

## INCOPEP 5<sup>TH</sup> INTERNATIONAL SEMINAR

16-17 October, 2006; San José, Costa Rica

(Following the 15<sup>th</sup> Internacional Cocoa Research Conference, ICRC)

“Developing Effective Sustainable Crop Protection Systems for Increased Cocoa Production”

“NEW SOURCES TO RESISTANCE TO *Moniliophthora roreri*”

Carmen Suárez-Capello, PhD-Plant Pathologist; Freddy Amores, Ing. Agr. MSc., Otto López, research student, NATIONAL COCOA PROGRAM, INIAP, EETPichilingue, Km 5.5 vía Quevedo-El Empalme. Tel: (+593)52761736, [odlopez83@yahoo.com](mailto:odlopez83@yahoo.com)

### Resumen

Evaluando el comportamiento individual de una antigua población de híbridos de cacao en Pichilingue, se encontraron once árboles con una incidencia anual de Moniliasis < 15%, mientras el promedio de la población fue del 60%, para determinar si esta resistencia es genética se realizó un estudio inoculando un mínimo de treinta frutos por árbol, con una suspensión de esporas de  $5 \times 10^4$ . Como control se inocularon tres árboles susceptibles (> 50% de infección) y los clones SCA 12 y EET 387 (resistentes); EET 19, EET 48 y EET 103 (susceptibles). Los frutos se obtuvieron por polinización manual con polen del IMC 67; antes y después de la inoculación, los frutos se mantuvieron cubiertos para evitar la infección natural. Después de la inoculación se hicieron observaciones semanales para registrar el periodo de incubación y cuando los frutos alcanzaron la madurez se los cosecharon y evaluaron según escalas establecidas de severidad externa e interna. Un árbol no ha presentado reacción a las inoculaciones y dos se mantienen por debajo del 30% de infección. El SCA 12 presentó 77% de infección y los demás árboles se mantienen alrededor de la media esperada (> 50%). Se discuten algunos de los componentes de la resistencia que pudieran estar presentes en los cultivares.

### I. INTRODUCCIÓN

El cacao ha sido importante para el Ecuador, desde los tiempos de la colonia, cuando dependió exclusivamente de este cultivo; todos los gastos que produjo la independencia de América, el mantenimiento de las tropas y abastecimiento de armamento fueron cubiertos por las riquezas generadas de la comercialización de cacao, todo esto se dio hasta la aparición de un complejo de enfermedades, alrededor de 1914 a 1920, en las que se destaca la Moniliasis del cacao. Esta enfermedad continua hoy día siendo uno de los factores limitantes en la producción cacaotera. El agente causal es el hongo *Moniliophthora roreri*, de donde se deriva su nombre común “Moniliasis” (Rorer, 1916).

La Moniliasis es una enfermedad que afecta exclusivamente a las mazorcas, pudiendo ocasionar pérdidas promedio en la producción del 40 al 80 %, por ende disminuyendo las ganancias de nuestros productores (Suárez, 1983). Los daños producidos por la enfermedad varían de acuerdo a las condiciones ambientales, el manejo del cultivo y los genotipos cultivados. Es necesario conseguir medidas de control sostenibles como la resistencia genética, además de capacitar y fomentar en nuestros productores el uso de técnicas que permitan disminuir las pérdidas ocasionadas por la Moniliasis para reactivar este cultivo.

Una de las formas más efectivas para reducir las pérdidas por Moniliasis es el cultivar de variedades con resistencia genética. Para esto el INIAP trabaja en el desarrollo de nuevas variedades con genotipos que reúnan resistencia a las enfermedades, características organolépticas y capacidad productiva.

