



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



TRABAJO DE TITULACIÓN

Componente Practico del Examen de Grado de carácter Complexivo, presentado al H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, como requisito previo para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

TEMA:

“Bacillus subtilis en el control de Phytophthora palmivora y Moniliophthora roreri en mazorcas de cacao”

AUTOR:

Lenin Alejandro Castro Junco

TUTOR:

Ing. Agr. Dalton Cadena Piedrahita, PhD.

Babahoyo- Los Ríos - Ecuador

2022

RESUMEN

El hongo fitopatógeno *Phytophthora* spp. puede afectar todos los tejidos de las plantas de cacao como los cojinetes florales, chupones tiernos y plántulas de viveros, causando un síntoma característico una mancha color café tabaco en las hojas nuevas, siendo responsable también del cáncer del tronco y raíces, presentándose el mayor daño en los frutos. El hongo *M. roreri* inicia su proceso de penetración y desarrollo en cualquier fase de su desarrollo, pero son más susceptibles en la etapa inicial. De forma externa los síntomas aparecen como puntos aceitosos muy pequeños y circulares, los mismos que se transforman en manchas irregulares de color amarillo y marrón. Entre los tres y cuatro días, se desarrolla el micelio blanco sobre las lesiones y luego aparecen las esporas, las cuales confieren un color crema a marrón. La información obtenida fue efectuada mediante la técnica de análisis, síntesis y resumen, con la finalidad de que el lector conozca sobre la importancia del uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao. Por lo anteriormente detallado se determinó, que La antibiosis es el principal mecanismo de movimiento de *B. subtilis* contra los patógenos *M. roreri* y *P. palmivora*, a través de la formación de lipopéptidos antifúngicos incluyendo sulfactina, iturina y fengicinas, diferentes pocos mecanismos conocidos es la competencia por el espacio, la inducción de la resistencia y el aumento de promotor, incluyendo la solubilización de P, la fijación de nitrógeno, la producción de auxina y amoníaco. *B. subtilis*. son quitinolíticos y pueden ser adversarios sin demora de los hongos patógenos de las plantas, entre los que se encuentran *M. roreri* y *M. pernicioso*. La aplicación formulados de *B. subtilis* QST 713 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), alternado con *B. pumilus* estrés QST 2808 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), presenta la mayor eficacia de control para *P. palmivora*, por lo que se recomienda esta aplicación en las plantaciones de cacao.

Palabras claves: *Bacillus subtilis*, *Phytophthora palmivora*, *Moniliophthora roreri*, cacao, manejo.

SUMMARY

The phytopathogenic fungus *Phytophthora* spp. can affect all tissues of cocoa plants such as floral bearings, tender suckers and nursery seedlings, causing a characteristic symptom a tobacco brown spot on new leaves, being also responsible for cancer of the trunk and roots, presenting the greatest damage in the fruits. The *M. roreri* fungus initiates its penetration and development process at any stage of its development, but it is more susceptible in the initial stage. Externally, symptoms appear as very small, circular, oily spots, which turn into irregular yellow and brown spots. After three to four days, white mycelium develops on the lesions and then the spores appear, which confer a cream to brown color. The information obtained was carried out through the technique of analysis, synthesis and summary, with the purpose of informing the reader about the importance of the use of the bacterium *Bacillus subtilis* in the control of *Phytophthora palmivora* and *Moniliophthora roreri* in cocoa pods. From the above detailed it was determined, that Antibiosis is the main mechanism of movement of *B. subtilis* against pathogens *M. roreri* and *P. palmivora*, through the formation of antifungal lipopeptides including surfactin, iturin and phengicins, different few known mechanisms is competition for space, induction of resistance and promoter enhancement, including P solubilization, nitrogen fixation, auxin and ammonia production. *B. subtilis*. are chitinolytic and can be prompt adversaries of plant pathogenic fungi, including *M. roreri* and *M. perniciososa*. The formulated application of *B. subtilis* QST 713 (2 L/ha, 10 cc/L of water), alternated with *B. pumilus* stress QST 2808 (2 L/ha, 10 cc/L of water), presents the highest control efficacy for *P. palmivora*, so this application is recommended in cocoa plantations.

Key words: *Bacillus subtilis*, *Phytophthora palmivora*, *Moniliophthora roreri*, cocoa, management.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	3
MARCO METODOLÓGICO	3
1.1. Definición del caso de estudio.....	3
1.2. Planteamiento del problema.....	3
1.3. Justificación	3
1.4. Objetivos.....	3
1.4.1. Objetivo general	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	4
1.5. Fundamentación teórica.....	4
1.5.1. Generalidades del cultivo de cacao	4
1.5.2. Infestación por el hongo <i>P. palmivora</i> en el cultivo de cacao	6
1.5.2.1. Clasificación taxonomía.....	6
1.5.2.2. Agente causal de la mazorca negra (<i>P. palmivora</i>)	6
1.5.2.3. Origen de la enfermedad mazorca negra	7
1.5.2.4. Características del género <i>Phytophthora</i>	7
1.5.2.4.1. Morfología de los pseudohongos	7
1.5.2.4.2. Biología de los pseudohongos	8
1.5.2.5. Epidemiología.....	9
1.5.2.6. Sintomatología de la enfermedad	10
1.5.2.6.1. Síntomas de mazorcas maduras y no maduras.....	10
1.5.2.6.2. Síntomas en cojinetes florales y tallos.....	10
1.5.2.7. Ciclo de la enfermedad.....	11
1.5.3. Infestación por el hongo <i>Moniliophthora roreri</i> en el cultivo de cacao	12
1.5.3.1. Clasificación taxonómica	12
1.5.3.2. Origen y distribución de <i>M. roreri</i> en América Latina	12
1.5.3.3. Morfología de <i>M. roreri</i>	13
1.5.3.4. Condiciones climáticas para el desarrollo de la enfermedad	14
1.5.3.4.1. Epidemiología	14
1.5.3.4.2. Mecanismos de infección	14
1.5.3.4.3. Ciclo de vida de la enfermedad	15
1.5.3.4.4. Síntomas externos	16

1.5.3.4.5.	Síntomas internos	16
1.5.3.4.6.	Supervivencia del hongo <i>M. roreri</i>	17
1.5.4.	Características de <i>B. subtilis</i>	17
1.5.4.1.	Clasificación taxonómica	18
1.5.4.2.	Origen de <i>B. subtilis</i>	18
1.5.4.3.	Ciclo de vida.....	18
1.5.4.3.1.	Endospora.....	19
1.5.4.3.2.	Propiedades de la endospora.....	19
1.5.4.3.3.	Germinación.....	20
1.5.4.4.	Mecanismo de acción del <i>B. subtilis</i>	20
1.5.4.4.1.	Antibiosis.....	20
1.5.4.4.2.	Inducción de defensas secundarias	21
1.5.5.	Modo de acción de <i>B. subtilis</i> contra los hongos patógenos <i>P. palmivora</i> y <i>M. roreri</i> en el cultivo del cacao	22
1.6.	Hipótesis	25
1.7.	Metodología de la investigación	25
CAPITULO II		26
RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....		26
2.1.	Desarrollo del caso	26
2.2.	Soluciones detectadas	26
2.4.	Conclusiones	28
2.5.	Recomendaciones	28
BIBLIOGRAFÍA		29

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao tiene una importancia muy amplia a nivel mundial, en la cual esta especie se desarrolla en diversos agroecosistemas. Existen dos tipos de cacao que se comercializan: ordinario (Forastero) y el cacao fino y de aroma (Criollo y Trinitario). El tipo de cacao Forastero presenta una participación del 85 % en el mercado mundial, en cuanto al cacao fino y de aroma representa el 15 %, siendo utilizado para la elaboración de chocolate gourmet (Vera *et al* 2018).

La enfermedad conocida como moniliasis, causada por el hongo *Moniliophthora roreri*, puede ocasionar pérdidas que fluctúan entre el 40 y 100 %, convirtiéndose por lo tanto en el factor más limitante para la producción de cacao. Debido a esta infección, la producción ha venido decreciendo de manera regular en los últimos 10 años, en la cual se estima que se perdió más del 40 % de su cosecha anual a nivel mundial (Tirado *et al* 2016).

