

EVALUACIÓN IN VITRO DE 14 MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora.

In vitro evaluation of 14 culture media on the mycelial growth of *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora.

 Jhojan Sven Huaman Pampañaupa²

 Fanny-Rosario Márquez Romero¹

 Sara Cabrera Márquez³

 Dilman Glicerio Paricoto Apaza¹

¹Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba, Perú.

²Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú.

³Universidad Andina del Cusco, Perú.

Correspondencia:

PhD. Fanny Marquez Romero

fanny.marquez@uniq.edu.pe

RESUMEN

El cultivo de cacao en el Perú se va incrementando por la ampliación de áreas productivas y mejora de los rendimientos, sin embargo, la presencia de las tres principales enfermedades (mazorca parda, escoba de bruja y moniliasis) afectan significativamente los rendimientos en cacaotales con bajo nivel de mantenimiento, teniendo como objetivo determinar los medios de cultivo que permitan mayores crecimientos radiales de *Moniliophthora perniciosa*, por lo que se hace necesario contar con estrategias viables de manejo y control. Las pruebas in vitro de control químico y biológico requieren que los aislados presenten crecimientos miceliales apropiados, por lo que se planteó la comparación de 14 medios de cultivo sólidos no convencionales con 6 repeticiones. Los tratamientos fueron maltacervezneg, frejolcaraota, achiote, cascmazorca, arroz, maizamarillo, frugos, mbamilaceo, papa, melazacacao, vegetales, masabour, escobaverde y gelatina, sobre los cuales se sembró basidiocarpos de *M. perniciosa* proveniente de Cacaopampa-Santa Ana, pegados en el centro de la tapa de las placas petri de 90 mm y se incubaron por 12 días a 25°C de temperatura. Los medios de cultivo que permitieron mayores crecimientos radiales de *M. perniciosa* fueron medio malta proveniente de cerveza negra, frejol caraota, achiote y cáscara de cacao con 90.00, 87.08, 82.58 y 66.75 mm respectivamente y el medio papa (PDA) presentó un desempeño 50% menor que el medio Maltacerveneg en el crecimiento radial de cultivo monospórico de *M. perniciosa*.

Palabras clave: Medio de cultivo, *M. perniciosa*, extractos vegetales, crecimiento radial.

ABSTRACT

Cocoa cultivation in Peru is increasing due to the expansion of productive areas and improved yields, however the presence of the three main diseases (brown ear, witch's

broom and moniliasis) significantly affect the yields in low-level technology in cocoa plantations, aiming to determine the culture media that achieve greater radial growth of *Moniliophthora perniciosa*, so it is necessary to have viable management and control strategies. In vitro chemical and biological control tests require that the isolates present appropriate mycelial growths, for which reason the comparison of 14 non-conventional solid culture medium with 6 repetitions was proposed. The treatments were maltacervezneg, frejolcaraota, achiote, cascazorca, rice, maizamarillo, frugos, mbamilaceo, potato, melazacacao, vegetables, masabour, escobaverde and gelatina, on which basidiocarps of *M. perniciosa* from Cacaopampa- Santa Ana were inoculated, stuck in the center of the lid of the 90 mm petri dishes and they were incubated for 12 days at 25 °C. The culture medium that allowed greater radial growth of *M. perniciosa* were malt medium from black beer, caraota beans, achiote and cocoa shell with 90.00, 87.08, 82.58 and 66.75 mm respectively and the potato medium (PDA) presented a 50% lower performance than the Maltacerveneg medium in the radial growth of the monosporic culture of *M. perniciosa*.

Keywords: Culture medium, *M. perniciosa*, plant extracts, radial growth.

INTRODUCCIÓN

La producción del cacao en el mundo en la campaña 2020-2021 sobrepasó por primera vez los 5 millones de toneladas y es un hito en la producción mundial, en la campaña 2019 a 2020 se ha incrementado muy ligeramente y está relacionado a la producción de Perú que incrementó 28 mil toneladas, Costa de Marfil que aumentó 5 mil toneladas y por el contrario Papúa Nueva Guinea descendió 4 mil toneladas, (ICCO, 2021).

El Perú, del 2010 al 2020 incrementó de 46613 a 151622 toneladas de producción de cacao grano seco, con una tasa de crecimiento promedio anual de 12,6% y un incremento total de 176% (MIDAGRI, 2021; ICCO, 2021) y en el 2020 Perú ocupa el 8vo lugar de los países exportadores y contribuye con 6.97% de la producción mundial (ICCO, 2021). A nivel de regiones productoras, Ayacucho, Amazonas y Cusco son las que disminuyeron su producción del 2019 al 2020, mientras que las demás regiones productoras incrementaron su producción en el mismo periodo (MIDAGRI, 2021).

La producción de cacao a nivel mundial se ve afectada por enfermedades, insectos e inadecuado manejo del cultivo, siendo las enfermedades, el principal factor limitante. Se

ha calculado una pérdida conservadora del 20% (Ploetz, 2016); pero pueden generar pérdidas cercanas al 80% (Krauss et al., 2006); y son tres las principales enfermedades que disminuyen la producción (Fulton, RH., 1989); la pudrición negra de la mazorca considerada como la enfermedad más grave en África occidental y central, causada por el complejo *Phytophthora palmivora* (E. J. Butler) E. J. Butler, *Phytophthora megakarya* Brasier & M.J. Griffin, *Phytophthora capsici* Leonian y *Phytophthora citrophthora* (R.H. Sm. & E. Sm.) Leonian (Appiah et al., 2004); la escoba de bruja, causada por *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime y *Phillips-Mora* considerada como el principal factor limitante en Brasil (Másmela-Mendoza, 2019) y la moniliasis, ocasionada por *Moniliophthora roleri* H.C. Evans et al., las dos últimas originarias de América del Sur y podrían devastar los cultivos en África Occidental y Asia si se diseminan a esos continentes (Másmela-Mendoza, 2019; Ploetz 2016).

