

POSIBILIDADES DEL CONTROL BIOLÓGICO DE LA MONILIASIS
(*Moniliophthora roreri* Evans) DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.)

Por:

Nelson Bravo O.*

Jorge I. Victoria K.**

COMPENDIO

Se estudió la posibilidad de realizar el control biológico de la moniliasis de las mazorcas de cacao bajo condiciones de laboratorio y de campo. Se ensayó *in vitro* la acción antagonica de 23 antibióticos, seis cultivos bacteriales y seis de hongos hacia *Moniliophthora roreri* Evans. Posteriormente se ensayó el antagonismo de dos cultivos bacteriales seleccionados, a diferentes períodos de exposición, anteriores y posteriores a la siembra del hongo. *In vivo* se probó la acción de un cultivo bacterial contra el hongo inoculado en mazorcas de cacao antes y después de la aplicación de la suspensión bacterial.

Los antibióticos, cuatro cultivos bacteriales y los seis cultivos fungos mostraron ineficacia para inhibir significativamente el desarrollo de *M. roreri* *in vitro*. Los otros dos cultivos bacteriales produjeron un alto grado de inhibición tanto en los ensayos *in vitro* como *in vivo* especialmente en los tratamientos de tipo preventivo.

ABSTRACT

The possibilities to carry out biological control of monilia pod rot of cocoa were studied under laboratory and field conditions. The antagonic action of 23 antibiotics, six bacterial cultures and six fungal isolates against *Moniliophthora roreri* Evans was assayed *in vitro*. Further more the antagonic capacity of two selected bacterial cultures was assayed during different periods of exposure before and after transplanting the fungus. The action of one bacterial culture against the fungus when inoculated in cocoa pods was assayed before and after the applications of the bacterial suspension.

The antibiotics, four of the bacterial cultures and the six fungal isolates did not show any significant inhibitory effect on the development of *M. roreri* *in vitro*. The remaining two bacterial isolates produced a high degree of inhibition both in the *in vitro* and in the *in vivo* assay specially in the preventing treatments.

* Estudiante de pre-grado U. Nacional de Colombia- Palmira

** Instituto Colombiano Agropecuario ICA Palmira

1. INTRODUCCION

El control de la moniliasis (*M. rozeri*) de las mazorcas del cacao (*T. cacao*), uno de los factores que contribuye a que la producción Colombiana apenas satisfaga la demanda interna, se ha orientado hacia la utilización de sustancias químicas o a la aplicación de prácticas culturales.

Aunque en la literatura consultada no se encontró información sobre control biológico de la moniliasis, metabolitos de hongos y bacterias se han ensayado contra otras enfermedades del cacao y en otros cultivos con resultados positivos. En ensayos *in vitro* e *in vivo* toxinas de *Phytophthora palmivora* y *Aspergillus tamarii* mostraron capacidad antibiótica contra el hongo causante de la pudrición de la mazorca del cacao, *Phytophthora palmivora*, Bastos et al (1). En haba, *Trichotecium roseum* es antagonista con *Uromyces tabae*, Pruszyńska (3). Plántulas de cebolla se protegieron contra el damping-off originado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, agitando la semilla en una suspensión de la bacteria *Pseudomonas cepacia*, Kawamoto y Lorbeer (2).

El trabajo se propuso como objetivos estudiar la acción inhibitoria *in vitro* de 23 antibióticos, 6 cultivos bacteriales y 6 hongos; el efecto del período de exposición, antes y después de la siembra de *M. rozeri*, sobre los organismos que mostraron mejor acción antagonica y el comportamiento *in vivo* sobre mazorcas de cacao inoculadas artificialmente.

2. PROCEDIMIENTO

2.1. Localización

El trabajo se desarrolló en los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de Palmira y del programa de Fitopatología del Instituto Colombiano Agropecuario (I. C. A.). La etapa de campo se realizó, en cultivos de cacao del Centro Experimental del I. C. A. Palmira sembrado con el clón S. C. 6 considerado muy susceptible al ataque de *M. rozeri*.