En el cultivo de cacao, la mazorca es el único órgano infectado por *M. roreri*. El proceso de penetración y desarrollo del fitopatógeno puede ocurrir en cualquier fase de su desarrollo, pero son más susceptibles en la etapa inicial. De forma externa los síntomas aparecen como puntos aceitosos muy pequeños y circulares, los mismos que se transforman en manchas irregulares de color amarillo y marrón. Entre los tres y cuatro días, se desarrolla el micelio blanco sobre las lesiones y luego aparecen las esporas, las cuales confieren un color crema a marrón (Anzules y Borja 2015).

El hongo fitopatógeno *Phytophthora* spp. puede afectar todos los tejidos de las plantas de cacao como los cojinetes florales, chupones tiernos y plántulas de viveros, causando un síntoma característico una mancha color café tabaco en las hojas nuevas, siendo responsable también del cáncer del tronco y raíces, presentándose el mayor daño en los frutos. La presencia de *Phytophthora* spp. provoca pérdidas hasta de un 30 % en la producción (Rodríguez *et al* 2021).

El uso de antagonistas como *Bacillus subtilis*, son importantes para controlar diversos fitopatógenos en cultivos de importancia económica. Se

reconoce que las bacterias *Bacillus subtilis* restringen efectivamente el crecimiento de hongos en diferentes cultivos mediante mecanismos de acción por antibiosis o competencia (Villamil *et al* 2012).

Dentro del control biológico, el uso de bacterias, especialmente *Bacillus subtilis*, ha comenzado a recibir atención durante los últimos años para el control de las enfermedades de la mazorca del cacao, aunque menos que el uso de hongos antagonistas, en la cual se evidencia que las bacterias *Bacillus subtilis* son capaces de colonizar hojas y mazorcas de cacao, principalmente como epífitas, pero también como endófitas. Su presencia conduce a una disminución significativa de la severidad de las enfermedades de la mazorca del cacao, cuando son infectadas con *M. royeri* y *Phytophthora* spp (Fernández *et al* 2018).

Por lo expuesto se realizó la presente investigación para determinar la importancia del uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora royeri* en mazorcas de cacao.

CAPITULO I

MARCO METODOLÓGICO

1.1. Definición del caso de estudio

El presente documento trata sobre la importancia del uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao.

1.2. Planteamiento del problema

En plantaciones de cacao existen diversos problemas fitosanitarios que se presentan en el cultivo, como los causados por *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp. La enfermedad denominada "moniliasis", causada por *M. roreri* que puede ocasionar pérdidas hasta del 90 % de la producción; las altas pérdidas causadas por este fitopatógeno lo catalogan en una las principales amenazas para la producción de cacao en el mundo. El género *Phytophthora* spp. es un hongo fitopatógeno que no solo ataca a la mazorca causando la enfermedad conocida como "mazorca negra", sino también atacan otras partes de la planta. Teniendo en cuenta que la presencia de *Phytophthora* spp. puede generar pérdidas hasta de un 30 %. Las mazorcas infectadas por este hongo presentan manchas color chocolate que pueden estar localizadas en los extremos o en el centro del fruto.

1.3. Justificación

En lo referente al control biológico de las enfermedades de la mazorca del cacao causadas por *M. roreri* y *Phytophthora* spp., se han realizado numerosos estudios con *Bacillus* sp. bajo condiciones in vitro y en campo en países como Ecuador, Perú, Costa Rica y Colombia, donde evidencian que dichos microorganismos actúan como antiesporulantes de *M. roreri* y *Phytophthora* spp., siendo que algunos de ellos inclusive, tienen habilidad para inducir resistencia sistémica en la planta.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Caracterizar el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao.

1.4.2. Objetivos específicos

- Detallar el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como controlador biológico.
- Identificar los resultados en diferentes casos de investigación presentados sobre el uso de *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao.

1.5. Fundamentación teórica

1.5.1. Generalidades del cultivo de cacao

La distribución del cultivo del cacao comienza desde el trópico húmedo de América, su centro de origen está en Sudamérica, especialmente dentro de la cuenca del río Amazonas, que incluye los Países como Colombia, Ecuador, Brasil y Perú, esto representa el epicentro con la mejor biodiversidad genética y desde allí se extendió a Centroamérica (Isla y Andrade 2019).

El cacao posee un sistema radicular pivotante de semillas, formándose hasta 2 m de profundidad, mientras que las plantas que provienen de esquejes o injertos tienen raíces fasciculadas, formándose horizontalmente alrededor del tronco de la planta a una intensidad de 20 a 25 cm. Consta de raíces mayores y secundarias en las que se forman pelos absorbentes, ubicados de 0 a 5 cm de profundidad dentro del suelo, responsables de la absorción de agua y nutrientes (Montaleza 2020:122).

La planta de cacao tiene dos formas de tallos: los que crecen instantánea y verticalmente denominados ortotrópicos que provienen de plantas de semilla y los florales que pueden ser producidos por medio de injertos que se desarrollan horizontal y lateralmente denominados plagiotrópicos. La corteza del tallo es oscura (gris-marrón), puede alcanzar entre 1 - 2 m

de altura a una edad de 1 a por lo menos un año y medio, donde sus yemas apicales se adelantan para iniciar la formación de tres a cinco ramas laterales que pueden ser referidas como horquillas o verticilos (Montes 2016:114).

Las hojas del cacao son perennes, alternas formando hileras una en cada cara de la rama, enormes con una duración de 20 - 35 cm y 4 - 15 cm de ancho, de forma lanceolada a ovalada, de tipos fáciles de color inexperto oscuro en el haz y un tono más claro en el envés que sostienen de un pecíolo cada una de ellas (Barros 2014:45).

Las flores están conformadas en cojinetes florales que puede contener de 1 a 40 flores que una vez abiertas tienen como máximo 48 horas de viabilidad para ser polinizadas por medio de insectos o manualmente. Las flores no poseen olor, son hermafroditas que nacen a la vez del tallo principal y de las ramas laterales, es decir, pueden ser caulifloras, cuando las situaciones de humedad y temperatura son óptimas puede haber floración todo el año, la vida vegetal puede alcanzar un promedio de uno a dos centímetros de diámetro sostenido por un pedicelo de uno a tres centímetros, tiene cinco pétalos y sépalos de color blanco o púrpura dependiendo de la especie (Leiva *et al* 2019:137-146).

El fruto del árbol del cacao se denomina mazorca, botánicamente es una baya que adopta numerosas formas, tamaños y colores de acuerdo con la especie y gama a la que pertenezca, sus tamaños varían de 10 - 35 cm de duración, su forma es ovalada y alargada con sugerencias prominentes y diferentes aplanados de acuerdo con su gama a la que pertenezcan, son inexpertos o carmesí en su sección inicial y una vez que alcanzan la edad adulta suelen llegar a ser amarillos. La semilla (almendra o grano) está rodeada de una pulpa blanca, jugosa, cremosa y azucarada, denominada mucílago, que se organiza en 5 hileras o surcos dentro de la mazorca que contienen entre 20 y 40 almendras (Ibarra 2019:1-8).

1.5.2. Infestación por el hongo *P. palmivora* en el cultivo de cacao

1.5.2.1. Clasificación taxonomía

La clasificación taxonómica de *P. palmivora* es la siguiente, según Muñoz (2019):

- **Reino:** Chromista,
- **Phyllum:** Oomycota,
- **Clase:** Oomycetes,
- **Orden:** Peronosporales
- **Familia:** Peronosporaceae
- **Género:** *Phytophthora*
- **Especie:** *palmivora*
- **Nombre científico:** *Phytophthora palmivora*

1.5.2.2. Agente causal de la mazorca negra (*P. palmivora*)

Phytophthora sp. es una especie que ataca a varias plantas, esta enfermedad provoca podredumbre de la raíz, frutos, tallos y ahogamiento de la planta, impacta la planta produciendo tallos cortos y degenerando algunos de ellos. Algunas especies agreden los frutos y los cogollos (Muñoz 2019:81).

“Ocasionalmente ocasionan una sintomatología comparable en algunas plantas y única en otras, algunas especies son específicas en su ataque a ciertas flores, tiene un amplio rango de ataque” (Muñoz 2019:81).