El basidiomiceto *Marasmius pernicius* S. fue identificado inicialmente como agente causal de la escoba de bruja del cacao en 1915 (Stahel, 1915) y en el 1942 fue reclasificado como *Crinipellis* por SINGER (1942) y finalmente en el 2005 fue clasificado a través de métodos moleculares como *Moniliophthora perniciosa*

por Aime y Phillips-Mora (2005).

Moniliophthora perniciosa (Marasmiaceae: Agaricales), es un patógeno que presenta tres biotipos C, S y H, cada una tiene huéspedes diferentes, *M. perniciosa* Biotipo C es patogénico en *Theobroma cacao* (Malvaceae); el Biotipo H es patogénico en *Heteropterys acutifolia* (Malpighiaceae), el Biotipo S en *Solanum mauritianum*, *Solanum swartzianum*, *Solanum lycocarpum*, *Solanum gemellum*, *Solanum cernuum* (Solanáceas) y el Biotipo L (hospedantes de liana) posiblemente bignoniaceas (Lisboa et al., 2020).

En el Perú, *M. perniciosa* está presente en todas las zonas productoras de cacao (Ríos-Ruiz, 2017) y ocasiona síntomas en brotes terminales, axilares, cojines florales, hojas, frutos y ramillas, razón por la cual ocasionan severos daños económicos a los productores. La disminución de la producción puede en cacaotales no manejados llegar al 50% y por tanto es un problema muy importante, considerando también que no tiene restricciones en sus requerimientos.

Los síntomas que produce *M. perniciosa* en La Convención son concordantes a los señalados por Pérez-Vicente (2018). El crecimiento anormal de ramas, ramillas y cojines florales son causados por un proceso de hipertrofia e hiperplasia, las escobas se producen en los brotes y los cojines florales, en los frutos causan necrosis de color negro de tamaños variables, en las hojas, la necrosis causa manchas de color marrón que puede cubrir del 30 al 100% del área foliar. Los signos (basidiocarpos) se producen en escobas de brotes, en hojas y frutos que deben haber cumplido su etapa biotrófica. Las basidiosporas de *M. perniciosa* generalmente tienen un núcleo por espora en cada basidio, pero en el mismo cuerpo fructífero se puede encontrar hasta aproximadamente el 8% de esporas binucleadas y ocasionalmente trinucleadas brindando señales de homotalismo secundario (Boddy, 2016).

Las estrategias más utilizadas para el manejo de la escoba de bruja están relacionadas con el control cultural como la remoción de

escobas secas e inmaduras (verdes), mazorcas enfermas, las mismas que deben ser retiradas del campo de cultivo; el empleo de fungicidas, biocontroladores como *Trichoderma sp.* y hongos endofíticos (Loguercio et al., 2009; Mejía et al., 2008; Tirado-Gallego, Lopera-Álvarez, y Ríos-Osorio, 2016). La combinación de los métodos de agentes químicos, físicos y biológicos son las más recomendadas (Tirado-Gallego et al., 2016).

Con la finalidad de realizar pruebas a nivel in vitro para identificación morfológica, patogenicidad y control químico y biológico se requiere del crecimiento micelial óptimo de *M. perniciosa*. En medio papa dextrosa agar (PDA) este fitopatógeno tiene desarrollo irregular y lento, y se hace necesario contar con un medio de cultivo que satisfaga todos sus requerimientos nutricionales y permita un desarrollo uniforme y rápido del micelio, por lo que se ha propuesto evaluar 14 medios de cultivo sólidos, incluido el medio PDA como referencia, con el objetivo de seleccionar el medio adecuado que permita contribuir al desarrollo de control químico y biológico in vitro como etapas preliminares a las técnicas de manejo y control de *M. perniciosa* en campo.

MATERIAL Y METODOS

Área de estudio

El experimento se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Intercultural de Quillabamba, ubicada en Perú - Cusco-La Convención - Santa Ana.

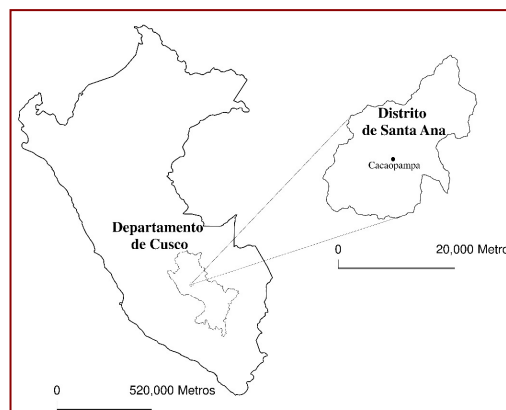


Figura 1. Mapa de ubicación Cacaopampa, lugar fuente del aislado de *M. perniciosa*

Origen y aislamiento de *M. pernicioso*

La cepa de *Moniliophthora pernicioso* utilizada en este estudio proviene de la zona productora de cacao Cacaopampa del distrito de Santa Ana en La Convención-Cusco, ubicada a 1300 m de altitud con 25°C de temperatura promedio anual y 74% de humedad relativa. Finca con presencia de árboles de cacao nativo tipo Chunchu de más de 10 m de altura con 100% de incidencia de *M. pernicioso*.