2.2. Prueba de antibióticos

Se ensayaron 23 antibióticos en concentraciones diferentes a manera de antibiograma en cajas de Petri con medio de cultivo P. D. A. En un extremo de la caja se colocaban discos de papel impregnados con la sustancia a probar. A siete centímetros se colocaba un bloquecito de un cultivo puro de *M. rozeri* de unos 5 mm de diámetro. Se tomaban datos cada 4 días del crecimiento longitudinal de la colonia del hongo sobre el diámetro perpendicular a las líneas de siembra.

2.3. Prueba de microorganismos.

Se colectaron microorganismos (hongos y bacterias) de diferentes ambientes. Se llevaron a cultivos puros y se ensayaron también a manera de antibiograma. Los hongos se probaron colocando bloquitos y en el caso de bacterias se hacía un trazo en banda a lo largo de una de las líneas de siembra. En la línea opuesta se colocaba el bloqucito de cultivo puro del patógeno, y se midió cada cuatro días el crecimiento de *M. royeri*.

2.4. Antagonismo a diferentes períodos de exposición.

Con cuatro cultivos bacteriales, obtenidos por repurificación de dos cultivos ensayados en el paso anterior, se establecieron dos grupos de tratamientos. El primer grupo constituido por hongo y bacteria sembrados en forma simultánea y bacteria sembrada 5, 10 y 15 días antes del hongo y el segundo por bacteria sembrada 5, 10 y 15 días después del hongo.

2.5. Primer ensayo de campo.

La primera prueba de campo se realizó en el lote "Samanes" con 120 mazorcas de unos 2 meses distribuidas en 10 tratamientos con 3 repeticiones: 2 testigos absolutos, aplicación de la bacteria simultáneamente con la inoculación del hongo, 5, 10 y 15 días antes y después de inocular el hongo y un testigo relativo (mazorcas inoculadas con el hongo). Se hizo una sola aplicación de la bacteria en una concentración de 5×10^8 células por mililitro. Semanalmente se registraba el estado de las mazorcas y al presentarse los síntomas de la afección se hacía un estimativo del porcentaje del área total afectada.

2.6. Segundo ensayo de campo.

Se realizó en el lote "Distancias de Siembra" con 96 mazorcas distribuidas en 8 tratamientos y 3 repeticiones. La suspensión bacteriana se aplicó después de inoculado el hongo así: 1) Simultánea con la inoculación; 2) 0 y 90 días; 3) 0,45 y 90 días; 4) 0,30, 60 y 90 días; 5) 0,23, 46, 69 y 92 días; 6) 0, 18, 36, 54, 72 y 90 días; 7) 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días 8) Testigo (mazorcas inoculadas con *M. royeri*).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Prueba de antibióticos.

Ninguno de los antibióticos inhibió el desarrollo de *M. royeri*, por el contrario, su crecimiento fué mayor que el del testigo en presencia de cefa-

loridina, dicloxacilina, rifadin (fig 1). Cefalecina, gentamicina y bacitracina (fig 2), mostraron cierto grado de inhibición pero al final el hongo recomenzaba su crecimiento hasta alcanzar la línea de siembra opuesta. Pudo ocurrir que el hongo metabolizara las sustancias y creciera más rápido, neutralizara la acción del antibiótico o produjera enzimas que los desgradaran.

3.2. Prueba de microorganismos.

Se obtuvieron dos cultivos de *Aspergillus*, dos de *Penicillium*, dos de un hongo desconocido y seis cultivos bacteriales. *Aspergillus* y *Penicillium* no inhibieron el desarrollo de *M. royeri*. Los dos cultivos del hongo produjeron inhibición no significativa (17.40/o y 5.710/o). De los 6 cultivos bacteriales, solo las bacterias 1 y 2 inhibieron al hongo en un 76.60/o y 77.30/o respectivamente. Este resultado se consideró altamente positivo ya que mostró que el hongo es susceptible a metabolitos producidos por algunos microorganismos.

3.3. Antagonismo a diferentes períodos.

Los cultivos bacteriales 1-1, 1-2, 2-1 y 2-2 mostraron un comportamiento muy uniforme en los diferentes tratamientos (fig 3). La inhibición del patógeno era mayor a medida que el tiempo entre la siembra de la bacteria y la del hongo era mayor; es decir que la mejor respuesta se presentó en los tratamientos de tipo preventivo.