El género *Phytophthora* sp. tiene numerosas especies patógenas. La especie *P. palmivora* se ha visualizado en la vida vegetal silvestre y en las clases cultivadas de cacao, en más cantidades dentro de las regiones subtropicales y muchas tropicales de la zona, particularmente en el cultivo de cacao y palma aceitera (Tollenar 2014:22).

“*Phytophthora* sp. provoca daños en los frutos y en toda la planta, algunas especies atacan al cacao inmediatamente, se detecta por la presencia de manchas decoloradas en los frutos” (Tollenar 2014:22).

1.5.2.3. Origen de la enfermedad mazorca negra

A partir de los años noventa, 54 especies de *Phytophthora* spp. definidas a nivel mundial. Las investigaciones moleculares implican que el centro de inicio de este microorganismo se encuentra en África, y defienden que la especialización de esta especie para el cacao se originó en el momento de la llegada de la primera vegetación al continente americano (Tollenar 2014:22).

1.5.2.4. Características del género *Phytophthora*

El filo Oomycota, perteneciente al dominio Chromista, comprende más de setecientas especies, que carecen de pigmentos fotosintéticos, poseen flagelos en el interior de las zoosporas y los gametos masculinos, con paredes formadas por celulosa o polímeros similares a la celulosa y presentan hábitos acuáticos y terrestres, a pesar de que siempre desean la presencia de agua (Rodríguez *et al* 2021:79-93).

1.5.2.4.1. Morfología de los pseudohongos

Debido a su papel filamentoso similar al de las hifas, fueron agrupados inicialmente como hongos, lo que se demostró posteriormente mediante filogenias moleculares, basadas totalmente en secuencias de ARN ribosómico 18S, estadísticas de aminoácidos recopiladas para las proteínas mitocondriales y cuatro proteínas que codifican genes cromosómicos, evidenciando que los Oomicetos recibieron la capacidad de contaminar las plantas independientemente de los hongos genuinos (Anand *et al* 2020).

Los rasgos que diferencian al género *Phytophthora* de los hongos se basan principalmente en la morfología de las crestas mitocondriales (tubulares) y en la bioquímica de los tabiques celulares, que incorporan microfibrillas de celulosa con una matriz amorfa de β 1-3 glucanos en lugar de quitina, la falta de hipoxidación del esqualeno a esteroides y variaciones en las vías metabólicas, debido a una maquinaria genética completamente única (Anand *et al* 2020).

1.5.2.4.2. Biología de los pseudohongos

P. palmivora produce amplios esporangios en agar V-8 bajo luz fluorescente ininterrumpida, pero, la luz no es vital para la producción de esporangios en la papaya inflamada, los esporangios se producen generalmente en racimos simpodiales. Los esporangios son ovoides con el elemento más ancho cerca del fondo. Son lisos para limpiar y cada esporangio contiene un tallo corto (Cedeño *et al* 2020:1-14).

La longitud media de los esporangios es de 50 x 33 μ m con un periodo de aproximadamente 1,6 veces más largo que el extenso. Los esporangios germinan enseguida en un medio nutritivo con la ayuda de tubos germinativos que se transforman en cargas miceliales. En el agua, sin embargo, las zoosporas se lanzan desde los esporangios que germinan. Las zoosporas se agregan y forman estilos maravillosos a dieciséis C en el agua (Ali *et al* 2016).

La reproducción sexual de *P. palmivora* exige la presencia de tipos de apareamiento contrarios denominados A1 y A2 cada uno de los aislados A1 y A2 puede producir oosporas mediante la autofecundación mientras se inspiran a través de las hormonas del coito producidas a través de A2 y A1, respectivamente. La luz inhibe la formación de oosporas pero estimula la germinación de las mismas. Las oosporas maduras pueden protegerse para que germinen mediante un remedio con 0,25% de KMnO₄

durante 20 minutos y la incubación bajo luz en algún momento de la germinación (Ali *et al* 2016).

1.5.2.5. Epidemiología

“La infección depende en gran medida de las situaciones ambientales, la excesiva humedad relativa y las bajas temperaturas, función de la época de lluvias, son favorables para la descarga de zoosporas del esporangio y su dispersión” (Acurio y Montes 2020).

Los medios de dispersión de la enfermedad son: la salpicadura de la lluvia, que aprovecha el inóculo presente en el suelo para afectar a las espigas más cercanas; la escorrentía, que transporta las zoosporas dentro del agua contemporánea y permite la dispersión del patógeno hasta dos metros y también el viento moviliza las zoosporas atrapadas en microgotas de agua, que pueden ser transportadas hasta 12 metros de distancia (Acurio y Montes 2020).

Luego de la dispersión de las zoosporas estas responden a los estímulos generados con la ayuda del huésped y en 20 o 30 minutos emergen enquistadas en el material vegetal. La técnica de contaminación comienza después de este nivel, la zoospora pierde sus flagelos y germina (Parra *et al* 2018).

La infección es por medio de esporas que tienen la capacidad de dispersarse, se activan mientras hay una alta humedad y hay una duración de baja temperatura acompañada con la ayuda de una duración cálida. Las esporas son transportadas por medio de salpicaduras de lluvia, corrientes de agua, viento, hormigas (Martínez y Pérez 2015:1-14).

El contacto directo entre la fruta sana y la enferma es también una fuente vital de contaminación. Sobre las manchas marrones aparecen diminutos hilos de micelio entrelazados que toman la forma de un algodón blanquecino y no muy denso. Allí se producen esporas y diferentes

estructuras reproductivas que actúan como semillas del organismo (Martínez y Pérez 2015:1-14).

1.5.2.6. Sintomatología de la enfermedad

La alta humedad inicia la infestación dentro de las mazorcas. Después de 30 horas de la contaminación, se presentan manchas acuosas, de color marrones y se desarrollan inesperadamente hasta cubrir toda la mazorca. El borde de la lesión progresa aproximadamente 12 mm en 24 horas. La infección puede surgir en cualquier parte de la fruta, pero suele empezar a desarrollarse en los extremos de la mazorca, donde se acumula el agua (Aguilar 2018:78).

1.5.2.6.1. Síntomas de mazorcas maduras y no maduras

La lesión progresa internamente al mismo ritmo que progresa la lesión externa y el fruto puede estar absolutamente afectado en semanas. Las mazorcas infectadas cerca de la edad adulta pueden cosecharse siempre que se cosechen una semana después del inicio de la infección. A medida que la lesión necrótica crece, se descubre un crecimiento micelial blanco del hongo en el exterior del fruto y aumentan los esporangios en este micelio, que empiezan a ser evidentes 4 o 5 días después de que aparezcan los primeros signos y síntomas (Aguilar 2018:78).

1.5.2.6.2. Síntomas en cojinetes florales y tallos

Luego que la infección se genera en la mazorca, el hongo presenta un desarrollo agresivo y comienza a proporcionar esporangios en el plazo de algunos días. Las mazorcas enfermas siguen proporcionando esporangios durante numerosos años hasta que se produce la destrucción del fruto. Los esporangios, las zoosporas y las conidias se propagan sobre todo por medio del agua, pero también pueden propagarse a través del viento, los insectos y los animales. La infección también puede aparecer en el cojinete de la flor y en el tronco, donde se

forman lesiones cancerosas que surgen como fuente de inóculo (Blair *et al* 2018).

1.5.2.7. Ciclo de la enfermedad

El ciclo de vida de *Phytophthora* sp incluye cada uno de los niveles asexual y sexual, que surgen dependiendo de las situaciones ambientales. Predomina el estadio asexual, que comienza a desarrollarse cuando germina la estructura vegetativa o esporangio, y bajo condiciones óptimas de humedad y temperatura libera zoosporas. Éstas son sistemas celulares, de corta vida y tienen flagelos, uno anterior y otro posterior. El flagelo anterior es el encargado de trasladar la zoospora a través del agua, al tiempo que el flagelo posterior actúa como una hélice que da paso a la célula (Ho-hing 2015:24).

El hongo mantiene su población en el suelo y una y otra vez impacta en las raíces vigorosas. Los ambientes favorables de temperatura y humedad excesiva, le da condiciones favorables para producir esporas que luego libera las zoosporas móviles, siendo atraídas con la ayuda de la formación de nuevas raíces, las raíces obviamente exudan vitaminas. En contacto con la dolencia comienza su infección dentro de la corteza y a fortalecer la podredumbre dentro de la raíz; produciendo que las plantaciones mueran (Ho-hing 2015:24).