M. pernicioso fue aislado utilizando el método usado por Solano et al., (2012) que consiste en la obtención de cultivos monospóricos mediante descarga de esporas utilizando basidiocarpos producidos en forma natural de escobas de ramas. El basidiocarpo de 1 cm de diámetro aproximado se adhiere con cola entomológica "Temo-O-Cid" en la parte céntrica superior de placa Petri de 90 mm de borosilicato esterilizada dispensado con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Las placas inoculadas se dejaron incubar a 25 °C por 20 días hasta obtener cultivo puro.

Preparación de los medios de cultivo

- Malta-Cerveza Negra® (Maltacervneg): Para preparar un litro de medio, se utilizó 15 g de dextrosa, 15 g de agar y 250 ml de Cerveza Cusqueña Negra® (100% cebada de malta tostadas y caramelo, lúpulos aromáticos, 5,6% alcohol y ácido ascórbico), en un Erlenmeyer se completó a 1000 ml de volumen con agua destilada, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Frejol caraota (frejolcaraota): Para preparar un litro de medio se utilizó 250 g de frejol (*Phaseolus vulgaris*) variedad Negro o Caraota chancado o partido se hierva por 30 minutos en un litro de agua destilada, luego se procede a colar y en el caldo se disuelve 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Achiote (achiote): Para preparar un litro de medio de cultivo se utilizó 500 g de achiote (100 g de fruto seco y/o fresco, 200 g de hojas frescas y 200 g de tallos frescos de Bixa orellana L.), se corta en pequeños trozos se hace hervir por 30

minutos en un litro de agua destilada, se procede a colar y en el caldo se disuelve 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.

- Cáscara de mazorca de cacao (cascmazorca): Para preparar un litro de medio se requiere 400 g de cáscara de mazorca de cacao (*Theobroma cacao* L.) en maduración óptima, las cáscaras se cortaron en trozos pequeños, se hace hervir por 30 minutos en un litro de agua destilada, se procede a colar y en el caldo se disuelve 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Arroz (arroz): Para un litro se utilizó 250 g de arroz (*Oriza sativa* L.), se hace hervir por 15 minutos en un litro de agua destilada, se procede a colar y en el caldo se disuelve 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Maíz amarillo duro (maíz amarillo): Para un litro se utilizó 250 g de maíz (*Zea mays* L.) amarillo duro Var. Dekalb 399 chancado, se hizo hervir por 30 minutos en un litro de agua destilada, se procede a colar y en el caldo se disuelve 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Frugos® (frugos): Para un litro de medio se utilizó 250 ml de Frugos del Valle® (83.33 ml de Frugos Mango®, 83.33 ml de Frugos Piña® y 83.33 ml de Frugos Durazno®). En un matraz Erlenmeyer se añadió 250 ml de Frugos del Valle®, 750 ml de agua destilada, 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Maíz blanco amiláceo (MBamiláceo): Para un litro de medio se utilizó 250 g de maíz amiláceo variedad Blanco gigante de Cusco en grano tierno, se hizo hervir por 30 minutos en 1000 ml de agua destilada, luego se procedió a colar el caldo a un matraz Erlenmeyer y se añadió 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.

- Papa dextrosa agar PDA (papa): Para un litro de medio de cultivo se utilizó 250 g de papa (*Solanum tuberosum* L.), previamente lavada en agua corriente, se cortó en trozos pequeños y se puso a hervir en 1000 ml de agua destilada, luego se procedió a colar el caldo a un matraz Erlenmeyer y se añadió 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Melaza de cacao (melazacacao): Se utilizó 250 g de granos de cacao en baba con su pulpa (melaza), se hizo hervir en 1000 ml de agua destilada, luego se procedió a colar el caldo a un matraz Erlenmeyer y se añadió 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.
- Vegetales (vegetales): Se usó 70 g de apio (*Apium graveolens*), 70 g de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), 70 g de zanahoria (*Daucus carota* L.), 70 g de remolacha (*Beta vulgaris* L.), 70 g de lechuga (*Lactuca sativa* L.), 70 g de espinaca (*Spinacea oleracea* L.), 70 g de perejil (*Petroselinum crispum*), todos los vegetales se licuaron en 1000 ml de agua destilada, luego se procedió a colar el jugo a un matraz Erlenmeyer y

se añadió 15 g dextrosa y 15 g de agar, se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.

- Agar sabouraud glucosado (MASabouraud): En un matraz Erlenmeyer se coloca 1000 ml de agua destilada, 5 g de peptona, tripteína (5 g), glucosa (40 g), cloranfenicol (0.05 g) y agar (15 g) se mezcla bien y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.

- Extracto de escoba verde (escobaverde): Para un litro de medio se utilizó 400 g de escoba verde de los brotes de la planta del cacao, es el síntoma de hiperplasia en fase biotrófica, se corta en pequeños trozos y se hizo hervir por 20 minutos en 1000 ml de agua destilada, luego se procedió a colar el caldo a un matraz Erlenmeyer, se añade 15 g de dextrosa y 15 g de agar. Mezclar bien, esterilizar por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.

