



RESEARCH ARTICLE



Incidence of *Moniliophthora roreri* pathogen of cocoa in Ecuador and chemical management at *in vitro* and *in vivo* levels

Incidencia de *Moniliophthora roreri* patógeno del cacao en el Ecuador y manejo químico a nivel *in vitro* e *in vivo*

Darlyn Amaya-Márquez^{1*} , Arnaldo Barreto-Macias¹ , Simón Farah-Asang¹ , Yoansy García Ortega^{1,2} , Angie Peñaherrera-Morales³ , Danny Avilés Párraga¹ , Kleber Calle Romero¹

¹ Universidad Agraria del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Agronomía, Av. 25 de Julio y Pío Jaramillo, Guayaquil, Ecuador.

² Instituto de Investigación de Universidad Agraria del Ecuador. Ecuador.

³ Autor independiente. Ecuador.

* Corresponding author: damaya@uagraria.edu.ec (D. Amaya-Márquez).

Received: 13 July 2025. Accepted: 11 December 2025. Published: 22 December 2025.

Abstract

The phytopathogen *M. roreri* represents one of the main phytosanitary problems worldwide, it is still a challenge and represents a risk for almond production. The efficient use of fungicides reduces the impact on the environment and contributes to the care for the non-resistance of the pathogen. This work carried out an experimental study to estimate the capacity of chemical fungicides for *in vitro* and *in vivo* management of the disease and also analyzed the effective isolates of the pathogen that have been reported in laboratory conditions in Ecuador. Three experimental trials were carried out, the first with a DCA to estimate effective doses of azoxystrobin, copper sulfate pentahydrate and chlorothalonil under *in vitro* conditions; the second a factorial DCA to evaluate the effect of antifungals on loose fruits inoculated with the pathogen under controlled conditions using conidia spraying; and a DCL to study the effect of combined fungicides for pathogen decline under field conditions, the variables evaluated were: growth area, PIC in Petri boxes, incidence, external severity on cocoa fruits. Copper sulfate and azoxystrobin showed high efficacy *in vitro* against *M. roreri*, with control greater than 90%. In the field, fungicide combinations significantly reduced the incidence and severity of the pathogen in cocoa; loose cocoa pods were not suitable for evaluating virulence or antifungal efficacy. In the incidence analysis, 59.09% of *M. roreri* isolates at the *in vitro* level did not show significant genetic differences in Ecuador.

Keywords: isolation; inhibition; moniliasis; sensitivity; severity.

Resumen

El fitopatógeno *M. roreri* representa uno de los principales problemas fitosanitarios a nivel mundial, aun es un reto y representa un riesgo para la producción del cacao. El uso eficiente de fungicidas disminuye el impacto al ambiente y contribuye al cuidado para la no resistencia del patógeno. Este trabajo realizó un estudio experimental para estimar la capacidad de fungicidas químicos para el manejo *in vitro* e *in vivo* de la enfermedad y también se analizó los aislamientos efectivos del patógeno que han sido reportados en condiciones de laboratorio en el Ecuador. Se llevaron a cabo tres ensayos experimentales, el primero con un DCA para estimar dosis efectivas de azoxystrobin, sulfato de cobre pentahidratado y clorotalonil en condiciones *in vitro*; el segundo un DCA factorial para evaluar el efecto de antifúngicos en frutos sueltos inoculados con el patógeno en condiciones controladas usando aspersión de conídios; y un DCL para estudiar el efecto de fungicidas combinados para la disminución del patógeno en condiciones de campo, las variables evaluadas fueron: área de crecimiento, PIC en cajas Petri, incidencia, severidad externa en frutos de cacao. El sulfato de cobre y el azoxystrobin mostraron alta eficacia *in vitro* contra *M. roreri*, con un control superior al 90%. En campo, combinaciones de fungicidas redujeron significativamente la incidencia y severidad del patógeno en cacao, los frutos sueltos de cacao no resultaron adecuados para evaluar virulencia ni eficacia antifúngica. En el análisis de incidencia 59,09% de aislados *M. roreri* a nivel *in vitro* no señalaron diferencias genéticas importantes en Ecuador.

Palabras clave: aislamiento; inhibición; moniliasis; sensibilidad; severidad.

DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2026.018>

Cite this article:

Amaya-Márquez, D., Barreto-Macias, A., Farah-Asang, S., García Ortega, Y., Peñaherrera-Morales, A., Avilés Párraga, A. & Calle Romero, K. (2026). Incidencia de *Moniliophthora roreri* patógeno del cacao en el Ecuador y manejo químico a nivel *in vitro* e *in vivo*. *Scientia Agropecuaria*, 17(1), 257-267.

1. Introducción

Ecuador es uno de sus principales productores de cacao a nivel global, gracias a su ubicación geográfica permite tener las mejores condiciones para el desarrollo del vegetal, además, constituyéndose uno de los cultivos más importantes del país (Ceccarelli et al., 2024; Mendoza et al., 2024). Entre los problemas fitosanitarios que enfrenta el cultivo se encuentra la moniliasis, causada por el basidiomyceto *Moniliophthora roreri* (cif) HC Evans, Stalpers, Samson & Benny (Evans et al., 1978). Es una de las enfermedades más devastadoras para el cultivo a nivel mundial con pérdidas en rendimiento por encima del 40% (Alvarado et al., 2025; Correa Álvarez et al., 2014). En países centroamericanos las pérdidas en productividad pueden variar entre el 50% a 80% (Vela-Alvarez et al., 2025). La moniliasis se puede manifestar en una de sus dos fases de infección: fase biotrofítica, donde las malformaciones son visibles en el fruto y fase necrótica, donde ocurre la putrefacción y muerte del fruto (Torres-de-la-Cruz et al., 2019). Las esporas del hongo tienen diversas formas de propagación que incluyen vectores como el viento, animales, o agua, lo que le permite recorrer grandes distancias (Guevara-Viejó et al., 2024). Las condiciones climáticas, el manejo del cultivo (Márquez et al., 2024) y la cantidad de esporas liberadas pueden limitar el ciclo de vida de este patógeno (Sánchez-Hernández et al., 2014); no obstante, la realidad es que las esporas se mantienen en el aire en las zonas de producción lo que dificulta su eliminación por completo (Bailey et al., 2018). Para el control de moniliasis los agricultores recurren a fungicidas protectantes y sistémicos, estos se aplican en mezclas para mejorar la eficacia en el manejo de la enfermedad (Torres-de-la-Cruz et al., 2019). Entre los fungicidas protectantes están el Propiconazol, el Clorotalonil y fungicidas a base de cobre (oxicloruro de cobre, sulfato de cobre, hidróxido de cobre, óxido cuproso y bordelesa), debido a su naturaleza protectora, evitan que surjan nuevas infecciones en mazorcas jóvenes (Bateman et al., 2005; Rudgard et al., 1990; Vélez Balderramo et al., 2023). Por otro lado, los fungicidas sistémicos más empleados son Azoxistrobina, Tebuconazol, Propiconazol, Tiabendazol, Trifloxistrobina y Pyrimethanil; entre ellos, los más usados en América Latina son el Tebuconazole y azoxistrobina, los cuales en pruebas *in vitro* e *in vivo*, han dado buenos resultados para combatir los brotes de *Moniliophthora* en México y Ecuador (Torres-de-la-

Cruz et al., 2019). El uso inadecuado de fungicidas químicos como dosis o ingredientes activos inadecuados puede agravar los problemas fitosanitarios y generar resistencia (Ons et al., 2020). Ante esta situación es necesario realizar investigaciones utilizando fungicidas combinados y no combinados, ampliando así las alternativas para el control de la enfermedad (Ons et al., 2020). La resistencia genética ocurre por el uso excesivo y continuo de fungicidas sintéticos, manejo inadecuado de cultivo y alta capacidad en la variabilidad genética del patógeno (Delgado-Bogotá et al., 2025; Phillips-Mora et al., 2007). El objetivo de esta investigación fue registrar los aislamientos efectivos realizados en condiciones de laboratorio en el país, lo cual, corroboró la presencia de la enfermedad en las diferentes zonas productivas de cacao en el Ecuador. Además, se presentaron alternativas químicas de manejo mediante la evaluación de la sensibilidad de *M. roreri* a fungicidas no combinados en condiciones *in vitro*; así como en combinación a través de un ensayo de campo.