La supervivencia de *Phytophthora* spp. tiene lugar en duraciones desfavorables dentro de los restos de las raíces de la planta. La podredumbre de la corteza se desprende, produciendo las clamidosporas del hongo, que sobreviven durante largos intervalos de tiempo en el suelo. El regreso de los ambientes favorables pone en marcha la germinación evolucionada de las clamidosporas, produciendo de forma indirecta esporangios y zoosporas, generando finalmente el micelio del hongo. Como esporangios y micelio, todas las especies de *Phytophthora* spp viven en las paredes gruesas y en las raíces como clamidosporas residentes (Fernández *et al* 2015:186-189).

La gomosis o podredumbre del pie del tallo surge mientras las zoosporas u otros propágulos se diseminan en las flores por encima de la unión del injerto; la infestación se visualiza como una herida o grieta en la corteza del tallo, situaciones de humedad alrededor del tallo y su base. En catorce días el cambium se inclina descubierto bajo la corteza del tallo, las heridas o lesiones de gomosis o podredumbre del pie no generan inóculo para próximas infecciones, siendo su importancia epimidiológica baja en la vegetación (Fernández *et al* 2015:186-189).

1.5.3. Infestación por el hongo *Moniliophthora roreri* en el cultivo de cacao

1.5.3.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *M. roreri* es la siguiente, según Aguirre (2019):

- **Reino:** Fungi
- **División:** Basidiomycota
- **Clase:** Agaricomycetes
- **Orden:** Agaricales
- **Familia:** Marasmiaceae
- **Género:** *Moniliophthora*
- **Especie:** *Moniliophthora roreri*

1.5.3.2. Origen y distribución de *M. roreri* en América Latina

La primera detección del hongo *M. roreri* en el cultivo del cacao se produjo en el lugar de Quevedo, Los Ríos, Ecuador. El investigador Rorer envió especímenes de Ecuador a R. E. Smith, de la Universidad de California, quien consideró que podría tratarse de una especie como *M. furticola* (Aguirre 2019:73).

En 1918, Rorer informó de que había observado un nuevo hongo patógeno que atacaba las vainas de cacao en Ecuador, procedente de Quevedo. Debido al desconocimiento del patógeno, se habían atribuido

varios nombres a la enfermedad, entre ellos: enfermedad acuosa, enfermedad de Quevedo, vaina helada y aviso (Aguirre 2019:73).

En 1860, Jensen mencionó un punto en el periódico sobre la llegada de un trastorno fúngico muy parecido a la moniliasis dentro de la Hacienda Maravilla en la ciudad de Guayaquil. En 1911, un acreditado consular de los Estados Unidos solicitó estadísticas sobre una enfermedad que atacaba a los arbustos de cacao desde hacía algunos años. Según Garcés, una carta escrita el 24 de mayo de 1912 indicaba que las 21 enfermedades "mancha" y "hielo" eran abundantes en las provincias de Carchi y Esmeraldas y habían estado causando la destrucción de las plantaciones de cacao (Arciniega 2017:100).

La enfermedad tenía una amplia distribución en América Latina, probablemente en los años cuarenta *M. royeri* se extendió al oeste de Venezuela. Se extendió a Panamá en los años cincuenta y a Costa Rica en los setenta. El despliegue del patógeno en Mesoamérica ha sido lento, hay informes de su llegada a Guatemala y Honduras en los años noventa. A Belice y México llegó una década después. Evans en su obra menciona la llegada de la dolencia al norte de Perú en 1988 y su posterior despliegue a los valles del sur en 1995. Recientemente se ha informado de la presencia del hongo en Bolivia y Jamaica (Arciniega 2017:100).

“Este patógeno está asociado filogenéticamente con otro patógeno *M. pernicioso* que causa la dolencia de la escoba de bruja, este hongo infecta los tejidos meristemáticos incluyendo las flores, la culminación y los brotes” (Arciniega 2017:100).

1.5.3.3. Morfología de *M. royeri*

M. royeri es un hongo basidiomiceto con un micelio hialino, ramificado y septado con doliporas normales. Los conidios (esporas) derivan de un basidio modificado y se producen en cadenas con maduración basipetal, varían de 4 a diez en una serie y están encerrados o envueltos dentro de

la pared celular. Las esporas suelen salir redondeadas con la edad, convirtiéndose en globosas a subglobosas, de (6,5-) 8-15 μm , de vez en cuando elipsoidales, de 8-20 x cinco-14 μm , tienen una pared gruesa (hasta dos μm) y pueden ser de color amarillo suave o pardo (CropLite 2020).

1.5.3.4. Condiciones climáticas para el desarrollo de la enfermedad

1.5.3.4.1. Epidemiología

El ciclo de la enfermedad comienza a desarrollarse en condiciones de alta humedad relativa del 80 y 100% y temperaturas de 20 y 27 °C donde se produce la liberación y dispersión de las esporas dentro de la plantación, la presencia de una película de agua sobre la culminación es vital para la germinación de las esporas y la invasión del hongo, además debe haber cambios bruscos de temperatura y humedad para estimular el proceso de esporulación (Hernández *et al* 2018:1-8).

El patógeno tiene 3 situaciones esenciales para decidir su desarrollo entre las que tenemos: la humedad relativa, la pluviometría, la temperatura mínima del mes más frío y del mes más cálido, estas situaciones permiten tener un ambiente propicio para su réplica y distribución (Hernández *et al* 2018:1-8).

1.5.3.4.2. Mecanismos de infección

La multiplicación y diseminación de *M. royeri* se produce por medio de culminaciones momificadas que pueden estar dentro de los árboles y no son eliminadas. Las esporas son los propágulos infecciosos más eficaces, y se dispersan dentro de la plantación con la ayuda del viento, la lluvia o con la ayuda de la manipulación de la culminación que las incorpora, son capaces de adherirse en los tejidos de la planta y seguir siendo posible durante varios meses anticipando la temporada de fructificación (Pérez 2018:1-15).

Una vez que las esporas, conocidas como conidios, alcanzan el suelo de la dermis del fruto, germinan emitiendo un tubo germinativo, que se extiende sobre la dermis para retener con una penetración inmediata, una vez que han entrado a través de la dermis, las hifas crecen intercelularmente y aumentan a los tejidos más profundos. Posteriormente, el tejido subyacente es invadido intra e intercelularmente, interés que genera uno de los síntomas más llamativos, la conocida necrosis. La duración de la incubación hasta la aparición de los primeros signos puede ser de 40 a 60 días y depende del nivel de desarrollo del fruto (Pérez 2018:1-15).

1.5.3.4.3. Ciclo de vida de la enfermedad

La moniliasis tiene un doble ciclo de existencia, una fase biotrófica desde la germinación de las esporas hasta la invasión intercelular del huésped, que puede durar hasta cuarenta y cinco días antes de la clorosis, y otro segmento necrótico, que provoca el descuento y la maduración prematura de las mazorcas y la necrosis externa e interna que se extiende de forma inesperada, protegiendo toda la mazorca con micelios donde se desarrollan las esporas asexuales, desencadenando la muerte de los tejidos y la momificación, que puede ser lanzada por el viento formando densas cargas que contaminan nuevos lugares durante varias temporadas (Sánchez y Garces 2014:121).

Este patógeno vive dentro de los restos de cosecha (cáscaras y mazorcas inflamadas) y de esta manera las esporas son transportadas por medio del viento, la lluvia, y por medio de las labores culturales que pueden ser fuentes de proliferación para otras plantaciones, mientras este hongo tenga las condiciones de humedad y temperatura puede infectar seriamente frutos menores de 2 meses, mientras infecta penetra directamente en la epidermis o en los estomas lo que provoca el auge entre las células de la corteza provocando una mayor duración de la incubación, pero cuando se tienen las condiciones climáticas adecuadas

(humedad, temperatura, edad del cultivo, rango), las esporas no germinan ahora en el fruto y serán destruidas por medio de la radiación solar (Sánchez y Garces 2014:121).