- Gelatina (gelatina): se utiliza dextrosa 15 g, agar 15 g, 20 g de gelatina marca Negrita® sabor a fresa (2% carbohidrato y 15% de vitamina C). Se disuelven todos los ingredientes en un litro de agua destilada y se esteriliza por 30 minutos a 121 °C/15 lb de presión.



Figura 2. Esquema de preparación de medio de cultivo de frejol caraota o frijol negro.

Preparación de las placas

Las placas Petri de 90 mm de vidrio borosilicato se dividieron en cuatro, rotulando cada línea con una letra (A, B, C y D) para identificar las medidas radiales que se registraron en las evaluaciones del crecimiento micelial.

En las placas esterilizadas y preparadas se vierte el medio de cultivo en estudio y se deja solidificar en la cabina de bioseguridad A-II Esco. Posteriormente en el punto central de la placa se coloca una rodaja de 5 mm de diámetro del inóculo *M. pernicioso* crecida en medio PDA (papa-dextrosa-agar).

Las placas sembradas se dejaron en incubación a 25° C por los días necesarios hasta que uno de los medios de cultivo cubra totalmente la placa.

VARIABLES

Crecimiento radial

Las evaluaciones de crecimiento micelial de *Moniliophthora perniciosa* se realizó cada 72 horas, registrando los datos en mm del crecimiento radial de los 4 radios de la placa. Los días de evaluación culminaron cuando *Moniliophthora perniciosa*, cubrió completamente en uno de los medios de cultivo.

Diámetro de crecimiento micelial

La variable principal analizada fue el diámetro del crecimiento micelial, que se determinó mediante

la media de las cuatro líneas multiplicada por dos expresada en mm.

Los valores de diámetro se procesaron utilizando el software R mediante un análisis de varianza para diseño completo al azar (DCA) con 14 tratamientos y 6 repeticiones (placa Petri) y la comparación de medias por Duncan, con un nivel de confianza de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación de medios de cultivo para el crecimiento del hongo fitopatógeno *M. perniciosa* nos brinda como resultado que existe diferencia significativa entre los medios estudiados al 95% ($p < 0,05$), con un coeficiente de varianza de 9.799%.

Tabla 1
Diámetro, significación y estadísticos de los medios de cultivo en estudio

Núm. de orden	Medio de cultivo	Media del diámetro	Sig. Duncan	Desv.s td	Min	Max	Q25	Q50	Q75
1	Maltacervezneg	90.00	a	5.119	84.5	97	85.88	89.25	93.75
2	Frejolcaraota	87.08	ab	5.83	77.5	92	84.00	89.75	91.00
3	Achiote	82.58	b	6.68	74.0	92	78.63	81.50	87.00
4	Cascmazorca	66.75	c	9.92	58.0	83.5	59.75	63.50	71.00
5	Arroz	66.25	c	2.95	63.5	71.0	64.13	65.25	67.88
6	Maizamarillo	59.75	d	5.17	52.5	66.5	58.00	58.25	63.38
7	Frugos	59.16	de	5.80	52.0	67.5	55.63	58.00	63.00
8	MBamilaceo	53.08	e	3.69	48.5	57.5	50.13	53.25	56.00
9	Papa	44.00	f	5.78	34.0	50.0	42.00	45.50	47.50
10	Melazacacao	41.50	f	3.35	48.5	46.0	39.13	42.00	43.38
11	Vegetales	38.41	fg	6.46	32.5	49.0	34.13	36.00	41.63
12	MAsabourd	33.83	gh	3.31	28.5	38.5	33.00	33.75	35.25
13	Escobaverde	28.58	h	4.55	21.0	33.5	26.63	29.50	31.63
14	Gelatina	16.75	i	0.69	16.0	18.0	16.5	16.50	16.88

Sig. Duncan= Significación mediante Duncan donde letras distintas indican diferencias significativas
($p \leq 0.05$, número de repeticiones =6).

Sig. Duncan= Significación mediante Duncan donde letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$, número de repeticiones=6).

En la Tabla 1, se presentan los resultados ordenados en cuanto a media del diámetro del crecimiento en mm, la significación obtenida mediante la comparación de medias Duncan y los estadísticos que caracterizan a cada tratamiento.

Los medios de cultivo que propiciaron mayor desarrollo del micelio del hongo fueron Malta Cerveza Negra® (90.00mm), Frejol caraota

(87.08mm), Achiote (82.58mm) y Cáscara de cacao (66.75mm) observándose que los dos primeros son estadísticamente similares y el segundo y tercero forman otro grupo similar.

Los medios gelatina (16.75 mm), extracto de escoba verde (28.58 mm), y de maíz amarillo duro con sabouroud (33.83 mm), extracto de vegetales (38.41 mm) y melaza de cacao (41.50 mm) fueron los que menos crecimiento micelial provocaron, lo que indica que no son medios recomendables para *M. pernicioso*, presentando un crecimiento menor al medio papa, que fue considerado como referencia (Tabla 1 y Figura 3).