2. Metodología

Identificación de *M. roreri*

La cepa Mon001 conservada en el laboratorio de biotecnología de la Universidad Agraria del Ecuador fue reactivada en medio de cultivo potato dextrosa agar (PDA), y a partir de una colonia pura se observaron las propiedades fenotípicas del patógeno (micelio blanquesino, color marrón de conidias asexuales), visualizadas estas en un microscopio óptico a 40x de aumento. Para caracterización genética, el ADN fue extraído mediante el kit Dneasy Plant Pro, seguidamente se cuantificó la calidad de ADN 20 ng. μ L⁻¹ mediante espectrofotometría, la amplificación de ADN se realizó a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando ITS1 (5'- TCCGTAGGTGAAACCTGCGG -3') y ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3'), los amplicones obtenidos fueron observados mediante gel de agarosa al 1% (Gómez-Vázquez et al., 2024). El método SANGER permitió la purificación previa del producto PCR (Al-Shuhail & Hashim, 2023), las secuencias de ADN del patógeno obtenidas fueron ensambladas en el software Mega (v 12.0) y comparadas con nucleótidos reportados en banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) para la identificación correspondiente (Alves da Silva et al., 2022). Para explicar el proceso metodológico llevado a cabo en la presente investigación se presenta el siguiente esquema (Figura 1).

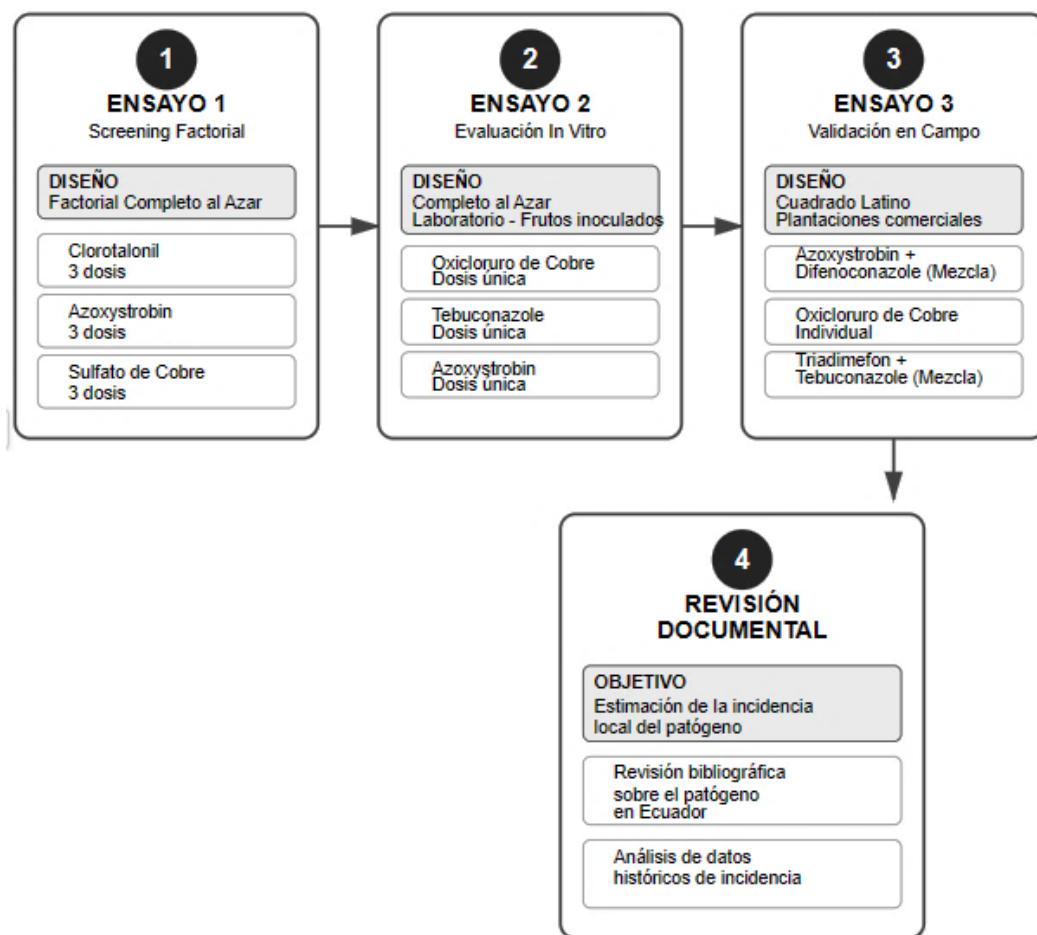


Figura 1. Esquema metodológico de la investigación.