3.4. Primer ensayo de campo.

En los tratamientos en que el tiempo entre la aplicación de la suspensión bacteriana y la siembra del hongo era mayor ocurrió el menor porcentaje de afección o sea que la aplicación preventiva mostró los mejores efectos (Cuadro 1).

3.5. Segundo ensayo de campo.

Los tratamientos en los cuales se hizo el mayor número de aplicaciones presentaron el mayor porcentaje de afección (Cuadro 2). Esto pudo ocurrir por la humedad que se adicionaba a las cámaras húmedas al aplicar la suspensión bacteriana y porque las distancias de siembra en el lote donde se realizó el experimento (4 x 4, 4 x 3, 4 x 2 y 5 x 3 m.), ofrecían un ambiente más cerrado para la humedad ambiental, la circulación de aire y la penetración de luz.

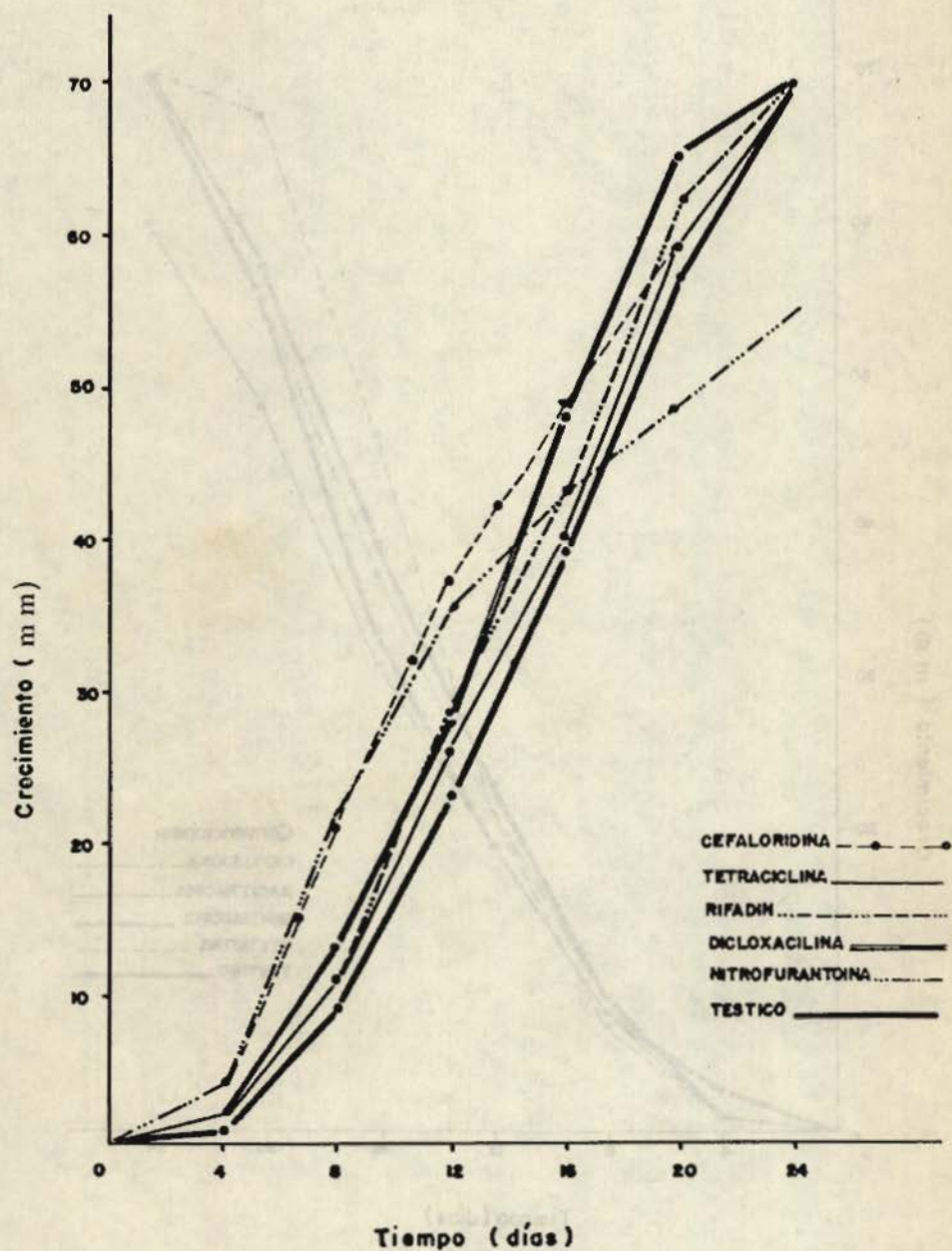


FIG. 1 Crecimiento de *M. royeri* in vitro en presencia de algunos antibióticos

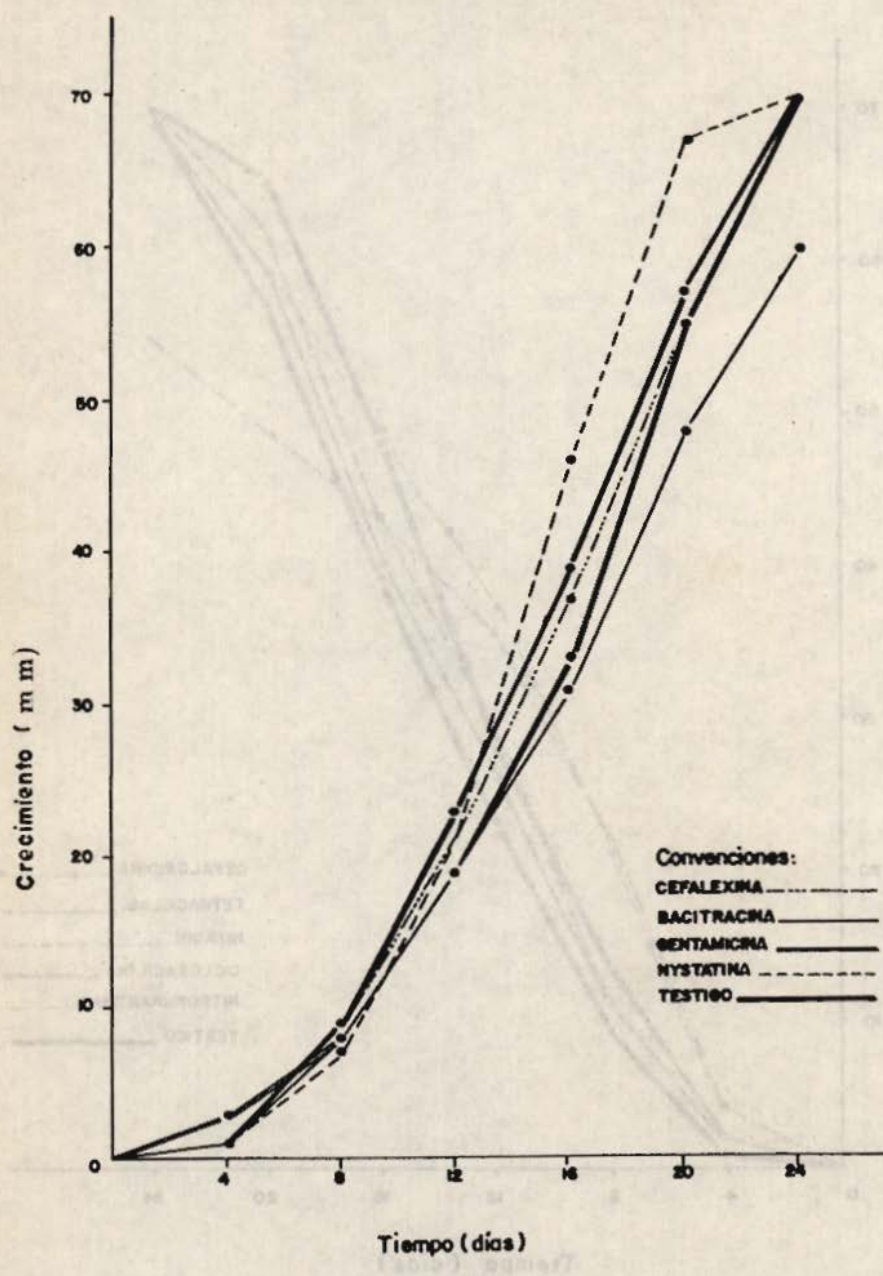


FIG. 2 Crecimiento de *M. roveri* in vitro en presencia de algunos antibióticos:

