

Evaluación *in vitro* de fungicidas químicos para el control de *Moniliophthora roreri* agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.)

In vitro evaluation of chemical fungicides for the control of *Moniliophthora roreri*, the causal agent of cacao frosty pod rot (*Theobroma cacao* L.)

Darlyn José Amaya-Márquez¹ <https://orcid.org/0000-0003-4961-0283>,
Danny Daniel Avilés Párraga¹ <https://orcid.org/0000-0001-7829-3075>, Angie Lisseth Peñaherrera-Morales² <https://orcid.org/0009-0004-8631-914X>, Javier Ulises Mendoza Thompson¹ <https://orcid.org/0009-0001-0502-3901>, Evelyn Elizabeth Sánchez Castro¹ <https://orcid.org/0000-0002-9786-7879>, Antonio Gonzalo Álava Murillo¹ <https://orcid.org/0000-0002-9786-7879>

¹Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador
damaya@uagraria.edu.ec, daviles@uagraria.edu.ec,
jmendoza@uagraria.edu.ec, elisantube@gmail.com,
aalava@uagraria.edu.ec

²Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador
angie-morales1298@hotmail.com



Esta obra está bajo una licencia internacional
Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0.

Enviado: 2025/05/27
Aceptado: 2025/09/05
Publicado: 2025/12/15

Resumen

El cultivo de cacao represente un rubro importante para la economía de los ecuatorianos, pues es uno de los principales productos de exportación; sin embargo, las enfermedades como *Moniliophthora roreri* ocasionan pérdidas significativas, y su control continúa siendo un desafío para los productores. Una de las soluciones para contrarrestar esta enfermedad es la evaluación *in vitro* de fungicidas químicos, ya que permite la caracterización de aislados fitopatógenos, y la estimación de dosis de moléculas químicas para el manejo fitosanitario. Por esta razón, este trabajo consistió en la evaluación de dos fungicidas a base de sulfato de cobre pentahidratado 200, 2000 y 20000 mg·L⁻¹ y azoxystrobin 1.0, 0.1 y 0.01 mg·L⁻¹ utilizando dos aislados de *M. roreri* bajo condiciones *in vitro*. Se utilizó un diseño completamente al azar

Sumario: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones.

Como citar: Amaya-Márquez, D., Avilés, D., Peñaherrera-Morales, A., Mendoza, J., Sánchez, E. & Álava, A. (2025). Evaluación *in vitro* de fungicidas químicos para el control de *Moniliophthora roreri* agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Tecnológica - Espol*, 37(2), 132-143.
<https://rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/1325>

factorial con siete repeticiones. Se evaluó el crecimiento radial del hongo para estimar el porcentaje de inhibición de crecimiento. Los resultados mostraron que azoxystrobin obtuvo el PIC 100% a $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, y fue altamente sensible, independientemente del aislado de *M. roreri*, pero estadísticamente el PIC entre cepas fue significativo. El sulfato de cobre pentahidratado alcanzó el PIC máximo a dosis de $20000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ clasificado como insensible y sin diferencias entre el PIC del fungicida frente los aislados de *M. roreri*. Se concluye que *M. roreri* es altamente sensible e insensible ante azoxystrobin y sulfato de cobre hidratado, respectivamente. Las dosis utilizadas son la base para analizar un número mayor de aislados y luego aplicar ensayos bajo condiciones de campo.

Palabras clave: Azoxystrobin, cobre, inhibición, pentahidratado, sensibilidad.

Abstract

Cacao cultivation represents an important sector for the Ecuadorian economy, as it is one of the country's main export products; however, diseases such as *Moniliophthora roreri* cause significant losses, and their control continues to be a challenge for producers. One solution to counteract this disease is the in vitro evaluation of chemical fungicides, as it allows for the characterization of phytopathogenic isolates and the estimation of chemical molecule dosages for phytosanitary management. For this reason, this study consisted of evaluating two fungicides: copper sulfate pentahydrate at 200, 2000, and 20000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and azoxystrobin at 1.0, 0.1, and 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ using two isolates of *M. roreri* under in vitro conditions. A completely randomized factorial design with seven replications was used. The radial growth of the fungus was evaluated to estimate the percentage of growth inhibition (PIC). The results showed that azoxystrobin achieved 100% PIC at $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and was highly sensitive, regardless of the *M. roreri* isolate, although statistically the PIC between strains was significant. Copper sulfate pentahydrate reached maximum PIC at a dosage of $20000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and was classified as insensitive, with no significant differences in PIC between isolates of *M. roreri*. It is concluded that *M. roreri* is highly sensitive and insensitive to azoxystrobin and copper sulfate hydrate, respectively. The doses tested provide the basis for analyzing a larger number of isolates and subsequently applying trials under field conditions.

Keywords: Azoxystrobin, copper, inhibition, pentahydrate, sensitivity.