Se han registrado datos de las cosechas de un grupo de árboles seleccionados en el lote “2A” de la EET. Pichilingue (Agama, 2004), los cuales han dejado a la vista que la incidencia de Moniliasis no es igual en todos ellos, destacándose estadísticamente un grupo de 11 individuos que, además de ser productivos, presentan una incidencia de *M. rozeri* inferior al 15 %. Estos porcentajes bajos podrían deberse a genes de resistencia o a una resistencia aparente (Agris, 2002), producido por las circunstancias ambientales predominantes al momento de la producción de dichas plantas (circunstancias climáticas desfavorables para la enfermedad, ubicación de las plantas en la huerta, etc.). La existencia de árboles con resistencia genética a la *Moniliasis* sería un gran aporte para futuras investigaciones, por lo cual se torna necesario verificar por medio de inoculaciones artificiales de *M. rozeri* la reacción genética de estos árboles frente a la enfermedad, para comprobar si se trata de una expresión de resistencia genética o simplemente de escape. Esta observación dio paso a la presente investigación de inocular las mazorcas de estos árboles de manera artificial y así comprobar si realmente tienen resistencia a la Moniliasis. Si se comprobara que estos materiales tienen algún nivel de resistencia y además una buena producción, así se podrá constituir una fuente interesante para futuras investigaciones donde se mida su adaptación y calidad en otras zonas productoras de cacao. Además, podrían convertirse en parentales útiles para futuros esquemas de mejoramiento como la transferencia hereditaria de la resistencia a esta enfermedad en nuevos cultivos de cacao.

## **A. Objetivos**

### **Objetivo General**

Obtener nuevas fuentes de resistencia a Moniliasis en cacao como una contribución a los esfuerzos que se vienen haciendo para reducir la incidencia de esta enfermedad.

### **Objetivos Específicos**

- 1.- Conocer la reacción de un grupo de genotipos de cacao a la inoculación artificial de *Moniliophthora rozeri*.
- 2.- Determinar si hay niveles importantes de resistencia a Moniliasis y si esta son una expresión genotípica o producto de circunstancias ambientales (escape).
- 3.- Relacionar los niveles de infección natural de la población en estudio con su reacción a la inoculación artificial.

## **II. MATERIALES Y METODOS**

La investigación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP), ubicada en el 5 Km. de la vía Quevedo – El Empalme, sus coordenadas geográficas 79° 28´ 24`` de latitud sur a 85msnm<sup>2</sup>. con una precipitación de 2442.6mm, 25°C de temperatura promedio, humedad relativa 85.15% y 889.4 horas luz/año; posee dos estacione climáticas, la seca (junio a diciembre) y la lluviosa (diciembre a mayo).



Fig 1. Lote 2 A. EET-Pichilingue, INIAP, Ecuador

El trabajo de campo se llevó a cabo en el lote de cacao conocido como “lote 2A”. La huerta esta compuesta por un grupo de 620 árboles, de los cuales 11 árboles dotados de buena productividad presentaron en condiciones naturales, niveles de incidencia de Moniliasis inferiores al 15%. El lote tiene 52 años y los árboles se rehabilitaron (descope) en 1990. En la actualidad el lote se mantiene a una altura promedio de tres metros mediante podas anuales. Como testigos comparativos se añadieron al estudio clones comerciales y experimentales de comportamiento conocido. Los genotipos que se utilizaron son los siguientes:

Grupo A: Árboles con bajo índice de infección (Resistentes).

**Código / Genealogía**

2396	EET 161 X EET 166 (N. * V.A. ) * (N. * V.A.)
2250	EET 156 * EET 166 (N. * V.M.9 ) * ( N. * V.A.)
2228	EET 166 * EET 84 ( N. * V.A.) * (V.M.)
2217	EET 238 * EET 106
2197	(N. * V.M.) * (N.)
2195	
2126	EET 48 * EET 195 (N.) * (N.)
2078	EET192 * EET 237 (N.) * (V.M.)
2076	
2748	Desconocido

Grupo B: Árboles con alto índice de infección (Susceptibles)

2327	EET6 * SCA 12 (V.M.) * (Cr.V.)
2570	EET 250 * EET 110 (V.A.) * (For.)

Grupo C: Clones experimentales como testigo resistentes.

SCA 12
(EET 387) Selec hibrido cruce 2122

Grupo D: Clones comerciales de cacao nacional como testigo susceptibles

EET 19 (Tenguel 15)
EET 48 (Santa rosa 34)
EET 103 (Tenguel 25 )

Los árboles y clones se sometieron a riego para promover su floración, se aplicó Boro al 22% de manera foliar (2 g/L de agua) para estimular la floración y formación de frutos después de la polinización artificial. Se eliminaron los frutos existentes.