1.5.3.4.4. Síntomas externos

En el cultivo del cacao, los síntomas se inician en el suelo de la mazorca, habitando internamente durante cuarenta a 60 días en los que germinan millones de esporas que después son transportadas a través del agua, el viento y las vibraciones de la planta que se está cosechando, se depositan en la madera, las hojas y la culminación, estando muy expuesta a la infección en rangos mucho menores a meses generando deformaciones geométricas o tumores que parecen jorobas o gibas con manchas aceitosas decoloradas de pequeños diámetros (mucho menos de 2 mm) que una vez de 10 a veinte días va aumentando su tamaño y se produce una maduración prematura y muerte del fruto (Sánchez *et al* 2015:249-258).

Después de 2 a 3 meses de estar infectado el fruto, aparecen manchas marrones oscuras en el fruto; mientras la mancha es anormal, se produce un halo amarillo a su alrededor y en días posteriores esas manchas se unen y forman una mancha marrón, que permite el aumento del micelio o micelio de color blanco en estado inicial y posteriormente produce una pigmentación y masa pulverulenta densa de color marrón que pueden ser las esporas del hongo en el suelo del fruto que son amplias, en un centímetro cuadrado hay de 7 a cuarenta y tres millones, lo más efectivo es que una espora puede provocar la enfermedad en el fruto y permanecer 9 meses esporulando, tiempo después se momifica; En las mazorcas de más de 3 meses este hongo necrosa la cáscara y normalmente no llega a las almendras, lo que es beneficioso para una posible cosecha (Sánchez *et al* 2015:249-258).

1.5.3.4.5. Síntomas internos

Las esporas que caen en los frutos germinan en un tiempo de 6 a ocho horas con temperatura superior a los 25 0C entran a través de los estomas y penetran en la epidermis con las hifas infecciosas que se dirigen a los tejidos pertinentes (mesodermos y semilla), lo que permite la fabricación de proteínas y la muerte del tejido interno provocando una masa compacta difícil de desdoblar, tiene la característica de ser acuosa de vez en cuando no son visibles debido a que están ocultas y se diagnostican porque los frutos grandes son pesados, este síntoma interno es más grave debido a que las almendras pueden extraviarse independientemente de la edad del fruto (Correa *et al* 2014:427-447).

1.5.3.4.6. Supervivencia del hongo *M. royeri*

“Un fruto afectado por el patógeno *M. royeri* puede producir hasta 144 millones de esporas, que podrían sobrevivir hasta siete meses dentro del fruto unido a la planta, y son las que mejor generan la infección” (Correa *et al* 2014:427-447).

1.5.4. Características de *B. subtilis*

Son bacterias Gram positivas, bacilo aeróbico estricto (todavía capaz de desarrollarse anaeróbicamente), produce endosporas resistentes a los antibióticos, antibióticos y matriz extracelular (biofilm), se encuentra frecuentemente en el suelo. Tiene la capacidad de proporcionar una amplia gama de moléculas bioactivas con propiedades antifúngicas, con baja toxicidad, alta biodegradabilidad y con rasgos favorables para el ecosistema en comparación con las sustancias químicas utilizadas actualmente. También son una muy buena opción para aumentar los bioproductos debido a que tienen una endospora tolerante a condiciones ambientales extremas (Tejera *et al* 2011:131-138).

B. subtilis es una de las especies más utilizada en la agricultura y se emplea como agente manipulador orgánico de enfermedades agrícolas. También funciona como estimulador del crecimiento en los cultivos de

banano, plátano, arroz, cacao, tomate, frutas, trigo y frijoles (Tejera *et al* 2011:131-138).

1.5.4.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *B. subtilis* es la siguiente, según Yu *et al* (2011):

- **Reino:** Bacteria
- **Filo:** Firmicutes
- **Clase:** Bacilli
- **Orden:** Bacillales
- **Familia:** Bacillaceae
- **Género:** *Bacillus*
- **Especie:** *subtilis*

1.5.4.2. Origen de *B. subtilis*

El género *Bacillus* fue localizado por el botánico alemán Ferdinand Cohn (1828-1898), quien afirmó que las endosporas bacterianas son estructuras muy resistentes al calor y destacó que es el más resistente de todos los documentos microbianos si excluimos algunas bacterias que se expanden más a temperaturas muy altas. Desveló el ciclo vital completo de este género (célula vegetativa-endospora-célula vegetativa) y descubrió que la mayoría de las células vegetativas deben morir dentro del sistema de ebullición (Yu *et al* 2011:38-145).

1.5.4.3. Ciclo de vida

La bacteria *B. subtilis* posee dos ciclos de vida: crecimiento vegetativo y esporulación. Cuando la bacteria está en un medio favorable, crece exponencialmente. Cuando el alimento empieza a escasear, la bacteria comienza a desarrollar una endospora, que podría vivir para contar las duras condiciones ambientales. Cuando la situación mejora, las endosporas germinan y *B. subtilis* vuelve a entrar en un ciclo de existencia vegetativo (Mckenney *et al* 2012:33-44).

1.5.4.3.1. Endospora

Son sistemas únicos que se originan dentro de las células de algunas especies bacterianas, en una técnica conocida como esporulación. Las endosporas son asombrosamente inmunes al calor y difíciles de romper, además son inmunes a comercializadores químicos muy agresivos, a la desecación, a los desinfectantes, a la radiación, a los ácidos y poseen la capacidad de permanecer durante periodos largos en estado de latencia (Mckenney *et al* 2012:33-44).

Las endosporas originadas por *B. subtilis* son sistemas de reposo (no reproductivos) cuya característica es tener una nación metabólica casi parada. La endospora bacteriana lleva en su forma un cromosoma condensado e inactivo, capas adicionales circundantes como una corteza rica en peptidoglicano y una o más capas de material proteínico porque la envoltura de la spora (Mckenney *et al* 2012:33-44).

1.5.4.3.2. Propiedades de la endospora

La endospora tiene un núcleo completamente distinto al de la célula vegetativa de la que procede. Contiene un considerable material de contenido de dipicolinato de calcio en su núcleo y que se ofrece en su estructura en un país deshidratado porque lleva el 10 - 30% del agua de la célula vegetal. La resistencia al calor de la endospora aumenta cuando se enfrenta a estados de deshidratación, al mismo tiempo se vuelve a prueba de sustancias químicas y las enzimas terminan inactivas (Nagua 2016:48).

En el citoplasma de la endospora el pH fase es una unidad menor que el de la célula vegetativa, e incorpora altos niveles de pequeñas proteínas solubles en ácido de la spora (SASP). Éstas se forman dentro del método de esporulación y presentan dos características. La primera es la de unirse fuertemente al ADN y protegerlo del daño potencial de la

radiación ultravioleta, la desecación y el calor seco. La segunda es servir como suministro de energía y carbono para la germinación de la endospora a un nuevo móvil vegetativo (Nagua 2016:48).

1.5.4.3.3. Germinación

Una endospora tiene la capacidad de permanecer latente durante décadas y puede dar forma a una célula vegetativa en poco tiempo. Esta transformación se produce en tres pasos: activación, germinación y crecimiento. La activación tiene lugar mediante la exposición de las esporas recién formadas a una temperatura excesiva durante varios minutos. Estas endosporas se acondicionan para germinar en presencia de nutrientes adecuados. La germinación es un proceso rápido que se produce en cuestión de minutos (Ashwini y Srividya 2014:127-136).

El crecimiento se caracteriza por la hinchazón visible del móvil por acumulación de agua y por la síntesis de novo de ARN, proteínas y ADN. Una vez que se rompe la envoltura de la endospora, las células acaban emergiendo y dividiéndose. La célula se mantiene en auge vegetativo hasta que detecta signos y síntomas de deshidratación para iniciar la esporulación (Ashwini y Srividya 2014:127-136).

1.5.4.4. Mecanismo de acción del *B. subtilis*

La antibiosis es el principal mecanismo de movimiento de *B. subtilis* contra los patógenos, a través de la formación de lipopéptidos antifúngicos incluyendo sulfactina, iturina y fengicinas, diferentes pocos mecanismos conocidos es la competencia por el espacio, la inducción de la resistencia y el aumento de promotor, incluyendo la solubilización de P, la fijación de nitrógeno, la producción de auxina y amoníaco (Vera *et al* 2018:81-87).