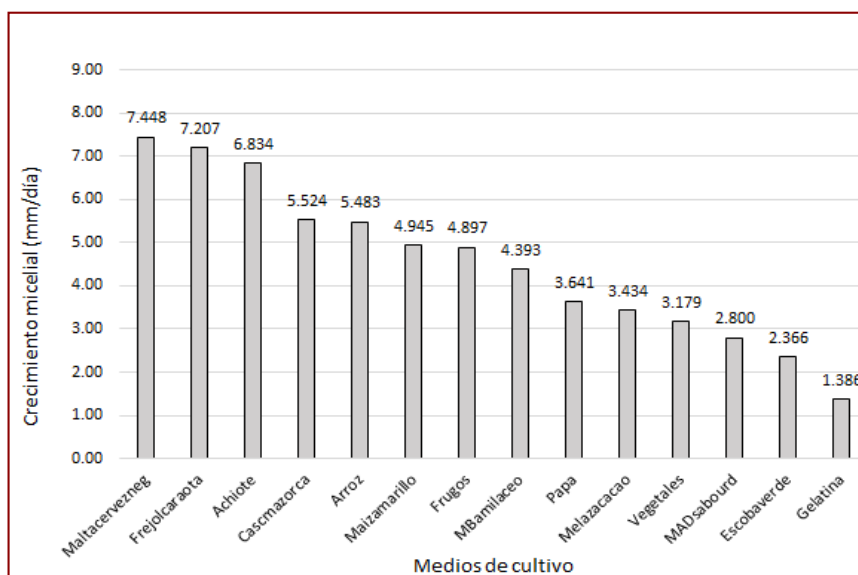


Figura 3. Crecimiento micelial en mm por día de *M. pernicioso* por tipo de medio de cultivo

El índice de crecimiento micelial diario es un dato que expresa la longitud promedio de crecimiento de micelio monospórico de *M. pernicioso* (Figura 3), expresa que los medios Maltacervezneg, Frejolcaraota y Achiote tienen similares índices y que pueden ser considerados para investigaciones en patogenicidad, control químico y biológico.

En la Figura 4, se observa el crecimiento micelial en todos los medios estudiados, algunos medios muestran diferentes colores ocasionados por los ingredientes; el medio papa demuestra su bajo desempeño comparado a los medios Maltacervezneg, Frejolcaraota y Achiote. Para una

comparación relativa se consideró al medio papa con el valor de 1 o 100%, considerando que este medio es el más usado para el crecimiento de aislados de hongos. Los medios Melazacacao, Vegetales, MADsabour, Escobaverde y Gelatina obtuvieron un crecimiento relativo de 0.94, 0.87, 0.77, 0.65 y 0.38 respectivamente, clasificándolos como inadecuados para *M. pernicioso*; por el contrario los medios Maltacervezneg, Frejolcaraota, Achiote, Cascmazorca, Arroz, Maizamarillo, Frugos y MBamilaceo obtuvieron valores relativos de 2.05, 1.98, 1.88, 1.52, 1.51, 1.36, 1.34 y 1.21 respectivamente significando que fueron más eficientes en brindar a *M. pernicioso* los elementos nutricionales.