Introducción

La moniliasis del cacao, causada por *Moniliophthora roreri* (Evans et al., 1978), representa una amenaza significativa para la producción de *Theobroma cacao* L., generando pérdidas económicas considerables en regiones productoras. Frente a este desafío, el uso de fungicidas como azoxystrobin y sulfato de cobre pentahidratado ha sido evaluado como estrategia para mitigar la propagación del patógeno y mejorar el manejo fitosanitario del cultivo (Calva, 2016; Solórzano, 2018). Contra la enfermedad, se han examinado alternativas de manejo de *M. roreri*, tales como labores culturales, sensibilidad a fungicidas, genéticas, entre otras (Amaya et al. 2021; Amaya et al. 2024). En Ecuador, es esencial realizar estudios genéticos del patógeno, dado que factores ambientales influyen en la resistencia y adaptación de los fitopatógenos frente a las defensas del cacao. Se han identificado tres grupos genéticos en el país, con una varianza molecular del 59 % entre áreas de muestreo y 40 % dentro de ellas. El flujo génico, mediado por elementos del paisaje como caminos y ríos, podría incidir en la expresión fenotípica del patógeno. (Phillips-Mora et al. 2007; Rodríguez-Velázquez et al. 2024; Ren et al. 2025). En efecto, realizar pruebas de sensibilidad a fungicidas es fundamental para estimar dosis efectivas de fungicida, esto permitirá reducir residuos del antifúngico en sedimentos, plantas, protozoos, entre otros, ya que los fungicidas como el azoxystrobin ejercen

efectos residuales en agua y biota en China (Zhao et al. 2024). En cuanto al sulfato de cobre pentahidratado, su uso es amplio en la agricultura, por ejemplo, como ingrediente antifúngico, alguicida en piscinas o lagos, suplemento en la alimentación de animales, agente anticorrosivo, conservante de madera, insumo en aplicaciones químicas y veterinarias, así como modulador de estrés por salinidad. Debido a esta diversidad de aplicaciones resulta fundamental estudiar el sulfato de cobre como fungicida, con el fin de utilizar dosis óptimas que eviten sobredosis que afecten el ambiente y factores bióticos (Varela et al. 2003; Naghavi et al. 2023).

En el manejo de fitopatógenos, las estrobilurinas como azoxystrobin han mostrado ser efectivos antifúngicos contra basiomicetos, omicetos, deuteromicetos, entre otros, el modo de acción es sistémico e inhibidor de la respiración celular de hongos, impidiendo el crecimiento micelial (Barthett et al. 2002; Leite et al. 2024). El sulfato de cobre interrumpe la respiración celular e impide el crecimiento de hifas al generar estrés oxidativo dentro de las células de los hongos, además, el efecto del cobre contra microorganismos se atribuye a la interacción con los ácidos nucleicos (Theophanides & Anastassopoulou, 2002; Gaetke & Chow, 2003; Zhang et al. 2024), alteración enzimática, transporte de energía e integridad de la membrana celular de hongos (Chudzik et al. 2013; Pscheidt & Ocamb, 2022).

A nivel *in vitro* se han realizado estudios de dosis-respuesta a través de la inhibición del crecimiento micelial o esporas de hongos fitopatógenos. Recientemente se ha determinado que azoxystrobin ejerce alta eficacia con dosis que oscila entre 0.0008 y 0.020 mg·L⁻¹ para inhibir el 50% del crecimiento micelial (Tenegusñay, 2022); por ejemplo, en Ecuador se ha evaluado la inhibición de diferentes cepas *M. roleri* bajo diversas concentraciones de azoxystrobin y flutolanil; las dosis aplicadas permitieron determinar que 0,0001 a 0.015 mg·L⁻¹ de ingrediente activo es necesario para impedir el 50 % de crecimiento de *M. roleri*, clasificado con altamente sensible (Amaya et al. 2021; Espinoza-Lozano et al. 2022); además, estudios en México han evidenciado alta sensibilidad de *M. roleri* frente azoxystrobin combinado con hidróxido de cobre en condiciones de campo (Torres-de-la-Cruz et al. 2019). Mientras tanto, se ha reportado que el sulfato de cobre pentahidratado requirió dosis superiores que oscilaron entre 1000 a 4000 mg·L⁻¹ para evitar la mitad del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum* en pepino, aunque la cantidad efectiva del sulfato de cobre pentahidratado disminuye 5 a 100 mg·L⁻¹ cuando se aplican en modalidad de nanopartículas de sulfato de cobre en condiciones controladas *in vivo* (Zhang et al. 2024).

La investigación a nivel *in vitro* resulta esencial para entender la eficacia de estos compuestos en condiciones controladas y estimar el efecto sobre distintas cepas de *M. roleri*. Mediante la técnica de cultivo envenenado es posible determinar el grado de inhibición del crecimiento micelial de los patógenos generando información base para establecer estrategias de control más efectivas en campo.

Por esta razón, este trabajo evaluó la sensibilidad de dos aislados del basidiomiceto *M. roleri* a fungicidas sulfato de cobre pentahidratado y azoxystrobin en condiciones *in vitro*.

Materiales y Métodos

Muestreo

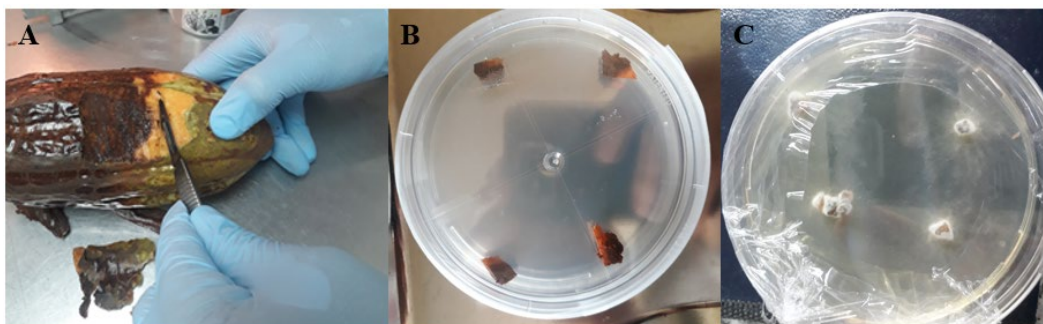
Se seleccionaron frutos de *Theobroma cacao* L. con síntomas característicos de moniliasis, provenientes de zonas agro-productivas de los cantones San Francisco de Milagro, en la provincia del Guayas, y Echeandía, en la provincia de Bolívar de Ecuador. Se consideraron únicamente aquellos frutos con síntomas de *M. roleri*, en los que al menos la mitad de la superficie no presentara necrosis. Posteriormente, estos fueron trasladados al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Agraria del Ecuador en Guayaquil.