1.5.4.4.1. Antibiosis

El máximo mecanismo estudiado de la antibiosis de *B. subtilis* es el efecto de las iturinas, que tiene un gran interés biocida hacia una amplia gama

de patógenos del suelo, foliares y de poscosecha. Se ha demostrado que las fengicinas A y B poseen un robusto pasatiempo antifúngico contra los hongos filamentosos. Además de interactuar con importantes aditivos de la membrana de los patógenos, entre los que se encuentra el ergosterol, alterando la permeabilidad y la forma, también actúan de forma sinérgica con las iturinas. Las surfactinas por sí solas no tienen ahora actividad antifúngica, pero funcionan de forma sinérgica con las iturinas (Vera *et al* 2018:81-87).

“La proteína denominada bacisubina producida por *B. subtilis* ha demostrado inhibir el crecimiento de *Magnaporthe griseae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria oleracea*, *Botrytis cinerea*, *M. roreri* y *P. palmivora*” (Robles 2017:132).

1.5.4.4.2. Inducción de defensas secundarias

A lo largo del tiempo, las plantas han desarrollado mecanismos de defensa contra los ataques de patógenos. La eficacia de estas reacciones de resistencia se modifica en función de la ontogenia de la planta y de la afectación de los factores ambientales bióticos y abióticos. El aumento de la resistencia de la planta debido a factores exógenos sin cambiar el genoma de la planta se denomina resistencia causada. Esta resistencia puede activarse mediante la preinoculación de no patógenos, patógenos, simbiosis, saprofitos y con la ayuda de la aplicación de los llamados inductores abióticos consistentes en ácido salicílico o metabolitos microbianos (Robles 2017:132).

El *B. subtilis* es una rizobacteria no patógena y una de sus funciones es ofrecer un impacto defensivo a las plantas a través de la estimulación que permite una activación acelerada de las respuestas de defensa a la agresión de insectos o patógenos. Se ha comprobado que las surfactinas y las fengicinas actúan como inductores de la defensa del huésped por sí mismas o en sinergia con diferentes lipopéptidos (Labrador 2017:68).

1.5.5. Modo de acción de *B. subtilis* contra los hongos patógenos *P. palmivora* y *M. roleri* en el cultivo del cacao

Anzules y Borjas (2015) comprobaron que las bacterias del género *Bacillus* fueron capaces de colonizar las hojas de cacao, especialmente como epífitas, aunque también como endófitas. Su presencia condujo a una gran disminución de la gravedad de la enfermedad cuando las hojas fueron inoculadas con *P. capsici*. Además, la supresión de *Phytophthora* por medio de *Bacillus* (aislado BT8) sólo se produjo en las hojas no colonizadas después de los programas bacterianos y perseveró en las hojas más viejas de las plantas colonizadas. Estos resultados son fuertemente indicativos de que la resistencia a la enfermedad se desencadena sistémicamente, y no hay resultados hostiles directos. Aunque la supresión de la enfermedad se hizo sostenible (> 68-70 días) después de una sola aplicación, esos autores documentan que los paquetes comunes son importantes si se quiere mantener la resistencia a la enfermedad, sin embargo, probablemente mucho menos que las aplicaciones de fungicidas.

En un estudio de seguimiento sobre el uso de bacterias formadoras de endosporas para el control de enfermedades de la mazorca del cacao, se evidencio dos especies bacterianas formadoras de endosporas de varios géneros pueden coexistir en *T. cacao*. Algunas de estas bacterias mostraron antagonismo frente a los tres principales patógenos del cacao, *P. capsici*, *M. roleri* y *M. perniciososa* (Gonzalo 2018:50).

“Gonzalo (2018) expresa que los microorganismos endofíticos *B. subtilis* y *Enterobacter cloacae* procedentes del cacao pueden colonizar sistémicamente o promover crecimiento de las plántulas de cacao”.

Sánchez *et al* (2015) han demostrado la capacidad de mejora del crecimiento de *B. subtilis*, sino que también se han obtenido resultados adversos a *M. roleri*. Los actinomicetos extraídos del suelo de las mazorcas de cacao fueron capaces de inhibir completamente la

germinación de las basidiosporas de *M. royeri* en condiciones de laboratorio.

Sánchez *et al* (2015) expresan que *Bacillus* spp. son quitinolíticos y pueden ser adversarios sin demora de los hongos patógenos de las plantas, entre los que se encuentran *M. royeri* y *M. pernicioso*; sin embargo, los *Bacillus* spp. quitinolíticos son probablemente menos eficaces contra la podredumbre negra de la vaina, dado que *Phytophthora* tiene paredes celulares compuestas principalmente de celulosa.

Tirado *et al* (2016) manifiestan que se han intensificado las investigaciones en Costa Rica, Ecuador y Perú, que van desde la evaluación de bacterias del género *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Leuconostoc* formuladas en suspensión líquida y sólida para el manejo de *M. royeri*, hasta la combinación de los hongos microparásitos *Clonostachys rosea* y *Trichoderma* para el manejo de *P. palmivora* y *C. pernicioso*.

Tirado *et al* (2016) “corroboran que el estudio de microorganismos con bacterias tipo *Bacillus*, demostró que su uso reduce el porcentaje de prevalencia de *P. palmivora* en mazorcas de cacao al 1%”.

En el Centro de Investigación de la Carrera de Ingeniería Agrícola ESPE, se han completado numerosas investigaciones a nivel de área para evaluar la eficiencia de los microorganismos epífitos para la manipulación de la moniliasis en la vegetación del cacao. Además, se ha completado el muestreo en 21 lugares del Ecuador, adquiriendo ciento cincuenta y seis microorganismos, de los cuales se diagnosticaron y categorizaron 3 microorganismos que inhibían la germinación de esporas y la formación de micelio del hongo *M. royeri*: *B. subtilis*, *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas putida* (Maldonado 2015:38-51).

Labrador (2017) expresa mediante el ensayo efecto de tres bacterias cultivadas en medios líquidos en la manipulación de *M. royeri* del cacao en el cultivar CCN 51 y en el cultivar Tenguel 25 se determinó en esas

condiciones que, *B. subtilis* y *P. cepacia* disminuyeron considerablemente la enfermedad en un 66 y 34%, respectivamente, en el cacao de todo el país; 46 y 47% en el CCN 51, en cuanto al manejo absoluto. Investigaciones recientes utilizando biopreparados formulados en turba, mostraron que *P. cepacia* y *B. subtilis* redujeron la incidencia de *M. royeri* en un 76 y 86 %, respectivamente, en comparación con el control. Las estadísticas recibidas en estos estudios exhiben que las bacterias epífitas utilizadas como biopreparados y aplicadas preventivamente, manejan eficazmente a *M. royeri* dentro del sujeto, para poder permitir la introducción del uso de biopreparados dentro del control incluido del cacao.

Barros (2021) manifiesta que los tratamientos con los biopreparados Basubtil y Cepacide a base de bacterias epífitas para el control de *P. palmivora* dieron lugar a una mayor variedad de almendras sanas en el tema del fungicida Cuprofix. El rendimiento de Cepacide y Basubtil se basa totalmente en que la producción acumulada que fue del 70,86 % y del 69,56 %, respectivamente, cuando se trata del remedio químico que adquirió el 67,85 %.

Barros (2021) señala que *B. subtilis* es potente contra los hongos fitopatógenos, ya que razona una fuerte inhibición del aumento del micelio, ya sea por medio de la competencia por los nutrientes, a través de la exclusión del sitio o la colonización del patógeno, así como por la liberación de metabolitos secundarios, capaces de afectarlos. En el caso del género *Phytophthora*, esta bacteria se clasifica como supresora.

Villamil *et al* (2015) expresan que otras especies del género *Bacillus* se reportan como potentes antagonistas del género *Phytophthora*. Documentan que han sido capaces de disminuir seriamente la gravedad de la enfermedad por *P. palmivora* ($P= 0,05$) en el cacao utilizando *B. subtilis* que alcanzó una sólida colonización epifítica de las hojas. Sin embargo, no fue capaz de moverse a través de los tejidos vasculares en

vista de que no había bacterias presentes dentro de las hojas, sin embargo, vale la pena mencionar que puso en marcha una forma de resistencia sistémica.