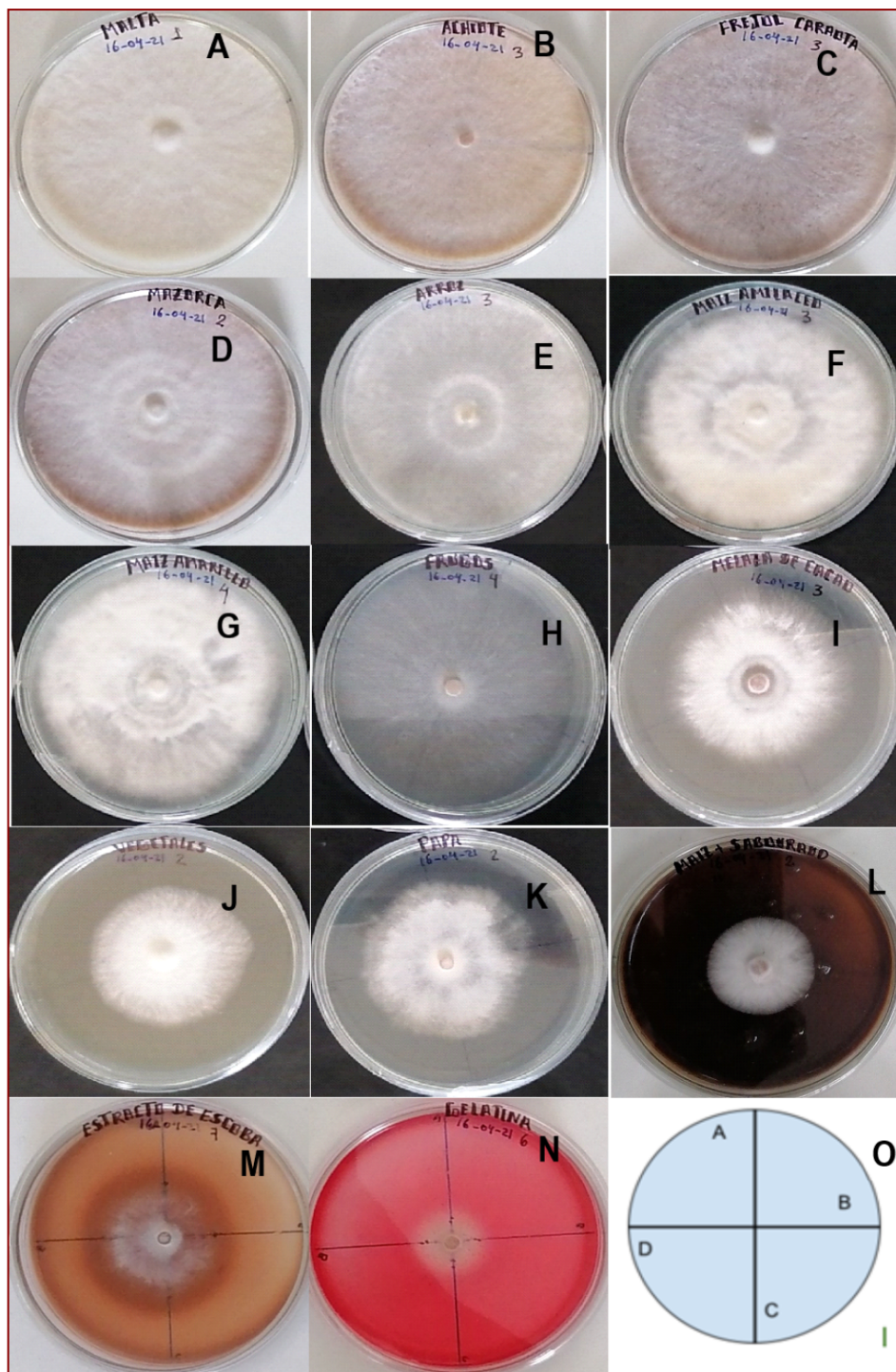


Figura 4. Crecimiento micelial de *M. perniciosa* en diferentes medios a los 12 días después de la siembra y método de rotulación de placas. A) Maltacervezneg, B) Achioté, C) Frejolcarabota, D) Mazorcacacao, E) Arroz, F) MBamilaceo, G) Maizamarillo, H) Frugos, I) Melazacacao, J) Vegetales, K) Papa, L) MASabouraud, M) Escobaverde, N) Gelatina, O) Forma de división en cuadrantes de placas petri.

DISCUSIÓN

Los hongos dependen exclusivamente del carbón obtenido de otros organismos para su metabolismo y nutrición por ser heterótrofos y pueden utilizar una gran variedad de sustratos orgánicos para crecer, lo que incluye compuestos simples como el nitrato, amoníaco, acetato y etanol así mismo los microorganismos actúan sobre el nitrógeno mediante las proteinasas y peptidasas hidrolizando las proteínas a péptidos y aminoácidos libres, los que son utilizados directamente para la síntesis de proteínas y constituyentes celulares como la pared celular y ácidos nucleicos (Nelson y Cox, 2005).

El medio Maltacervezneg logró el mayor crecimiento, siendo 204% más que el medio papa (PDA), se deduce este mayor crecimiento al alto contenido de carbohidratos y aminoácidos. El medio artificial extracto de malta es utilizado con alta frecuencia en el aislamiento de basidiomicetes, mohos y levaduras (Aragón-López et al., 2020; Loaiza y Madeleine 2021; Matías-Luis et al., 2021), en nuestro trabajo usamos cerveza negra que contiene malta; la malta de cebada es grano de cebada germinado, secado y tostado bajo un estricto control de calidad relacionada a la germinación y tostado, a todo ese proceso se denomina malteado y prepara la cebada para la fase de maceración y con ella activar diversas enzimas que reducen las cadenas largas de azúcares en otras más simples y fermentables, por esta propiedad, se considera a la malta como fuente de azúcares (García Olmedo 1965) y una excelente fuente de carbono, inductor y sustrato para el crecimiento de hongos y producción de biomoléculas (Casas-Godoy y Barrera-Martínez 2021).

El frejol caraota o frijol negro tiene un contenido elevado de proteína, carbohidratos y minerales, poco contenido de lípidos, aunque es rico en ácido linoléico con bajo aporte calórico (Matthews, 1989), los frijoles tienen carbohidratos de bajo índice glicémico (Serrano y Goñi 2004). El análisis proximal del caldo de frijol negro contiene 8.52% de sólidos totales y 1.48% de proteína (Bressani et al., 1988), estos altos contenidos nutricionales a nivel de carbono

y nitrógeno justifican los resultados obtenidos en cuanto a ser considerado como un medio de cultivo apropiado para el crecimiento micelial de *M. pernicioso*.

El achiote (*Bixa orellana*) es una planta productora del colorante natural bixina y norbixina empleadas en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica (Barrozo, Santos, y Cunha 2013). Los extractos etanólicos del achiote demostraron actividad antifúngica contra *Fusarium spp* y *Sclerotium spp* (Cuvi y Jemberly, 2013) y su efecto antifúngico sobre *Candida albicans* sobre superficies (Ramírez y Guadalupe, 2018). Del extracto etanólico obtenido a partir de semillas de *Bixa orellana* se obtuvo alcaloides, flavonoides y taninos lo que puede explicar sus propiedades farmacológicas (Prado, 2021). La acción proveedora de nutrientes a *M. pernicioso* u otros hongos no se ha registrado, sin embargo en la caracterización del valor nutricional de harina residual de semilla de achiote (Pimentel-Mani et al., 2020) se determinó que su contenido nutricional para animales es, materia seca (90.20%), proteína bruta (13.13%), extracto de éter (2.10%), fibra bruta (17.33%), Calcio (0,51 %), Fósforo total (0,40 %) y Energía bruta (3836 kcal / kg) y ello permite deducir que es una buena fuente de carbono, antioxidantes y minerales.