Fig 2. Polinización artificial

La polinización artificial; se efectuó protegiendo botones con tubos plásticos (Eppendorf de 1.5 mL) para evitar la fecundación natural. Al siguiente día se procedió a realizar la polinización artificial, manualmente para obtener una cantidad de frutos por árbol con la misma edad.

Los frutos formados se protegieron con fundas plásticas para evitar su contaminación hasta el día de la inoculación con *M. royeri*. Debido a la cantidad de frutos deseada, se efectuaron al menos 90 polinizaciones, considerando que apenas el 40% de las flores fecundadas llegan a formar frutos.

Cuando los frutos alcanzaron los 85 días de edad (8cm de longitud aproximadamente), se inocularon con una suspensión de 50000 esporas/mL de *M. royeri*, obtenida en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento Nacional de Protección Vegetal (DNPV), de la EET. Pichilingue, donde se aisló el hongo de mazorcas infectadas, en medio de cultivo PDA (Agar-papa-dextrosa) deshidratado (Difco) y se incubó por 30 días. A la suspensión de esporas de *M. royeri*, se le añadió Tween 80 al 0,01% como dispersante.

Se efectuaron observaciones dos veces por semana para evaluar el tiempo de aparición de los primeros síntomas en cada material. Cuando los tratamientos testigo llegaron a su madurez fisiológica se procedió a realizar la evaluación de las mazorcas mediante las escalas propuestas.

El experimento se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar en el tiempo, donde cada árbol es una unidad experimental o tratamiento y cada mazorca un objeto de observación en una población. Los parámetros medidos fueron la severidad externa e interna a través de la escala propuesta por Sánchez (1982).

#### Severidad externa.

Valor	Sintomatología externa
0	Fruto sano
1	Presencia de hidrosis
2	Presencia de tumefacción y/o amarillamiento
3	Presencia de manchas pardas
4	Presencia de micelio que cubre hasta la cuarta parte de la mancha parda
5	Presencia de micelio que cubre más de la cuarta parte de la mancha parda

Severidad interna:

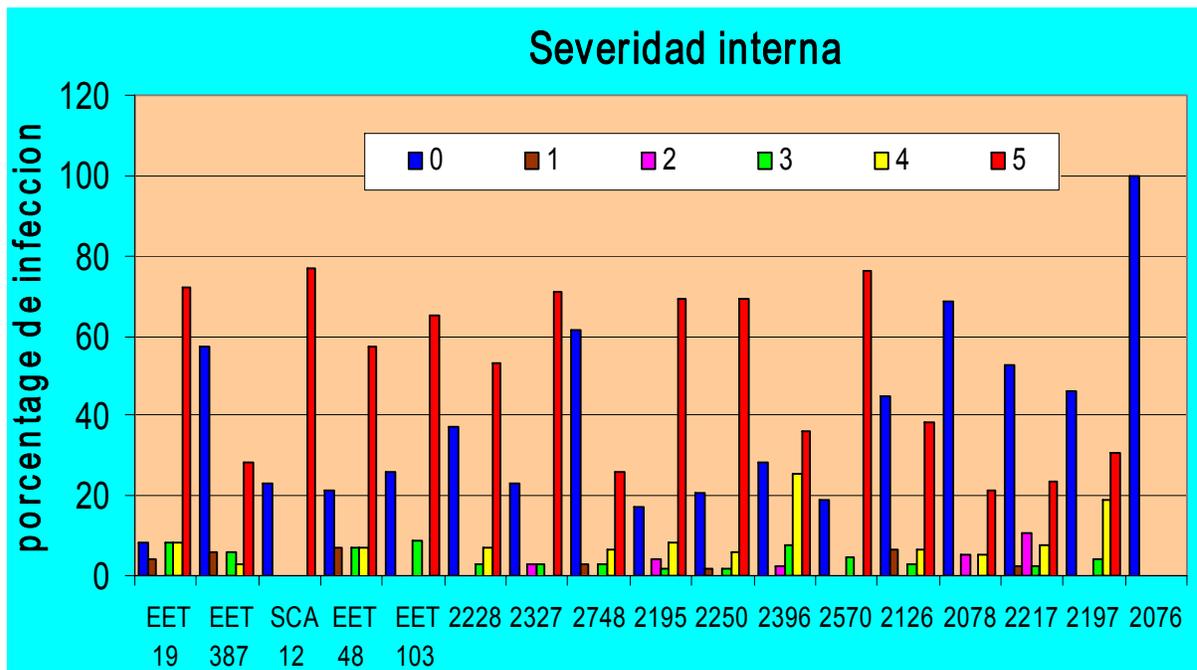
Evaluación de acuerdo con el grado de necrosamiento interno de cada mazorca y medido por medio de la siguiente escala.