Con el uso de *B. subtilis* en *P. palmivora*, se logró una disminución de esporulación del 17,2%. Sin embargo, diferentes investigaciones han observado una reducción de la enfermedad en las mazorcas del cacao de hasta el 41%. *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformes* y *B. cereus* habían sido sugeridos como antagonistas hacia otros microorganismos fitopatógenos (Maldonado 2015:38-51).

También se ha evaluado el uso de este antagonista contra otros patógenos del cultivo del cacao, entre los que se encuentra *P. palmivora*, y se han recibido valores de ICP del 40, 65 y 27% para *M. roleri*, *P. palmivora* y *M. pernicioso*, respectivamente; el mecanismo máximo común de antagonismo se convirtió en la oposición al sustrato. Sin embargo, una antibiosis limpia se convirtió también en obtrusiva (Arroyave 2017:48).

La aplicación formulados de *B. subtilis* QST 713 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), alternado con *B. pumilus* estrés QST 2808 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), mostro el mayor porcentaje de eficacia de control para *P. palmivora*, por lo que se recomienda esta aplicación en las plantaciones de cacao, son fungicidas orgánicos de bajo precio que no causan un mal impacto en el entorno (Aguilar 2018:78).

1.6. Hipótesis

Ho= No es de vital importancia conocer sobre el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roleri* en mazorcas de cacao.

Ha= Es de vital importancia conocer sobre el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roleri* en mazorcas de cacao.

1.7. Metodología de la investigación

Para el desarrollo del presente documento se recolectó información actualizada de libros, páginas web, tesis de grado, bibliotecas virtuales y artículos de revistas de alto impacto, manuales técnicos y congresos.

La información obtenida fue realizada mediante la técnica de análisis, síntesis y resumen, con la finalidad de que el lector conozca sobre el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao.

CAPITULO II

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Desarrollo del caso

La finalidad de este documento fue recopilar información sobre el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* en el control de *Phytophthora palmivora* y *Moniliophthora roreri* en mazorcas de cacao.

2.2. Soluciones detectadas

El hongo fitopatógeno *Phytophthora* spp. puede afectar todos los tejidos de las plantas de cacao como los cojinetes florales, chupones tiernos y plántulas de viveros, causando un síntoma característico una mancha color café tabaco en las hojas nuevas, siendo responsable también del cáncer del tronco y raíces, presentándose el mayor daño en los frutos.

El hongo *M. roreri* inicia su proceso de penetración y desarrollo en cualquier fase de su desarrollo, presentan más susceptibles en la etapa inicial. De forma externa los síntomas aparecen como puntos aceitosos muy pequeños y circulares, los mismos que se transforman en manchas irregulares de color amarillo y marrón. Entre los tres y cuatro días, se desarrolla el micelio blanco sobre las

lesiones y luego aparecen las esporas, las cuales confieren un color crema a marrón.

Son bacterias Gram positivas, bacilo aeróbico estricto (todavía capaz de desarrollarse anaeróbicamente), produce endosporas resistentes a los antibióticos, antibióticos y matriz extracelular (biofilm), se encuentra frecuentemente en el suelo. Tiene la capacidad de proporcionar una amplia gama de moléculas bioactivas con propiedades antifúngicas, con baja toxicidad, alta biodegradabilidad y con rasgos favorables para el ecosistema en comparación con las sustancias químicas utilizadas actualmente.

B. subtilis es la especie más utilizada y se emplea como agente de control biológico de enfermedades como *M. royeri* y *P. palmivora* en el cultivo de cacao.

B. subtilis es potente contra los hongos fitopatógenos, ya que razona una fuerte inhibición del aumento del micelio, ya sea por medio de la competencia por los nutrientes, a través de la exclusión del sitio o la colonización del patógeno, así como por la liberación de metabolitos secundarios, capaces de afectarlos. En el caso del *P. palmivora* y *M. royeri* esta bacteria se clasifica como supresora.

2.3. Soluciones planteadas

Es primordial mejorar el sistema de manejo agronómico del cultivo de cacao, para reducir las fuentes de inóculo de las enfermedades de la mazorca tales como moniliasis (*M. royeri*) y mazorca negra (*P. palmivora*), al igual se debe reducir la aplicación de pesticidas para no afectar la presencia de las endosporas de *B. subtilis* en el ecosistema, en cual se debe conocer que esta bacteria posee dos ciclos de vida: crecimiento vegetativo y esporulación. Cuando la bacteria está en un medio favorable, crece exponencialmente. Cuando el alimento empieza a escasear, la bacteria comienza a desarrollar una endospora, que podría vivir para contar las duras condiciones ambientales. Cuando la situación mejora, las endosporas germinan y *B. subtilis* vuelve a entrar en un ciclo de existencia vegetativo.

2.4. Conclusiones

Por lo anteriormente detallado se concluye lo siguiente:

La antibiosis es el principal mecanismo de movimiento de *B. subtilis* contra los patógenos *M. roleri* y *P. palmivora*, a través de la formación de lipopéptidos antifúngicos incluyendo sulfactina, iturina y fengicinas, diferentes pocos mecanismos conocidos es la competencia por el espacio, la inducción de la resistencia y el aumento de promotor, incluyendo la solubilización de P, la fijación de nitrógeno, la producción de auxina y amoníaco.

La proteína denominada bacisubina producida por *B. subtilis* ha demostrado inhibir el crecimiento de *Magnaporthe grisease*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria oleracea*, *Botrytis cinerea*, *M. roleri* y *P. palmivora*.

B. subtilis. son quitinolíticos y pueden ser adversarios sin demora de los hongos patógenos de las plantas, entre los que se encuentran *M. roleri* y *M. perniciosa*.

Las bacterias tipo *Bacillus*, reducen el porcentaje de prevalencia de *P. palmivora* en mazorcas de cacao al 1%.

La bacteria *B. subtilis* extraída de las mazorcas de cacao fueron capaces de inhibir completamente la germinación de las basidiosporas de *M. roleri* en condiciones de laboratorio.

Con el uso de *B. subtilis* en *P. palmivora*, se logró una disminución de esporulación del 17,2%. Sin embargo, diferentes investigaciones han observado una reducción de la enfermedad en las mazorcas del cacao de hasta el 41%.

La aplicación formulados de *B. subtilis* QST 713 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), alternado con *B. pumilus* estrés QST 2808 (2 L/ha, 10 cc/L de agua), presenta la mayor eficacia de control para *P. palmivora*, por lo que se recomienda esta aplicación en las plantaciones de cacao.

2.5. Recomendaciones

Por lo anteriormente detallado se recomienda:

Fomentar la aplicación de bacterias antagonistas como *B. subtilis*, para control biológico de enfermedades de la mazorca del cacao tales como moniliasis y mazorca negra.

Los biocontroladores a base de bacterias *B. subtilis*, tienen un bajo costo y no causan un impacto negativo en el ecosistema.

BIBLIOGRAFÍA

- Anand, A., Chinchilla, D., Tan, C. 2020. Contribution of hydrogen cyanide to the antagonistic activity of *Pseudomonas* strains against *Phytophthora* infestans. *Microorganisms* 8(3): 1-10.
- Acurio, O. Montes, D. 2020. Aplicación de los biofungicidas orgánicos en el control de la mazorca negra (*Phytophthora* spp.) en cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en el cantón Valencia. Tesis Ing. Agr. La Mana, Ecuador. UTC. 55 p.
- Aguirre, G. 2019. Caracterización molecular de *Moniliophthora roreri* causante de la vaina helada (moniliasis) en el cacao en tres provincias del Ecuador: Los Ríos, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas, Tesis MSc. Quito, Ecuador. USFQ. 73 p.
- Aguilar, R. 2018. Participación en el análisis epidemiológico de raya negra (*Phytophthora palmivora*) en panel de pica de hule pajapita. San Marcos. 78 p.