Aislamiento

En condiciones de laboratorio, se procedió al aislamiento del patógeno mediante la técnica de cultivo envenenado, utilizando medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Previo a la siembra en PDA se realizó un lavado y desinfección de los frutos afectados por *M. roreri*. Con un bisturí se cortaron fragmentos considerando una parte sana y otra enferma del tejido y fueron sembrados en placas de Petri, posteriormente, se incubaron a 25°C en oscuridad por 7 días, permitiendo el desarrollo micelial de *M. roreri* (Espinoza-Lozano et al., 2022) (Figura 1).

Figura 1

Aislamiento del patógeno a partir de mazorca de cacao



Nota: En la imagen (A) se indica fruto de cacao con sintomatología de moniliasis (B) indica fragmentos sembrados en medio PDA y (C) indica el crecimiento exitoso de *M. roreri* en el medio de cultivo a partir del tejido vegetal.

Identificación Morfológica

Las colonias purificadas fueron caracterizadas morfológicamente mediante observación microscópica, evaluando parámetros como coloración, textura, crecimiento radial y presencia de estructuras reproductivas. Para la identificación se observaron las cualidades morfológicas como el crecimiento blanquecino, filamentos, septos miceliales o tabique, conidios circulares o globosos; para este último se utilizó un portaobjeto y cubreobjeto y agua destilada estéril para el montaje en el microscopio óptico (Suarez-Contreras, 2006). Los aislados fueron conservados en tubos eppendorf de 1,5 mL con agua destilada estéril.

Evaluación de sensibilidad a fungicidas

Para determinar la respuesta del patógeno a los fungicidas, se consideró la bibliografía referente a dosis evaluadas en estudios previos (Amaya, 2021). Una vez obtenidas las cepas purificadas se realizaron repiques de las colonias, y se aplicó la técnica de cultivo envenenado, incorporando concentraciones definidas de azoxystrobin 1,0, 0,1 y 0,01 mg·L⁻¹ y sulfato de cobre pentahidratado 20000, 2000 y 200 mg·L⁻¹ en el medio de cultivo, esto se realizó para los dos aislados de *M. roreri* “MR01 (Guayas) y MR02 (Bolivar)”.

El proceso metodológico fue el siguiente: el medio de cultivo empleado fue PDA, en concentración de 39000 mg·L⁻¹, esterilizado a 121°C durante 15min-20min, a una presión de 117,68 kPa. Una vez que la temperatura disminuyó, se incorporó el fungicida mediante el uso de puntas de micropipeta, homogeneizándolo adecuadamente. Posteriormente, el medio de cultivo envenenado fue dispensado en cajas Petri estériles, con un volumen aproximado de 10 a 15 mL por caja. Finalmente, las cajas fueron almacenadas en un lugar fresco para su posterior uso.

Para la siembra del inóculo en las cajas Petri, se utilizó un sacabocado de 0.5 a 1 cm de diámetro y con un marcador se graficó un cuadrante en la parte posterior de la caja antes de inocular con *M. roreri*, esto se realizó para medir el crecimiento radial del patógeno en cuatro puntos de la caja. Una vez sembrado el inóculo, las cajas Petri fueron rotuladas e incubadas a

temperatura ambiente durante siete días. El experimento se llevó a cabo bajo un diseño completamente al azar (DCA) factorial; el factor A fueron los “aislados” y el factor B fueron las “dosis de fungicida”; producto de la interacción entre estos factores se evaluaron ocho tratamientos por cada fungicida con siete repeticiones, la unidad experimental fue una caja Petri.

Trascurrido el periodo de incubación se midió el crecimiento (cm^2) de *M. roreri* en los tratamientos respectivos. A partir de estos datos se estimó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PIC) en ambas cepas, basado en la metodología de Ezziyyani et al., (2004).

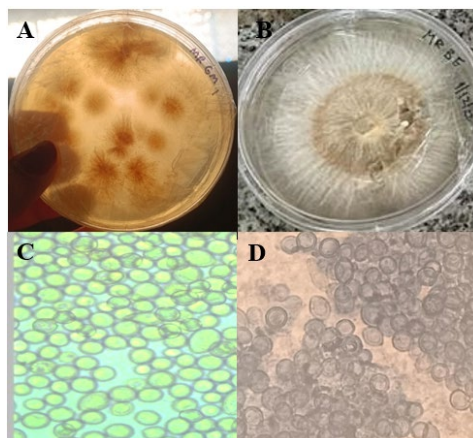
Los datos fueron analizados mediante estadística paramétrica posterior a la verificación del cumplimiento de independencia, normalidad y homocedasticidad. La regresión lineal y no lineal fue ajustada acorde a la tendencia de los datos: función lineal, polinomial, potencial. La validez del ajuste de los modelos fue basada en el coeficiente de determinación >0.7 utilizando el software libre infostat (Di Rienzo et al., 2010) y JASP 0.1.9.0.0 (Love et al., 2019).