Valor	Porcentaje de área necrosada
0	0
1	1 - 20
2	24 - 40
3	41 - 60
4	61 - 80
5	80

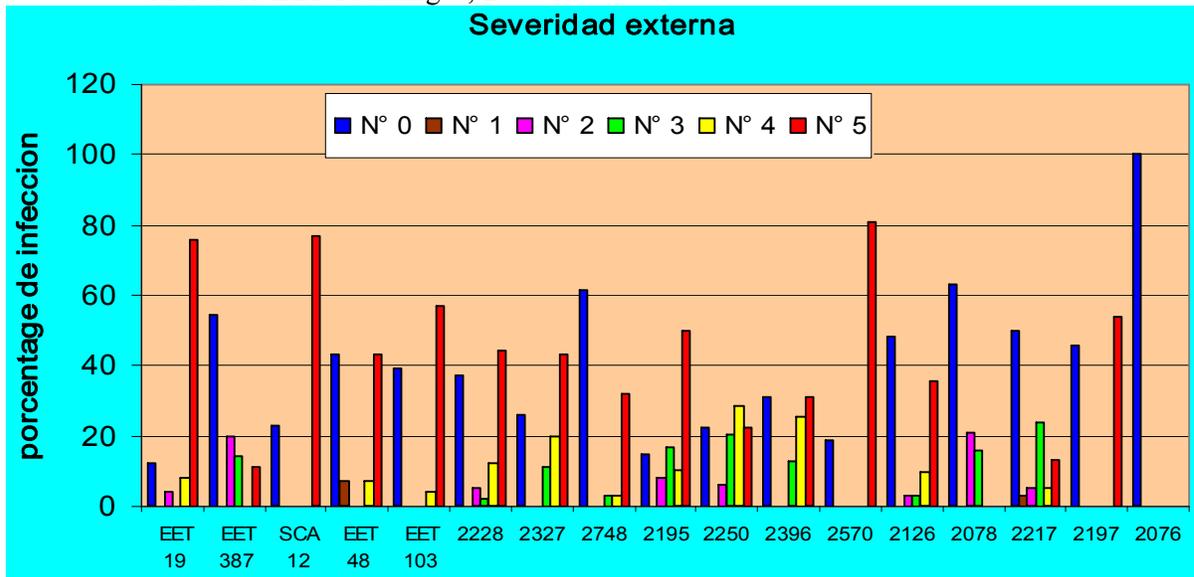
### RESULTADOS

A continuación se muestran los porcentajes obtenidos a través de las escalas de severidad aplicadas en los materiales evaluados, en donde se observa que dos de los individuos (2078 y 2748) presentan niveles parecidos en cuanto a la tolerancia a *M. royeri* del clon EET 387 considerado dentro del grupo de materiales con tolerancia a la enfermedad. En los datos no se muestran resultados del individuo 2078, debido a que no se ha completado la evaluación de este material.

**Figura 3.** Porcentaje de Severidad Interna obtenidos en 16 materiales de cacao inoculados con *M. royeri*. EET-Pichilingue, 2006



**Figura 4.** Porcentaje de Severidad Externa obtenidos en 16 materiales de cacao inoculados con *M. royeri*. EET-Pichilingue, 2006



A continuación se muestran imágenes de las mazorcas evaluadas, donde el árbol 2078 es el que presenta el menor número de mazorcas infectadas por *M. royeri* en relación al árbol 2327.