Sensibilidad *in vitro* de *M. roreri* a fungicida Chlorotalonil, azoxystrobin y sulfato de cobre

Para estimar la capacidad antifúngica de los fungicidas preventivos se utilizó la técnica de cultivo envenenado (Amaya-Márquez et al., 2022). El medio de crecimiento fue PDA suplementado con fungicidas. Primero se pesó el PDA en referencia de 39 mg. L⁻¹ diluido en agua destilada y se esterilizó a 121 °C/ 20 min 117,7 kpa de presión en una autoclave. Cuando la temperatura del medio descendió a 50°C se incorporó el fungicida correspondiente utilizando la conversión de dilución para el volumen de PDA determinado, todo esto se realizó bajo condiciones asepticas en una cámara de flujo laminar. El medio de cultivo envenenado fue vertido en placas estériles de 90mm y se dejaron solidificar. A partir de colonias del patógeno *M. roreri* en edad de 12-15 días purificadas, se utilizó un sacabocado de 0,5 cm de diámetro para tomar micelio como fuente de inóculo y fueron sembrados individualmente en el centro de la caja Petri, se incubaron a 27 °C durante 6 días. Las cajas Petri contenían medio PDA envenenado con fungicidas comerciales

azoxystrobin a 0,0, 0,01, 0,1 y 1 mg L⁻¹ sulfato de cobre 0,0, 200, 2000 y 20000 mg L⁻¹; Chlorotalonil 30, 300, 3000 mg L⁻¹ excepto el testigo absoluto (Espinoza-Lozano et al., 2022). El experimento se llevó a cabo mediante un Diseño completamente al azar DCA con 14 repeticiones y nueve tratamientos, cada caja Petri se consideró como unidad experimental (Özdemir et al., 2025).

Efecto curativo de oxicloruro de cobre, tebuconozol y azoxystrobin en frutos sueltos de cacao nivel *in vivo*

Para evaluar el efecto preventivo de fungicidas sobre frutos sueltos de cacao se llevó a cabo bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial bajo condiciones controladas de laboratorio; donde el factor (A) fue conformado por los fungicidas mencionados y Factor (B) por frutos de cacao variedad CCN-51 y cacao nacional fino de aroma, cada fruto conformó la unidad experimental con cinco repeticiones.

La cepa Mon001 de *M. roreri* se reactivó nuevamente en medio de cultivo PDA. A partir de dichas colonias se preparó soluciones de esporas en

concentraciones de 10^{-6} esporas m L^{-1} . Para evaluar la efectividad preventiva de los fungicidas (Jiang et al., 2025); se utilizaron frutos de cacao CCN-51 y cacao Fino de aroma (Bamisile et al., 2018). Se probaron tres tratamientos de dosis única oxicloruro de cobre 1500 mg L^{-1} , azoxystrobin 2000 mg L^{-1} y tebuconozol 3750 mg L^{-1} , posterior a la aplicación de los fungicidas se inocularon los frutos con soluciones de esporas del patógeno *M. roreri* utilizando un micro aspersor pequeño de mano y se dejaron incubar en fundas transparentes de polietileno (Phillips-Mora et al., 2005); dentro de estas se colocaron toallas húmedas de papel para simular cámara húmeda durante siete días (Figura 2).