Resultados y Discusión

En el estudio de hongos fitopatógenos es importante la identificación morfológica de los aislados obtenidos. En este sentido, las características morfológicas macroscópicas del micelio (*M. roreri*) se evidenciaron como filamentosas, de crecimiento lento, con apariencia algodonosa y blanquecino. El micelio requirió de un periodo de 9 a 15 días para cubrir la superficie de la caja Petri y, con el paso de los días, la apariencia de color café se intensificó, lo que sugirió la aparición de estructuras reproductivas asexuales (Figura 2 a y b). Las propiedades microscópicas del patógeno como micelio septado, las conidiósporas asexuales del basidiomiceto, pueden ser observadas a partir de 6 días de incubación en un microscopio óptico a 40x de aumento, en este caso, se evidenciaron esporas globosas o subglobosas que son partículas del género *M. roreri* (Figura 2 c y d). La búsqueda de soluciones o alternativas de manejo de enfermedades del cacao continúan llamando la atención de investigadores; el estudio de esta enfermedad tiene más de 100 años (Álvarez, Martínez & Coy, 2014) y sigue siendo un grave problema para los cacaoteros, sobre todo, en sitios con alta humedad y temperaturas superiores a 22°C - 25°C (Portilla-Farfan, 2018; Plasencia-Vásquez, 2022). La identificación morfológica de *M. roreri* se basa en características como micelio septado, crecimiento lento y blanquecino, conidios globosos, colonias de color café, las cuales constituyen en propiedades discriminantes de *M. roreri* (Baley 2028; Cuervo-Parra, 2011).

Figura 2

Características morfológicas de M. roreri



Nota: (A) indica característica macroscópica micelial de MR01 y (B) muestra el crecimiento MR02, (C) y (D) señala conidiósporas asexuales del patógeno respectivamente bajo la luz de un microscopio óptico.

Azoxystrobin

Se determinó que entre los factores “aislados”, “dosis” y la interacción “dosis-aislado” existe alta significancia estadística ($p < 0,01$), lo cual sugiere que el tipo de aislado y las dosis utilizadas influyen en los niveles de inhibición micelial de *M. roreri* a nivel *in vitro*, por lo tanto, a la hora de tomar decisiones para evaluar la eficacia de fungicidas a nivel de laboratorio es menester que los investigadores consideren el tipo de sensibilidad del aislado a fungicida. Las medias dentro de los factores en estudio e interacción se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Porcentaje de inhibición de crecimiento de azoxystrobin

# Tratamientos	Aislado	Dosis (mg·L ⁻¹)	¹ Medias
1	MR02	1	100,0 a
2	MR02	0,1	99,81 a
3	MR01	1	99,0 a
4	MR02	0,01	96,3 a
5	MR01	0,1	95,7 a
6	MR01	0,01	87,2 b
7	MR02	Control absoluto	0,0 c
8	MR01	Control absoluto	0,0 c
Coef. variación (%)			3,72
Significancia aislados			<0,0001**
Significancia dosis			<0,0001**
Significancia Aislados-dosis			0,0002**

Nota: Medias con letras diferentes indican significancia estadística.

**, señalan alta significancia según ANDEVA y prueba de Tukey 5%.

Con base en lo detallado, las dosis utilizadas en este trabajo mostraron un efecto distintivo en la inhibición de crecimiento, es decir, evidenciaron una alta sensibilidad de *M. roreri* al fungicida azoxystrobin, ya que a concentraciones inferiores a 2 mg·L⁻¹ de ingrediente activo el crecimiento *in vitro* de *M. roreri* fue inhibido (Figura 3a). Una de las formas de caracterizar al patógeno a nivel local y poblacional es mediante el uso de marcadores fenotípicos, como la evaluación *in vitro* de fungicidas para inhibir el crecimiento micelial o conidios de *M. roreri*. En este sentido, Amaya (2021) evaluó la inhibición micelial de 79 aislados de *M. roreri* a dosis de flutolanil 1, 0,1, 0,01 mg·L⁻¹ evidenciando alta sensibilidad del patógeno bajo condiciones controladas, solo dos aislados mostraron poca sensibilidad. En este caso, el autor concluyó que la población del basidiomiceto en el Ecuador fue homogénea y puede ser controlada a bajas dosis. De igual forma, Espinoza-Lozano et al, (2022) indicaron el mismo efecto de azoxystrobin en dosis 1,0, 0,1, 0,01 mg·L⁻¹. Estos antecedentes coinciden con los resultados de esta investigación, pues se determinó el efecto inhibitorio micelial utilizando las dosis 1,0, 0,1, 0,01 mg·L⁻¹ de azoxystrobin contra dos aislados de *M. roreri*, evidenciando la alta sensibilidad de las dos cepas. Azoxystrobin inhibe la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, esto conlleva al bloqueo de sitio “citocromo b” e impide la respiración celular. En los basidiomicetos, el fungicida interrumpe la producción de energía, evitando el crecimiento de *M. roreri* (Barthett et al., 2002).

En países como México se ha reportado mayor concentración de ingrediente activo de azoxystrobin 450 mg·L⁻¹ para la inhibición de conidios y el 97% de inhibición de crecimiento micelial ha sido logrado utilizando 1250 mg·L⁻¹ a nivel *in vitro*; esta resistencia puede atribuirse al uso de agroquímicos en el manejo de enfermedades (Torres de la Cruz et al., 2013).

Así también, Quevedo (2012) evaluó dosis entre 250 a 1200 mg·L⁻¹ de azoxystrobin contra *M. royeri* a nivel *in vitro*, mostrando efecto inhibitorio del micelio a partir de 500 mg·L⁻¹ de ingrediente activo. Si bien este estudio, presenta limitaciones debido al análisis con dos aislados del patógeno, estos hallazgos guardan relación con otros autores (Amaya, 2021), lo que sugiere que nuevas investigaciones deben continuar con la caracterización del patógeno mediante pruebas de sensibilidad con fines de monitoreo poblacional de *M. royeri*.