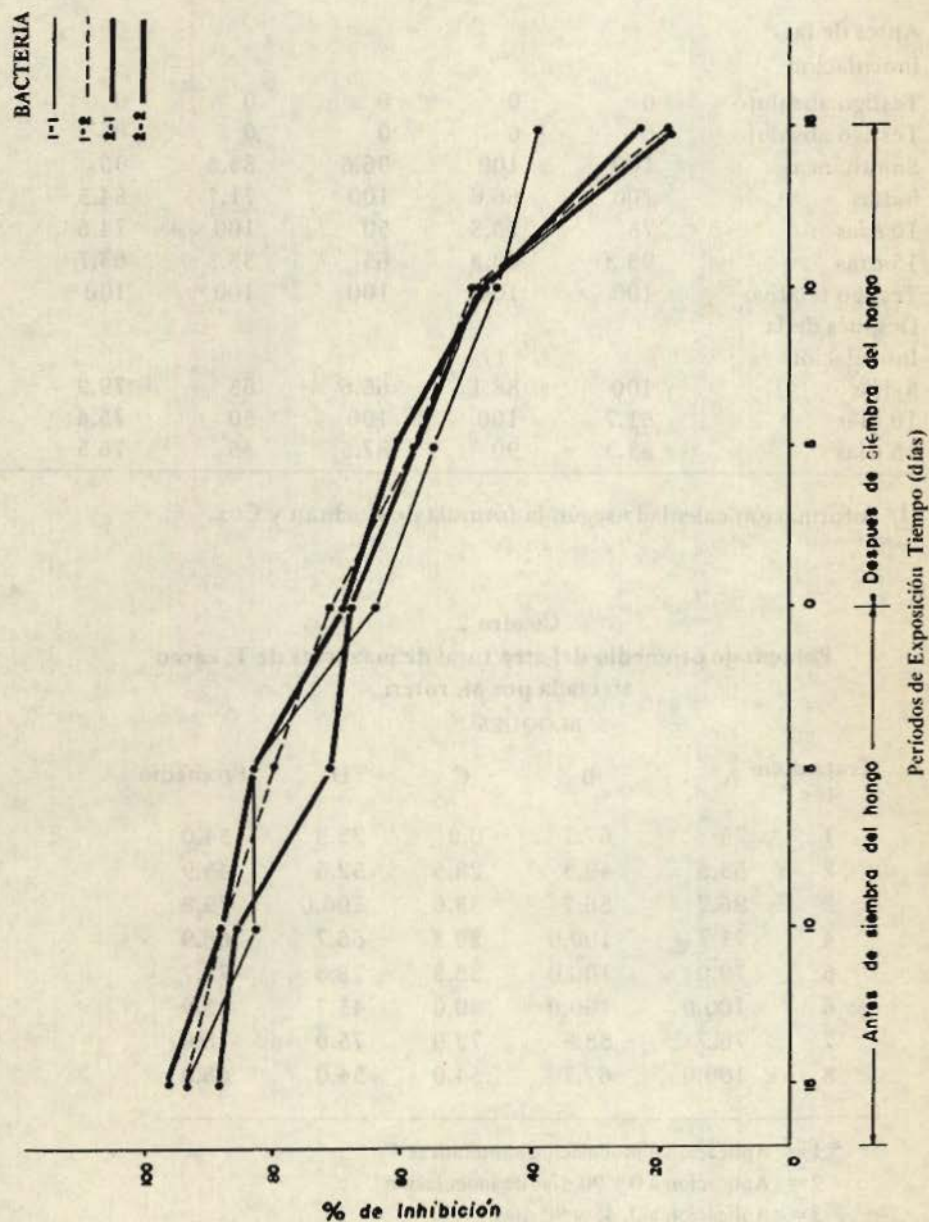


FIG. 3 Porcentaje promedio de inhibición producidos por los cuatro cultivos bacteriales en períodos de exposición anteriores y posteriores a la siembra del hongo.