**Fig. 5.** Mazorcas de árbol 2078 con poca incidencia de *M. royeri*



**Fig. 6.** Mazorcas de árbol 2327 con alta incidencia de *M. royeri*

## DISCUSION

Parcialmente solo dos de los materiales evaluados se mantienen sobre el margen del testigo resistente el EET 387, el cual se mantiene con un 40 % de infección. El SCA12 presento el 77% de infección lo cual nos indicaría que bajo nuestras condiciones tiene una baja tolerancia a *M. royeri*. Estos resultados ponen en evidencia que los materiales seleccionados como posible fuente de resistencia en el lote 2 A (Agama, 2004) expuestos a inoculaciones del patógeno se presentarían como tolerantes a *M. royeri* debido a mecanismos de escape a la enfermedad

Este mecanismo de escape ocurre cuando las plantas genéticamente susceptibles no se infectan, ya que los tres factores necesarios para que se desarrolle la enfermedad como lo son el hospedante susceptible, el patógeno virulento y el ambiente favorable no coinciden ni interactúan en el momento oportuno (Agrios, 2002)

Las labores culturales efectuadas en el lote 2A, desde los años 90 para bajar la fuente de inóculo por medio de la rehabilitación de las huertas a través del descope y reducción de la altura de las plantas a tres metros sumado a la poda sanitaria anual y la remoción semanal de los frutos enfermos (Suárez; 1993) podrían reducir la fuente de inóculo y así las plantas podrían escapar a la enfermedad y expresar niveles bajos de infección en condiciones naturales

Estos datos, son parciales pues aún falta por registrar datos de dos árboles, debido a su escasa floración y fructificación. Por cuyo ritmo de floración, se podría esperar que estos individuos también escapen a la enfermedad.

## BIBLIOGRAFIA

- AGAMA, P. J. E. 2005. Selección de Progenies y Plantas Elites de Caçao (*Theobroma caçao* L.) Mediante la Evaluación de Características Agronômicas y de Resistência a Enfermedades. Tesis. Ing Agr. Quito. Ecuador. Universidad Central del Ecuador. 112 p
- AGRIOS. G. N. 2002. Fitopatología. UTHEA. Noriega Editorial. Segunda edición. P. 125-139.
- CRUZ. S. 1993. Determinación de Fuentes de Resistencia de Cacao de origen Nacional al Ataque De *Monilia roreri* (Cif & Par). Tesis. Ing Agr. Guayaquil. Ecuador. Universidad de Guayaquil. 102 p
- DELGADO. J y SUAREZ. C 1993. Moniliasis del cacao. Quito. Ecuador. FUNDAGRO-INIAP. N° 10 Documento técnico. 8 p
- SANCHEZ. J. 1987. Metodología para la inoculación de mazorcas con el hongo *Moniliophthora roreri*. In 10° Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, p. 467- 471.
- SENASA. 2003. La Moniliasis del cacao. Disponible en [http://www.senasa.gob.pe/sanidad\\_vegetal/programas\\_fitosanitarios/ci\\_moniliasis\\_cacao/moniliasis\\_cacao.htm](http://www.senasa.gob.pe/sanidad_vegetal/programas_fitosanitarios/ci_moniliasis_cacao/moniliasis_cacao.htm). Consultado el noviembre 2005.
- SUAREZ. C. C. 1971. Estudio de mecanismo de penetración y del proceso de infección de *Monilia roreri* (Cif & Par) en frutos de cacao (*Theobroma cacao*). Tesis Ing. Agr., Guayaquil, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Guayaquil. Ecuador. 59p.
- SUAREZ. C 1993. Enfermedades de cacao y su control. In. Suárez. C. ed. Manual del Cultivo de Cacao. 2da. Ed. Quevedo, Ecuador, EET-Pichilingue. Manual Técnico No.25.p. 90-116.