Sulfato de cobre pentahidratado

Este trabajo evidenció que no existen diferencias significativas entre cepas *M. royeri* “aislado”, lo mismo entre la interacción “aislado-dosis”. Sin embargo, entre dosis de sulfato de cobre pentahidratado se mostró una alta significancia estadística ($p < 0,01$), es así que 20000 mg·L⁻¹ de sulfato de cobre pentahidratado alcanzaron el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento, seguido de las dosis 2000 y 200 mg·L⁻¹, entre estos dos últimos no hay significancia estadística ($p > 0,05$). En la Tabla 2 se muestran las medias aritméticas del PIC del sulfato de cobre pentahidratado. Si bien es cierto, 20000 mg·L⁻¹ demuestra inhibición total del crecimiento de patógeno a nivel *in vitro*; no obstante, esto se analiza en la Figura 5 mediante modelos predictivos de regresión.

Tabla 2

Porcentaje de inhibición de crecimiento de sulfato de cobre pentahidratado

Dosis (mg·L ⁻¹)	¹ Medias
20000	100,0 a
2000	22,7 b
200	22,6 b
Control absoluto	0,0 c
Coef. variación (%)	26,1
Significancia aislados	0,1842 n.s
Significancia dosis	<0,0001 **
Significancia aislados-dosis	0,1074 n.s

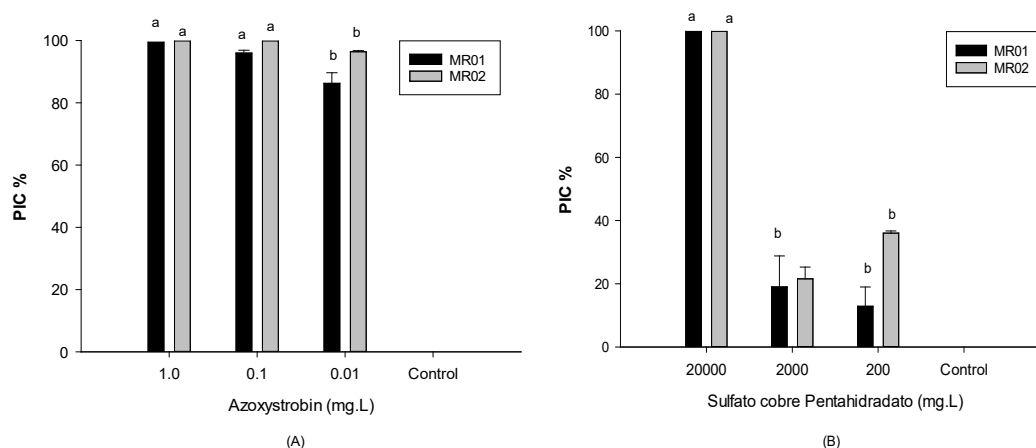
Nota: Medias con letras diferentes indican significancia estadística.

**, señalan alta significancia, según ANDEVA y prueba de Tukey 5%.

n.s: no significativo.

Figura 3

Porcentaje de inhibición de crecimiento según las dosis de azoxystrobin y sulfato de cobre pentahidratado en condiciones in vitro

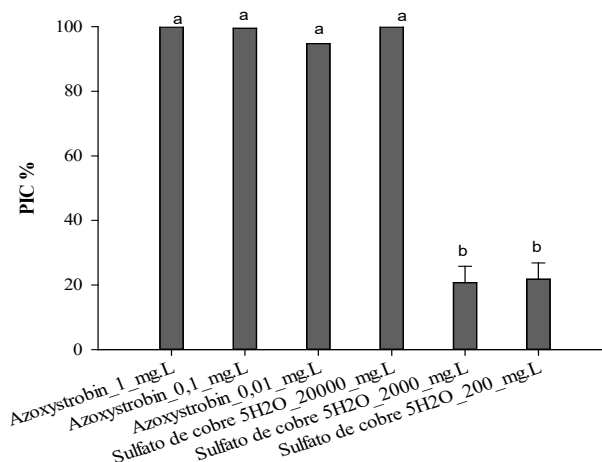


La presente investigación también demostró que las dosis de sulfato de cobre pentahidratado, para el manejo *in vitro* de *M. roreri*, no deben estar por debajo de $20000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de ingrediente activo; este hallazgo es crucial al momento de elegir dosis experimentales escalado a condiciones de campo (Figura 3b). Este es el segundo estudio que evalúa el ingrediente activo contra *M. roreri in vitro*, mostrando inhibición total (PIC 100 %) a $20000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; sin embargo, difiere de Carrasco de la Cruz et al., (2023), quienes reportan eficacia a solo $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Esta discrepancia podría indicar resistencia asociada al uso prolongado de compuestos cúpricos en Ecuador. La acción del cobre se relaciona con alteraciones en ácidos nucleicos, transporte energético y membranas celulares (Pscheidt & Ocamb, 2022).

En la Figura 4 se presenta la separación de medias sin considerar el aislado *M. roreri* como fuente de variación. En efecto, se evidenció la efectividad de los fungicidas para inhibir el crecimiento de *M. roreri*, independientemente de la cepa. En este sentido, destacaron todas las dosis de azoxystrobin y la dosis más alta ($p < 0,01$) de sulfato de cobre pentahidratado PIC mayor a 9. El ingrediente activo azoxystrobin mostró inhibición a bajas dosis, por ello, el patógeno es clasificado como altamente sensible. Mientras que, debido a las altas dosis de sulfato de cobre pentahidratado, el patógeno es considerado insensible.