Fungicidas combinados en condiciones de campo

Se delimitó el área de cada parcela con un distanciamiento entre planta de $2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$, para un total de 16 plantas por parcela, 25 parcelas y un área total del ensayo de 1600 m^2 . Se utilizó un diseño cuadrado latino (DCL) conformado de cinco tratamientos y cinco repeticiones. El número total de unidades experimentales fue 25, por cada unidad experimental se tomaron cuatro plantas como unidad de muestreo. En cada planta seleccionada se marcaron 10 mazorcas, a las que se les realizó el respectivo seguimiento. Se aplicaron los tratamientos combinados con Azoxystrobin+Difenoconazole Triadimefon+Tebuconazole, y por último el testigo absoluto sin antifúngico. Las aplicaciones de los fungicidas se realizaron con las dosis establecidas y con la ayuda de una bomba de mochila. La elección de las combinaciones de los fungicidas de acción sistemática (Difenoconazole, Tebuconazole) y preventiva Azoxystrobin, Triadimefon) corresponde al uso común de comercialización de estas fórmulas en el mercado agropecuario ecuatoriano, ya sea por su mecanismo de acción complementaria o ampliación del efecto control preventivo (da Costa et al., 2019; Laflamme et al., 2025a).

Variable respuesta y análisis estadístico

Trascorridos los seis días de incubación a nivel *in vitro* se procedió a medir el crecimiento del micelio en cada una de las placas utilizando una regla milimétrica; los datos fueron cargados a Excel y se incorporaron las fórmulas para estimar el área de crecimiento del patógeno (cm^2) y el porcentaje de inhibición de crecimiento (Ezziyyani et al., 2004). Para el experimento en frutos sueltos se midió la severidad externa según la escala de (Bryceson et al., 2023; Phillips-Mora et al., 2005) posterior a siete días de incubación, los datos fueron analizados mediante estadística no paramétrica de Kruskal Wallis debido a que los datos no cumplieron los supuestos respectivos (escala ordinal). Las variables medidas en el experimento de campo fueron: número de frutos por planta, peso de 100 semillas, incidencia, severidad externa. El análisis de datos se efectuó posterior a la verificación del cumplimiento de los supuestos que implica el análisis paramétrico, en función de ello, se aplicó el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de Tukey al 5% de error para la separación de medias, para las variables no paramétricas se aplicó la comparación de medias de Dunn y ANDEVA de Kruskal Wallis. El análisis se realizó en función del diseño experimental, mediante el software libre infostat y Jasp 0.19.0.0 (Di Rienzo et al., 2020; Love et al., 2019).

Incidencia del patógeno en Ecuador según revisión documental

Adicionalmente, se realizó una búsqueda en artículos de alto impacto donde se han reportado el aislamiento *in vitro* de *M. roreri* en el Ecuador, con el fin de estimar la incidencia del patógeno en el Ecuador, y examinar la distribución espacial, número de aislados en provincias, morfologías y atributos de dichos aislamientos que definan una estructura poblacional del patógeno.

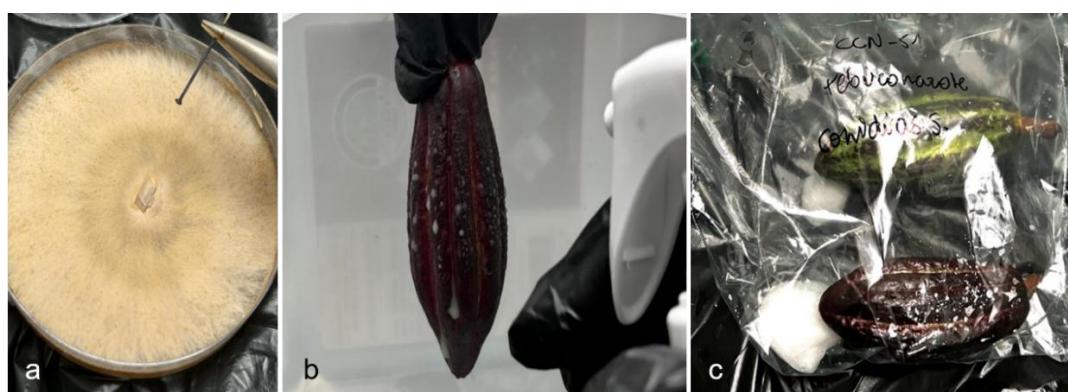


Figura 2. (a) Fuente de inóculo *M. roreri* en caja Petri esporulado con edad superior a 12 días de incubación (b) Aspersión antifúngica de frutos inoculados con *M. roreri* (c) Incubación del inóculo en frutos de cacao utilizando toalla humedecido para la formación de cámara húmeda.