Moniliophthora pernicioso puede crecer en metanol como única fuente de carbono debido a que metaboliza el metanol generado por la degradación de la pectina que comienza en el espacio extracelular y termina en el citosol de forma independiente de peroxisomas (de Oliveira et al ., 2012).

CONCLUSIONES

- Los medios de cultivo que permitieron mayores crecimientos radiales de *Moniliophthora pernicioso*, son del medio malta, proveniente de cerveza negra, frejol caraota, achiote y cáscara de cacao con 90.00, 87.08, 82.58 y 66.75 mm respectivamente.

- El medio Papa (PDA) presentó un desempeño 50% menor que el medio Maltacervezneg en el

crecimiento radial de cultivo monospórico de *M. pernicioso*.

- El fitopatógeno *M. pernicioso* al igual que otros hongos hemibiótrofos requieren de compuestos vegetales en los medios de cultivo para un crecimiento in vitro.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado financieramente por la Universidad Nacional Intercultural de Quillabamba (UNIQ), mediante el proyecto de investigación: Resistencia de clones de cacao Chunchu a *Moniliophthora pernicioso* y control de escoba de bruja en La Convención-Cusco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aime, M. C., and Phillips-Mora, W. (2005). The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97:1012-1022. DOI: 10.3852 / micología.97.5.1012

Alarcón M, O; Aldazabal, M; Martínez, J. (1996). Influencia del sol y la sombra en la calidad y el rendimiento del grano de café. *Centro Agrícola* 23(3):11-16.

Appiah, A. A., J. Flood, S. A. Archer, y P. D. Bridge. (2004). Molecular Analysis of the Major Phytophthora Species on Cocoa. *Plant Pathology* 53(2):209-19. DOI: 10.1111/j.0032-0862.2004.00980.x.

Aragón-López, Yesenia, Alma Dolores Pérez-Santiago, Marco Antonio Sánchez-Medina, Yesenia Aragón-López, Alma Dolores Pérez-Santiago, y Marco Antonio Sánchez-Medina. (2020.) Cultivo in vitro de *Lactarius volemus* en la búsqueda de lectinas fúngicas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas* 23. DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.269.

Barrozo, M. A. S., K. G. Santos, y F. G. Cunha. (2013). Mechanical Extraction of Natural Dye Extract from Bixa Orellana Seeds in Spouted

Bed». *Industrial Crops and Products* 45:279-82. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.12.052.

Boddy, Lynne. (2016). Chapter 4 - Genetics – Variation, Sexuality, and Evolution». Pp. 99-139 en *The Fungi (Third Edition)*, editado por S. C. Watkinson, L. Boddy, y N. P. Money. Boston: Academic Press.

Bressani, R., D. A. Navarrete, A. García Soto, y L. G. Elías. (1988). Culinary Practices and Consumption Characteristics of Common Beans at the Rural Home Level». *Archivos Latinoamericanos De Nutricion* 38(4):925-34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3154300/>

Casas-Godoy, Leticia, y Iliana Barrera-Martínez. (2021). «Revalorización de residuo de malta de cerveza para producir celulasas con hongos aislados en playas del estado de Jalisco». *RINDERESU* 5(2). Disponible en: <http://rinderesu.com/index.php/rinderesu/article/view/82/86>

Cuvi, Cuvi, y Jemberly J. (2013). Estudio de la actividad biológica in vitro de extractos de Bixa Orellana L., Carica Papaya L., Piper Aduncum L. contra patógenos vegetales». Disponible en: <http://repositorio.uea.edu.ec/xmlui/handle/123456789/40>

De Oliveira, Bruno V., Gleidson S. Teixeira, Osvaldo Reis, Joan G. Barau, Paulo José P. L. Teixeira, Maria Carolina S. do Rio, Romênia R. Domingues, Lyndel W. Meinhardt, Adriana F. Paes Leme, Johana Rincones, y Gonçalo A. G. Pereira. (2012). «A Potential Role for an Extracellular Methanol Oxidase Secreted by *Moniliophthora Pernicioso* in Witches' Broom Disease in Cacao». *Fungal Genetics and Biology* 49(11):922-32. DOI: 10.1016/j.fgb.2012.09.001.

Fulton, RH. (1989). La trilogía de la enfermedad del cacao: mazorca negra, pudrición de la mazorca de monilia y escoba de bruja. *Enfermedad de las plantas*, 73 , 601–603.