Figura 4

Porcentaje de inhibición de crecimiento según fungicidas azoxystrobin y sulfato de cobre pentahidratado



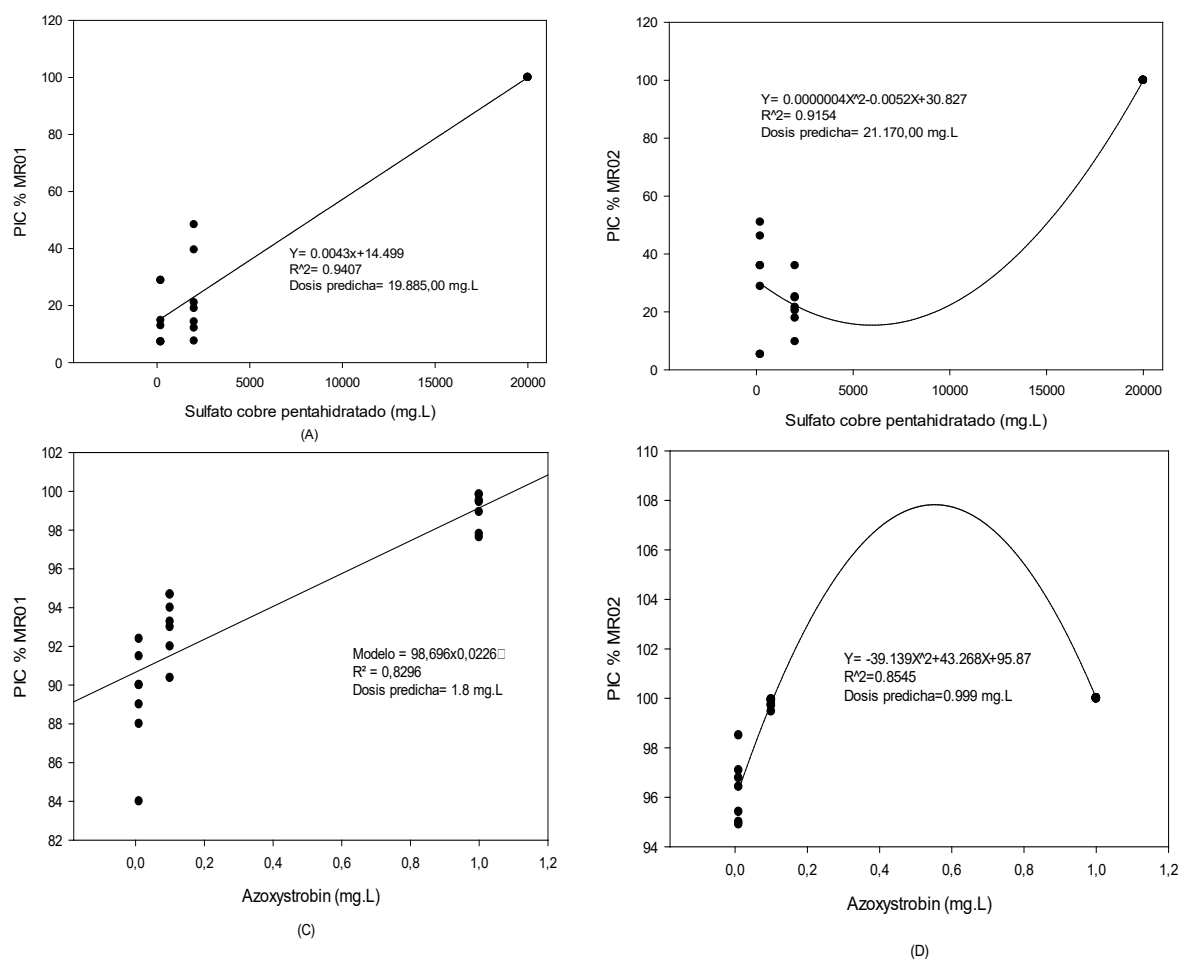
Las estrobilurinas tienen efecto inhibitorio contra grandes grupos de hongos basidiomicetos, omicetos, deuteromicetos y ascomicetos (Barthett et al., 2002). Los basidiomicetos, como *M. roreri*, han sido reportados como moderadamente sensibles e insensibles frente a fungicidas (Edgington, 1971). Esto coincide con el presente estudio, pues la evaluación de modelos de regresión para estimar dosis inhibitorias máxima de fungicidas fue aplicada a los datos PIC de los dos aislados evaluados. Es así como se determinó que para inhibir el 100% de crecimiento de MR01 fue necesario aplicar $19885 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de sulfato de cobre pentahidratado, mientras que para la inhibición máxima de MR02 se requirió al menos $21170 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 5a y Figura 5b). En este contexto, la dosis necesaria de azoxystrobin para inhibir el 100% de crecimiento fue de $1,8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para el aislado MR01 y $0,999 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para MR02, el coeficiente de determinación (r^2) validó el ajuste del modelo, explicando más de 70% de variación existente (Figura 5c y Figura 5d).

En otras palabras, se corroboró que *M. roreri* se mostró altamente sensible, según la clasificación de Edgington (1971), con una inhibición PIC 100% utilizando $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de

azoxystrobin, aproximadamente; mientras que según la sensibilidad *M. royeri* al sulfato de cobre pentahidratado se requirió al menos 20000 mg·L⁻¹ para alcanzar un PIC máximo, por lo que se lo podría considerar como insensible. Estas aseveraciones se sugieren sean confirmadas mediante estudios futuros bajo las mismas condiciones experimentales descritas en el presente trabajo, y debe considerarse un mayor número de aislados. Así también, en futuros ensayos de campo, las dosis deberían oscilar entre 100 a 200 mg·L⁻¹ de azoxystrobin para compensar factores ambientales; y en virtud de que 20,000 mg·L⁻¹ es la concentración letal de sulfato de cobre pentahidratado en laboratorio, en campo se debería usar 10% a 25% de esa dosis (2000–5000 ppm), que es lo habitual en fungicidas cúpricos con el fin de disminuir impacto en el ambiente (Molinari et al. 2024).