- Arroyave, F. 2017. Efecto de fungicidas y frecuencia de aplicación sobre enfermedades de mazorca en cacao en época lluviosa en el valle del río Portoviejo. Tesis Ing. Agr. Portoviejo. Ecuador. UTM. 48 p.
- Arciniega, J. 2017. Propuesta de manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis Ing. Agr. Quito, Ecuador. UCE. 100 p.
- Ali, S., Amoako, I., Bailey, R. 2016. PCR-based identification of cacao black pod causal agents and identification of biological factors possibly contributing to *Phytophthora megakarya*'s field dominance in West Africa. *Plant Pathology* 65(6): 1095-1108.
- Anzules, V., Borjas, R. 2015. Control cultural, biológico y químico de *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora* spp en *Theobroma cacao* 'CCN-51'. *Scientia Agropecuaria* 10(4): 1-12.
- Ashwini, N., Srividya, S. 2014. Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *Biotech* 4(2): 127-136.
- Barros, L. 2021. Evaluación de programas fitosanitarios en el control de mazorca negra (*Phytophthora palmivora* Butler) en el cultivo de cacao; Ayutla, San Marcos. Tesis Ing. Agr. Quetzaltenango. URL. 102 p.
- Blair, J., Coffey, M., Park, S., Geiser., Kang, S. 2018. A multilocus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology* 45(6): 266-277.
- Barros, O. 2014. Morfología y clasificación botánica del cacao. ICA. 45 p.
- Cedeño, A., Romero, R., Auhing, J., Mendoza, A., Pacheco, F., Chanchignia, H. 2020. Caracterización de *Phytophthora* spp. y aplicación de rizobacterias con potencial en biocontrol de la enfermedad de la mazorca negra en *Theobroma cacao* variedad CCN-51. *Scientia Agropecuari* 11(4): 1-14.

- CropLite. 2020. Moniliasis del cacao (en línea). Consultado 13 jul. 2022. Disponible en <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/moniliasis-del-cacao>
- Correa, A., Castro, M., Coy J. 2014. Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. Acta Agronómica. 63(4): 427-447.
- Fernández, Y., Lachenaud, P., Decock, C., Diaz, A., Abreu, N. 2018. Caracterización de *Phytophthora*, agente etiológico de la pudrición negra de la mazorca del cacao en Cuba y Guyana Francesa. Centro Agrícola, 45(3): 17-26.
- Fernández, E., Acosta, M., Pinto, M. 2015. Efecto de aplicaciones de fungicidas sobre la incidencia de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo.) del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en invernadero. Revista mexicana de fitopatología, vol. 25, no 2, p. 186-189.
- Gonzalo, G. 2018. Alternativas orgánicas para el control de moniliasis (*Moniliophthora roreri*, Cif y Par) en el cultivo de cacao. Tesis Ing. Agr. Machala, Ecuador. UTMACH. 50 p.
- Hernández, E., López, M., Garrido, E., Solís, J., Zamarripa, A., Avendaño, C., Mendoza, A. 2018. Las moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del Cacao: búsqueda de estrategias del manejo. Agro productividad 5(2): 1-8.
- Ho-hing, H. 2015. *Phytophthora*. "Artículo *Phytophthora*: características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control". Taiwán. 24 p.
- Isla, E., Andrade, B. 2019. Manual para la Producción de Cacao Orgánico para las comunidades nativas de la Cordilleras del Cóndor. Fundación Conservación Internacional ed. Lima, Perú. 48 p.
- Ibarra, A. 2019. Análisis de la cadena de cacao en la provincia de los Ríos, Ecuador. Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana 4(2): 1-8.

- Leiva, E., Gutiérrez, E., Pardo, C., Ramírez, R. 2019 comportamiento vegetativo y reproductivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) Por efecto de la poda. Revista fitotecnia mexicana 42(2): 137-146.
- Labrador, Y. 2017. Evaluación de la capacidad biocontroladora in vitro e in vivo de *Trichoderma crassum* Bissett y *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn sobre *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler causante de la pudrición parda de la mazorca de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis Ing. MSc. Maracay, Venezuela. UCV. 68 p.
- Montaleza, J. 2020. Análisis de la diversidad morfológica de cacao (*Theobroma cacao* L.) del jardín clonal de la UTMACH. Tesis Ing. Agr. Machala, Ecuador. UTM. 122 p.
- Muñoz, A. 2019. Control de *Phytophthora palmivora* en *Teobroma cacao* L. Clon CCN - 51 con fosetil aluminio, hidróxido de cobre y propineb en Satipo. Tesis Ing. Agr. Satipo, Perú. UNCP. 81 p.
- Montes, M. 2016. Efectos del fosforo y azufre sobre la variable rendimiento de mazorcas en una plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51, en la zona de Babahoyo. Tesis Ing. Agr. Babahoyo, Ecuador. UTB. 114 p.
- Martínez, E., Pérez, L. 2015. Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. Scientia Agropecuaria 8(5): 1-14.
- Maldonado, C. 2015. Efecto del manejo en la reducción de incidencia de enfermedades (Moniliasis, escoba de bruja y mazorca negra) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la estación experimental de Sapecho. APTHAPI 1(1): 38-51.
- McKenney, P., Driks, A., Eichenberger, P. 2012. The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat. Nature Reviews Microbiology 11(1): 33–44.

- Nagua, E. 2016. Uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como agente de control biológico de hongos fitopatógenos en cultivos tropicales. Tesis Ing. Agr. Machala, Ecuador. UTMACH. 48 p.
- Pérez, L. 2018. *Moniliophthora roreri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. Revista de Protección Vegetal 33(1): 1-15.
- Parra, D., Pérez, S., Sosa, D., Rumbos, R., Gutiérrez, B., Moya, A. 2018. Avances en las investigaciones venezolanas sobre enfermedades del cacao. Revista de Estudios Transdisciplinarios 8(4): 19-24.
- Rodríguez, E., Parra, E., Bermeo, P., Segura, J., Rodríguez, L. 2021. Manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora palmivora*) en cacao por aplicación conjunta de prácticas culturales y químicas. Revista Facultad de Ciencias Básicas 6(3): 1-9.
- Rodríguez, E., Parra, E., Bermeo, P., Segura, J., Rodríguez, L. 2021. Manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora palmivora*) en cacao por aplicación conjunta de prácticas culturales y químicas. Revistas Facultad de Ciencias Básicas 16(1): 79-93.
- Robles, B. 2017. Verificación de biopesticidas en base a bacterias epífitas para el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans et al.) en el cultivo de cacao híbrido CCN 51 en Santo Domingo, provincia Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis Ing. Agr. Santo Domingo, Ecuador. EPE. 132 p.
- Sánchez, C., Jaramillo, A., Ramírez, M. 2015. Enfermedades del cacao. Ecuador. Tesis Ing. Agr. Machala, Ecuador. UTM. 121 p.
- Sánchez, L., Gamboa, E., Rincón J. 2015. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del cacao (*Theobroma cacao* L) en el estado Barinas. Revista Facultad Agronómica 20(2): 1-10.

- Sánchez, F., Garcés, F. 2014. *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans *et al.* en el cultivo de cacao. *Scientia Agropecuaria* 3(1): 249 – 258.
- Tollenar, A. 2014. *Phytophthora palmivora* en *Theobroma cacao* L. y su control. IICA, Costa Rica. 22 p.
- Tirado, P., Lopera, A., Ríos, L. 2016. Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, Mosquera (Colombia) 17(3): 417-430.
- Tejera, B., Rojas, M., Heydrich, M. 2011. Poder potencial del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(3): 131–138.
- Vera, M., Bernal, A., Leiva, M., Vera, A., Vera, D., Peñaherrera, S., Solís, K., Terrero, P., Jiménez, V. 2018. Microorganismos endófitos asociados a *Theobroma cacao* como agentes de control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Revista Centro Agrícola* 45(3): 81-87.
- Villamil, J., Viteri, S., Villegas, W. 2015. Aplicación de antagonistas para el control biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 68(1): 7441-7450.
- Villamil, J., Blanco, J., Viteri, S. 2012. Evaluación in vitro de Microorganismos Nativos por su Antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Agronomía* 65(1): 6307-6315.
- Yu, X., Ai, C., Xin, L., Zhou, G. 2011. La bacteria productora de sideróforos, *Bacillus subtilis* CAS15, tiene un efecto de biocontrol sobre la marchitez por *Fusarium* y promueve el crecimiento del pimiento. *European Journal of Soil Biology*, 47(2): 38–145.