Cuadro 1

Porcentaje promedio del área total de mazorcas de T. cacao afectada por M. royeri

Tratamientos	BLOQUES				Promedio
	A	B	C	D	
Antes de la Inoculación					
Testigo absoluto	0	0	0	0	0
Testigo absoluto	0	0	0	0	0
Simultánea	100	100	96.6	83.3	95
5 días	100	66.6	100	71.7	84.5
10 días	75	73.3	50	100	74.6
15 días	93.3	63.3	65	33.3	63.7
Testigo relativo	100	100	100	100	100
Después de la Inoculación					
5 días	100	88.1	66.6	65	79.9
10 días	51.7	100	100	50	75.4
15 días	83.3	90	87.5	45	76.5

1/ Información calculada según la fórmula de Cochran y Cox.

Cuadro 2

Porcentaje promedio del área total de mazorcas de T. cacao afectada por M. royeri

Tratamientos *	BLOQUES				Promedio
	A	B	C	D	
1	75	67.7	0.0	73.3	54.0
2	53.3	49.3	28.5	52.5	45.9
3	96.7	86.7	35.6	100.0	79.8
4	71.7	100.0	29.3	66.7	66.9
5	70.0	100.0	38.3	78.3	71.7
6	100.0	100.0	90.0	45.7	83.9
7	76.7	88.3	72.0	75.0	78.0
8	100.0	67.7	54.0	54.0	68.9

- * 1 = Aplicación e inoculación simultáneas
 2 = Aplicación a 0 y 90 días de inoculación
 3 = Aplicación a 0, 45 y 90 días.
 4 = Aplicación a 0, 30, 60 y 90 días
 5 = Aplicación a 0, 23, 46, 69 y 92 días
 6 = Aplicación a 0, 18, 36, 54, 72 y 90 días
 7 = Aplicación a 0, 15, 30, 45, 60, 75, y 90 días
 8 = Testigo: mazorcas inoculadas con M. royeri

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 4.1. Existe la posibilidad de controlar biológicamente al agente causal de la moniliasis del cacao.
- 4.2. Los cultivos bacteriales, posiblemente del género *Bacillus*, especialmente el cultivo 2-1, mostraron capacidad para inhibir a *M. rozeri* tanto *in vitro* como *in vivo* (primer ensayo de campo).
- 4.3. Los mejores resultados en los ensayos *in vitro* e *in vivo* se lograron con los tratamientos de tipo preventivo.
- 4.4. Se recomienda realizar algunos trabajos para determinar el comportamiento de las bacterias sobre las mazorcas lo cual permitiría hacer inferencias acerca de la regularidad de las aplicaciones. Ensayar el efecto de unas 2-3 aplicaciones previas a la inoculación del hongo. Probar la manera de producir la bacteria en cantidades apreciables y económicamente. Con toda esa información se podría intentar la aplicación del sistema de control en áreas donde la enfermedad es limitante.

5. BIBLIOGRAFIA

1. BASTOS, C. N., LELLIS, W. T. and FIGUEIREDO, J. M. DE. Inhibition of *Phytophthora palmivora* Butl. by its toxin and by the toxin of *Aspergillus tamaritii* Kita. BOL. INST. BIOL. BAHIA 14(1): 17-20. 1975. In: Biological Abstracts, BIOSCIENCE INFORMATION SERVICE. 63 (3): 1710 1977.
2. KAWAMOTO, S. O. and LORBEER, J. W. Protection of onion seedlings from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* by seed and soil infestation with *Pseudomonas cepacia*. PLANT. DIS. REP. 60(3): 189-191. 1976. In: Biological Abstracts, BIOSCIENCE INFORMATION SERVICE. 62 (3): 1625. 1976).
3. PRUSZYNSKA G. M. The possibility of using *Trichotecium roseum* in the control of *Uromyces fabae* (Pers). De bary. WIAD. BOT. 19 (3): 189-191. 1975. In: Biological Abstracts, BIOSCIENCE INFORMATION SERVICE. 62 (3): 1624. 1976.