Figura 5

Modelo de regresión lineal y no lineal para el cálculo de dosis máxima inhibitoria de fungicidas sulfato de cobre pentahidratado y el antifúngico azoxystrobin



La limitante existente en el modelo de regresión es que $n=10$ es el valor mínimo con el cual se realiza regresión lineal; ciertos estudios señalan un (n) mínimo de 30 (Carrasquilla-Batista et al. 2016). Por tanto, es necesario que estudios posteriores incluyan un mayor número de repeticiones para sustentar mediante predicción la dosis máxima inhibitoria que es idónea para el control de *M. royeri* bajo condiciones controladas.

Conclusiones

El fitopatógeno *M. roreri* es altamente sensible a las dosis de azoxystrobin, pero insensible frente al sulfato de cobre pentahidratado. Para inhibir el 100% del crecimiento micelial es necesario aplicar al menos $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de azoxystrobin, y utilizando sulfato de cobre pentahidratado se requiere $20000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de ingrediente activo aproximadamente. El presente trabajo aporta como línea de base para ampliar las investigaciones a nivel de laboratorio empleando un mayor número de aislados y, a la vez, fijando dosis precisas para ensayos a campo abierto. El conocimiento de dosis efectiva contribuirá con el manejo oportuno que impida la resistencia genética del patógeno.

Reconocimientos y Declaraciones

Los autores declaran la contribución y participación equitativa de roles de autoría para esta publicación.

Parte de esta investigación se realizó en la Universidad Agraria del Ecuador. Se reconoce la participación equitativa de los autores en el desarrollo de la investigación presentada en esta publicación, de la misma manera, se declara que no se ha usado inteligencia artificial en la elaboración del presente artículo.

Referencias

- Amaya-Márquez, D. J., Espinoza-Lozano, R. F., Villavicencio-Vásquez, M. E., Sosa del Castillo, D., & Pérez-Martínez, S. (2021). Inhibición y estimulación del crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* por flutolanil en poblaciones de Ecuador. *Acta Agronómica*, 70(3), 240-248. <https://doi.org/10.15446/acag.v70n3.88905>
- Amaya Márquez, D., León Vásquez, A., Mendoza Thompson, J., Avilés Párraga, D., Álava Murillo, A., Calle Romero, K., & Farah Asang, S. (2024). Efectividad fitosanitaria de la remoción de frutos enfermos con embolsa para la disminución de *Moniliophthora roreri* en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Pro Sciences: Revista De Producción, Ciencias E Investigación*, 8(54), 1-11. <https://doi.org/10.29018/issn.2588-1000vol8iss54.2024pp1-11>
- Álvarez, J. C., Martínez, S. C., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta agronómica*, 63(4), 388-399. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v63n4.42747>
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicidas. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 58(7), 649-662. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12146165/>
- Calva, C. 2016. Control químico in vitro de *Phytophthora* sp. agente causal de la mancha negra en el cultivo de cacao. Trabajo de titulación Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Machala, Machala. Ecuador. 40pp. <https://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7637>
- Carrasquilla-Batista, A., Chacón-Rodríguez, A., Núñez-Montero, K., Gómez-Espinoza, O., Valverde, J., & Guerrero-Barrantes, M. (2016). Regresión lineal simple y múltiple: aplicación en la predicción de variables naturales relacionadas con el crecimiento microalgal. *Revista Tecnología en Marcha*, 29, 33-45. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i8.2983>
- Carrasco-de la Cruz, T. P., Olivo-Vidal, Z. E., Sánchez-Peregrino, J. A., & Mendoza-Lorenzo, P. (2023). Evaluación del efecto antifúngico del sulfato de cobre (II) pentahidratado en *Moniliophthora roreri*. *Journal of Basic Sciences*, 9(25), 8-18. <https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/6133>
- Chudzik, B., Tracz, I. B., Czernel, G., Fiołka, M. J., Borsuk, G., & Gagoś, M. (2013). Amphotericin B-copper (II) complex as a potential agent with higher antifungal activity against *Candida albicans*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(5), 850-857. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.06.007>