- García Olmedo, Francisco. (1965). Ensayos analíticos para la cebada y la malta II». *Cereales* (177):17-20. Disponible en: http://oa.upm.es/8009/1/Olmedo_173.pdf
- Krauss, Ulrike, G. Martijn ten Hoopen, Eduardo Hidalgo, Adolfo Martínez, Tim Stirrup, Claudio Arroyo, Johnny García, y Manuel Palacios. (2006). The Effect of Cane Molasses Amendment on Biocontrol of Frosty Pod Rot (*Moniliophthora Roreri*) and Black Pod (*Phytophthora Spp.*) of Cocoa (*Theobroma Cacao*) in Panama. *Biological Control* 39(2):232-39. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.06.005.
- Lisboa, Daniela, Harry Evans, João Araújo, Samuel Elias, y Robert Barreto. (2020). *Moniliophthora pernicioso*, the mushroom causing witches' broom disease of cacao: Insights into its taxonomy, ecology and host range in Brazil. *Fungal Biology* 124. DOI: 10.1016/j.funbio.2020.09.001.
- Loaiza, Toledo, y Yanela Madeleine. (2021). Determinación de la incidencia de los factores pH y medio de cultivo en la obtención del pigmento (cinabarina) a partir del hongo *Pycnoporus sanguineus*.
- Loguercio, Leandro Lopes, Aítala Carvalho de Carvalho, Givaldo Rocha Niella, Jorge Teodoro De Souza, y Alan W. Villela Pomella. (2009). Selection of *Trichoderma Stromaticum* Isolates for Efficient Biological Control of Witches' Broom Disease in Cacao. *Biological Control* 51(1):130-39. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.06.005.
- Másmela-Mendoza, Julián Esteban. (2019). Distribución potencial y nicho fundamental de *Moniliophthora spp* en cacao de América y África1. *Agronomía Mesoamericana* 30(3):659-79. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/437/43760145004/html/>
- Matías-Luis, Gabriel, Marco Antonio Sánchez-Medina, María del Socorro Pina-Canseco, Yadira Gochi-Ponce, Margarito Martínez-Cruz, Eduardo Pérez-Campos, y Alma Dolores Pérez-Santiago. (2021). Evaluación del crecimiento radial de *Lactarius volemus* en medio semisólido. *Journal of Negative and No Positive Results* 6(7):926-40. DOI: 10.19230/jonnpr.3841.
- Matthews, R. (1989). *Legumes, Chemistry, Technology and Nutrition*. Marcell Dekker, Inc USA. 389pp.
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbbar, P., Samuels, G. J., Robbins, N., & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), 4-14. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>
- Mejía, Luis C., Enith I. Rojas, Zuleyka Maynard, SunshineVanBael,A.ElizabethArnold,Prakash Hebbbar, Gary J. Samuels, Nancy Robbins, y Edward Allen Herre. (2008). Endophytic Fungi as Biocontrol Agents of *Theobroma Cacao* Pathogens. *Biological Control* 46(1):4-14. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.
- Ministerio de Desarrollo Agrario Y Riego (MIDAGRI). (2021). Observatorio de Commodities: Cacao. Boletín de publicación trimestral (octubre-diciembre-2020). Dirección General de Políticas Agrarias. Dirección de Estudios Económicos. Lima-Perú. 20p.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. (2005). *Principios de Bioquímica*. 4ª ed. Barcelona:Omega. 1192 p.
- Pérez-Vicente, Luis. (2018). *Moniliophthora roleri* H.C. Evans et al. y *Moniliophthora pernicioso* (Stahel) Aime: impacto, síntomas, diagnóstico, epidemiología y manejo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(1), 00. Recuperado en 03 de julio de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000100007&lng=es&tlng=es.
- Pimentel-Mani, lana, Maria C. Oliveira, Sarah CO

- Lima-Dóro, Poliana Carneiro-Martins, y Marcos AP Souza-Júnior. (2020). Valor nutricional y niveles de inclusión de harina residual de semilla de achiote en dietas para codorniz Japonesa. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 33(2):110-20. DOI: 10.17533/udea.rccp.v33n2a03.
- Ploetz, Randy. (2016). The Impact of Diseases on Cacao Production: A Global Overview». Pp. 33-59 en *Cacao Diseases: A History of Old Enemies and New Encounters*, editado por B. A. Bailey y L. W. Meinhardt. Cham: Springer International Publishing.
- Prado, Ana Flavia de Souza. (2021). Análisis fitoquímica do extrato etanólico de Bixa orellana L.
- Ramírez, Guamán, Bertha Guadalupe. (2018). Efecto antifúngico del extracto metanólico de las hojas de achiote (bixa orellana L.) sobre láminas de acrílico contaminadas de candida albicans. Estudio in vitro. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15069/1/T-UCE-0015-899-2018.pdf>
- Ríos-Ruiz, R. (2017). Fito Sanitización como Estrategia Principal de Manejo Integrado de Enfermedades en Cacao en el Perú: Tres Décadas y Media de Estudios de Epidemiología y Eficiencia de Control. 2017 International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima, Perú, 13-17 November 2017. Disponible en: <https://www.icco.org/wp-content/uploads/T3.122.FITOSANITIZACION-COMO-ESTRATEGIA-PRINCIPAL-DE-MANEJO-INTEGRADO-DE-ENFERMEDADES-EN-CACAO-EN-EL-PERU-TRES-DECADAS-Y-MEDIA-DE-ESTUDIO.pdf>
- Serrano, José, y Isabel Goñi. (2004). Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(1):36-44. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100006
- Solano, Carolina Osorio, Carlos Alberto Orozco Castaño, Germán Ariel López Gartner, y Fredy Arvey Rivera-Páez. (2012). Variabilidad genética de *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime y Phillips-Mora, comb. nov. (Agaricales - Marasmiaceae) en variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agronómica* 61(2):93-101. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169925874004>
- Stahel G. (1915). *Marasmius pernicius* Stahel in Global Biodiversity Information Facility (GBIF) Secretariat (2021). GBIF Backbone Taxonomy. In: Bull. Dep. Landb. Suriname 33: 16. DOI: <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2021-07-04
- Tirado-Gallego, Paola Andrea, Andrea Lopera-Álvarez, y Leonardo Alberto Ríos-Osorio. (2016). Estrategias de control de *Moniliophthora roreri* y *Moniliophthora perniciosa* en *Theobroma cacao* L.: revisión sistemática. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 17(3):417-30. DOI: 10.21930/rcta.vol17_num3_art:517.