café oscuro-blanco (b); café oscuro-crema-blanco (c); café oscuro-café claro-blanco (d); café oscuro a blanco (e); café claro-blanco (f).

En mazorcas necróticas fue más común la presencia de *Fusarium sp.*, y colonias del género *Rhizoctonia*; en las hojas los patógenos encontrados más comunes corresponden a los géneros *Verticillium sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Pestalotiopsis sp.*, todos causantes de manchas foliares.

4. Discusión

Los síntomas y patógenos encontrados con mayor frecuencia en las áreas muestreadas se corresponden con las dos enfermedades más importantes y distribuidas del cacao en diferentes países incluyendo el Ecuador [11].

La proliferación de yemas laterales, engrosamiento de tejidos afectados en crecimiento y presencia de frutos con morfología diferente a la normal, se corresponden a lo descrito para el agente causal *Moniliophthora perniciosa* (ex *Crinipellis perniciosa*) [9], uno de los principales patógenos del cacao, agente causal de la enfermedad escoba de bruja. Este patógeno es un *basidiomycete* que fue conocido hasta el 2005 como *Crinipellis* y cambió su nombre debido a investigaciones que demostraron que estaba muy relacionado al patógeno conocido como *Moniliophthora roreri*. [11]. En este trabajo se logró la reproducción de un micelio blanco a partir de la recolección de basidiocarpos que corresponden a la fase inicial de la producción de basidiosporas para luego ser diseminadas e infectar tejidos meristemáticos de la planta, cuyas características se corresponden a lo descrito por varios autores [11].

Gran parte de los síntomas encontrados en mazorcas estuvieron relacionados a las características de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*): manchas color chocolate, deformación de frutos o tumefacciones, manchas con micelio y abundante producción de esporas de color crema a café y momificación de la mazorca. La capa polvosa presente en las mazorcas constituyó una vía fácil y rápida para realizar el aislamiento de *M. roreri*, que permitieron establecer diferencias en cuanto a coloración de cada uno de las colonias.

En algunas de las muestras de hojas traídas de campo se observó la presencia de manchas color marrón y una ligera clorosis foliar. Al realizar los análisis respectivos se identificó la presencia de hongos pertenecientes a los géneros *Verticillium sp.*, *Colletotrichum sp.* y *Pestalotiopsis sp.* La sintomatología se describe a manera de manchas amarillas que desemboca en un enrollamiento en las hojas hasta su posterior marchitamiento [9]. Tales hongos se encontraron en plantas que presentaban marchitez.

El crecimiento de las colonias de *M. roreri* en medio sólido V8 permitió obtener conidios que fueron evaluados para mediciones de sus esporas que oscilaban entre 5 a 15 μm con formas globosas, subglobosas y elipsoides [5], todas estas características se encuentran en el rango reportado para el agente causal de la moniliasis del cacao; sin embargo, la variación en la coloración de sus colonias da una pauta de posibles diferencias entre aislamientos, aspecto que debe ser estudiado con la finalidad de determinar la variabilidad genética existente en las poblaciones del patógeno. Estudios de la diversidad de esta especie señalan la existencia de cinco grupos genéticos dispersos [13], por lo que sería de gran interés, ahondar en el conocimiento de las poblaciones de *M. roreri* en el país.

A partir de mazorcas necrosadas se obtuvieron también colonias de coloración negra, cuyas estructuras reproductivas se correspondieron con las de la especie *Rhizoctonia solani*, vinculada con la presencia de marchitez y muerte de las mazorcas, aislamientos [12].

5. Conclusiones

Este trabajo, que forma parte de una serie de investigaciones encaminadas a lograr la recuperación del cacao nacional, permitió obtener una información actualizada sobre los principales síntomas presentes en plantaciones de varias áreas de la costa Ecuatoriana, aislar y conservar las especies de hongos que se encuentran asociadas a los síntomas más frecuentemente observados. Se corroboró la mayor frecuencia de las enfermedades escoba de bruja y moniliasis, detectándose además la presencia de *Verticillium sp.*, *Pestalotiopsis sp.* y *Colletotrichum sp.* asociados a síntomas foliares, la presencia de *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia solani* vinculados a las necrosis en mazorcas y uno de los agentes causales de daños de pudrición en tallo y raíz identificado como *Fusarium oxysporum*.

6. Recomendaciones

Teniendo en cuenta el interés de profundizar en el conocimiento de las poblaciones de los principales patógenos fúngicos del cultivo del cacao y encontrar alternativas para su control ambientalmente seguro, sería de interés determinar la variabilidad genética y patogénica de sus poblaciones en el país y evaluar la eficacia de bioproductos y biocontroladores nativos.

7. Agradecimientos

Un especial agradecimiento al Programa PL-480 (Proyecto “Recuperación de plantaciones improductivas de cacao fino de aroma), de donde se obtuvo el financiamiento y la oportunidad de realizar las visitas periódicas a las zonas de muestreo. A los agricultores por la colaboración brindada al compartir información sobre los problemas fitosanitarios en las fincas de evaluación, a los Fondos concursables para tesis de Postgrado - CICYT por la obtención de financiamiento para materiales de laboratorio y en especial a Miriam Villavicencio y Freddy Magdama por su valioso aporte en campo, laboratorio y por formar parte del equipo de trabajo.

8. Referencias

- [1] Arévalo E, Ortiz C., Zúñiga L., Gonzales J. 2005. Selección de plantas de cacao resistentes a la moniliasis usando savia del floema y fluidos embrionarios de frutos jóvenes.
- [2] Barnett H, Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect Fungi.
- [3] Evans, H. C. 1981. Pod Rot of Cacao caused by *Moniliophthora roreri*. *Phytopathological Papers* No. 24. CMI. Kew. Surrey, England. 44 pp.
- [4] Evans, H. C. 1999. Classical Biological Control. Pags. 29-37. In: Kraus, U. and, H. Hebbbar, eds. *Research methodology to in biocontrol of plant diseases with special reference to fungal diseases of cocoa*. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 28 June – 4 July, 1999.
- [5] Evans H.C., K. A. Holmes and A. P. Reid. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*.
- [6] Evans H.C., K. A. Holmes and A. P. Reid. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*.
- [7] Evans H.C., K. A. Holmes and A. P. Reid. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*.
- [8] Frank M, Dugan. 2005. The identification of fungi.
- [9] García Hernández, c. Ortiz-García, M. Boldoc y Bautista 2006. Aislamiento e identificación molecular de *Moniliophthora roreri*, causante de la moniliasis del cacao. Tamulte, Villa Hermosa, 3 pp.
- [10] Jiménez Feijó, M.I. 2008. Effect of the nutritional status of banana (*Musa spp.*) O leaf disease infestation by *Mycosphaerella fijiensis* morelet in Ecuador. Tesis 138pp.
- [11] Meinhardt L., Rincones J., Bailey M., W, Aime M. C., Griffith G., Zhang D., Pereira 2008. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witch’s broom disease of cacao: What’s new from this old foe? Belsville, USA.
- [12] Oliveira ,Martins 2005. Identificação e Manejo das Principais Doenças do Cacaueiro no Brasil, Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus – Bahia.
- [13] Oleas, A., Taco, M., Yáñez, V. y Falconí, C. Identificación de hongos vinculados con la muerte de mazorcas jóvenes de Cacao. Sangolquí-Ecuador. 1pp.
- [14] W. Phillips-Mora, M. C. Aime, M. J. Wilkinson, 2005. Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America Tropical Agricultural Research and Higher Education Centre (CATIE), 7170 Turrialba, Costa Rica.