- Bailey, B. A., Evans, H. C., Phillips-Mora, W., Ali, S. S., & Meinhardt, L. W. (2018). *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular plant pathology*, 19(7), 1580-1594. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29194910/>
- Cuervo-Parra, J. A., Sánchez-López, V., Ramirez-Suero, M., & Ramírez-Lepe, M. (2011). Morphological and molecular characterization of *Moniliophthora roreri* causal agent of frosty pod rot of cocoa tree in Tabasco, Mexico. <https://scialert.net/abstract/?doi=ppj.2011.122.127>
- Di Rienzo, J., Balzarini, M., Gonzalez, L., Casanoves, F., Tablada, M., & Walter Robledo, C. (2010). Infostat: software para análisis estadístico. <https://www.infostat.com.ar/>
- Edgington, L.V.; Khew, K.L.; Barrow, G.L. 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology* 61:42- 44. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1971Articles/Phyto61n01_42.pdf
- Espinoza-Lozano, F., Amaya-Márquez, D., Pinto, C. M., Villavicencio-Vásquez, M., Sosa del Castillo, D., & Pérez-Martínez, S. (2022). Multiple introductions of *Moniliophthora roreri* from the Amazon to the Pacific region in Ecuador and shared high azoxystrobin sensitivity. *Agronomy*, 12(5), 1119. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051119>
- Evans, H. C., Stalpers, J. A., Samson, R. A., & Benny, G. L. (1978). On the taxonomy of *Monilia roreri*, an important pathogen of *Theobroma cacao* in South America. *Canadian Journal of Botany*, 56(20), 2528-2532. <https://doi.org/10.1139/b78-305>
- Ezziyyani, M., Sánchez, C. P., Ahmed, A. S., Requena, M. E., & Castillo, M. E. C. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). In *Anales de biología* (No. 26, pp. 35-45). Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia. <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/30441>
- Gaetke, L.M.; Chow, C.K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003, 189, 147–163. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)
- Leite, F. G., Sampaio, C. F., Cardoso Pires, J. A., de Oliveira, D. P., & Dorta, D. J. (2024). Toxicological impact of strobilurin fungicides on human and environmental health: a literature review. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 59(4), 142-151. <https://doi.org/10.1080/03601234.2024.2312786>
- Love, J., Selker, R., Marsman, M., Jamil, T., Dropmann, D., Verhagen, J., ... & Wagenmakers, E. J. (2019). JASP: Graphical statistical software for common statistical designs. *Journal of Statistical Software*, 88, 1-17. <https://www.jstatsoft.org/article/view/v088i02>
- Molinari, M., Bentivegna, D. J., Daddario, J. F. F., & Tucut, G. (2024). Residuos de Cu en el ambiente cuando se usa Sulfato de cobre pentahidratado para el control de malezas. <https://agris.fao.org/search/en/providers/124846/records/67050b28b1dfe472e144e2d2>
- Naghavi, F., Khoshroo, S. M. R., Kazemipour, M., & Zarandi, M. M. (2023). Potassium Copper Sulfate Hydrate Nanoparticles Modulated Salinity Stress through Improving Germination, Growth, and Biochemical Attributes of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(6), 152. <https://doi.org/10.1134/S1021443723600617>
- Phillips-Mora, W., Aime, M.C., & Wilkinson, M.J. (2007). Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. *Plant Pathology*, 56(6), 911-922. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01646.x>
- Portilla-Farfan, F. (2018). *Agroclimatología del Ecuador* (647 pp.). Quito, Ecuador: Editorial Universitaria Abya-Yala. ISBN: 978-9978-10-310-4 <https://pure.ups.edu.ec/es/publications/agroclimatology-of-ecuador>
- Plasencia-Vázquez, A. H., Vilchez-Ponce, C. R., Ferrer-Sánchez, Y., & Veloz-Portillo, C. E. (2022). Efecto del cambio climático sobre la distribución potencial del hongo *Moniliophthora roreri* y el cultivo de cacao

- (*Theobroma cacao*) en Ecuador continental. Terra Latinoamericana, 40.
<https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1151>
- Pscheidt, J. W., & Ocamb, C. M. (2022). Copper-based bactericides and fungicides. Pacific Northwest pest management handbooks. Oregon State University, Corvallis
<https://pnwhandbooks.org/plantdisease/pesticide-articles/copper-based-bactericides-fungicides>
- Quevedo Damián, I. (2012). Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) (Master's thesis).
<http://hdl.handle.net/10521/924>
- Ren, Y., Feng, L., Xu, X., Xiao, J., Jiang, Y., & Li, T. (2025). Epigenetic regulation on fungal disease affecting plant-based food: A review from the perspectives of host, pathogen and their interactions. Food Bioscience, 106633. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106633>
- Rodríguez-Velázquez, N. D., Fernández Pavía, S. P., Pineda-Vaca, D., Tlacuilo Cano, J. D., López Guillén, G., Chávez Ramírez, B., & Estrada de los Santos, P. (2024). Genetic diversity of *Moniliophthora roreri* from cacao trees growing in the Soconusco area, Chiapas, Mexico. Plant Disease, (ja).
<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-24-0873-RE>
- Solórzano Sabando, R. A. (2018). Efectos de fungicidas, químico y biológico en el control de tres enfermedades fungosas en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN-51 en la Parroquia Zapotal.
<https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3275>
- Tenegusñay Naula, V. R. (2022). Sensibilidad in vitro de *Moniliophthora roreri* HC Evans, agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.) a fungicidas de diferentes modos de acción.
<https://dspace.srv.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/18365>
- Torres de la Cruz, M., Ortiz García, C. F., Téliz Ortiz, D., Mora Aguilera, A., & Nava Díaz, C. (2013). Efecto del azoxystrobin sobre *Moniliophthora roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao*). Revista mexicana de fitopatología, 31(1), 65-69.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000100007
- Torres-de-la-Cruz, M., Quevedo-Damián, I., Ortiz-García, C. F., del Carmen Lagúnez-Espinoza, L., Nieto-Angel, D., & Pérez-de la Cruz, M. (2019). Control químico de *Moniliophthora roreri* en México. Biotecnia, 21(2), 55-61. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i2.906>
- Theophanides, T., & Anastassopoulou, J. (2002). Copper and carcinogenesis. Critical reviews in oncology/hematology, 42(1), 57-64. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(02\)00007-0](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(02)00007-0)
- Varela, A. E., Arias, A., & Reyes, Y. (2003). Kinetic of copper-sulfate pentahydrate production from scrap copper. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia, 26(2), 101-108.
https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0254-07702003000200004&script=sci_arttext
- Zhang, M., An, Q., Wang, Y., Ye, S., & Zhu, X. (2024). Copper sulfate combined with photodynamic therapy enhances antifungal effect by downregulating AIF1. Journal of Fungi, 10(3), 213.
<https://doi.org/10.3390/jof10030213>
- Zhao, Y., Zhang, H., Liu, Y., Lan, Y., Zhu, J., Cai, Y., ... & Yang, Z. (2024). Evidence of strobilurin fungicides and their metabolites in Dongjiang River ecosystem, southern China: Bioaccumulation and ecological risks. Science of The Total Environment, 908, 168427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168427>