3. Resultados y discusión

Morfología de *M. roreri*

El basiodimiceto posee características fenotípicas que facilitan la identificación, las propiedades macroscópicas que muestra es un lento crecimiento, filamentoso con micelio blanquecino (Bailey et al., 2018), al trascurrir más de seis días de incubación la apariencia marrón o café claro a oscuro es determinante del género en estudio. A nivel de microscopio se observaron micelios tabicados o septados, conidios (Maridueña-Zavala et al., 2016) de tipo asexual generalmente globosas o subglobosas (Figura 3).

El análisis molecular de región ribosomal ITS indicó que el aislado Mr001 mostró 718 pb de longitud del fragmento, estuvo dentro de lo esperado 600-750 pb con la utilización de los cebadores ITS1-ITS4 (Suárez Contreras, 2016). La comparación de la secuencia obtenida indicó que el aislamiento tiene 100% de identidad con la especie *Moniliophthora roreri* y es semejante a la accesión reportada en genbank del NCBI (OP806971.1) (Quiroga Pérez, 2022).

Ensayo *in vitro*

La dosis más alta de sulfato de cobre y el azoxystrobin en todas las concentraciones aplicadas muestra alta inhibición sobre el crecimiento *in vitro* de *M. roreri* 0,0 a 0,16 cm²; clorotalonil mostró entre 0,52 a 1,51 cm²; el testigo absoluto para cada fungicida entre 1,97 a 2,07 cm² de crecimiento, alta significancia ($p < 0,01$) estadística entre las dosis evaluadas (Tabla 1).

A partir de datos de crecimiento del patógeno se estimó el Porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC), donde la dosis 0,01 mg L⁻¹ mostró PIC de 91,9% y al aumentar 100 veces (1 mg L⁻¹) incrementó el PIC a 99,6%; por tanto, para el control de *M.*

roreri se requiere que las dosis de azoxystrobin sean superiores a 0,01 mg L⁻¹. Finalmente, el Clorotalonil inhibió 29,2% a dosis de 30 mg L⁻¹ y al aumentar 100 veces (3000 mg L⁻¹) se inhibió 81,7%. Esto señala que la dosis óptima para el manejo de la enfermedad con clorotalonil debe estar por encima de 3000 mg L⁻¹ (Figura 4).

Tabla 1

Área de crecimiento de *M. roreri* a nivel *in vitro*

Fungicidas	¹ Media
Sulfato cobre 20000 mg. L ⁻¹	0,0±0,0 a
Azoxystrobin 1 mg. L ⁻¹	0,01±0,01 a
Azoxystrobin 0.1 mg. L ⁻¹	0,02±0,03 a
Azoxystrobin 0.01 mg. L ⁻¹	0,16±0,08 a
Clorotalonil 3000 mg. L ⁻¹	0,52±0,37 b
Clorotalonil 300 mg. L ⁻¹	1,3±0,16 c
Sulfato cobre 200 mg. L ⁻¹	1,49±0,21 c
Clorotalonil 30 mg. L ⁻¹	1,51±0,55 c
Sulfato cobre 2000 mg. L ⁻¹	1,52±0,47 c
Clorotalonil (testigo)	1,96±0,4 d
Sulfato cobre (testigo)	1,97±0,47 d
Azoxystrobin (testigo)	2,07±0,82 d
p-valor	<0,0001
Coef. variación %	10,0

¹Medias diferentes indican diferencia estadística según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Ensayo *in vivo*

El efecto preventivo de tebuconazole, azoxystrobin y oxicloruro de cobre en frutos sueltos de cacao muestra efectividad en la prevención de hongos oportunistas o endófitos, más no sobre *M. roreri*. Los resultados señalaron valores de severidad significativos ($p < 0,01$) que oscilaron entre 0,8 a 1,6 (grado de daño menor a 40%), de la escala de severidad externa, lo cual expresa bajo daño del patógeno en los tratamientos a base de tebuconazole 3750 mg L⁻¹ azoxystrobin 2000 mg L⁻¹ y Oxicloruro de cobre 1500 mg L⁻¹. La interacción fungicidas y variedades de cacao no influyeron significativamente ($p > 0,05$) en la severidad eterna (Figura 5).

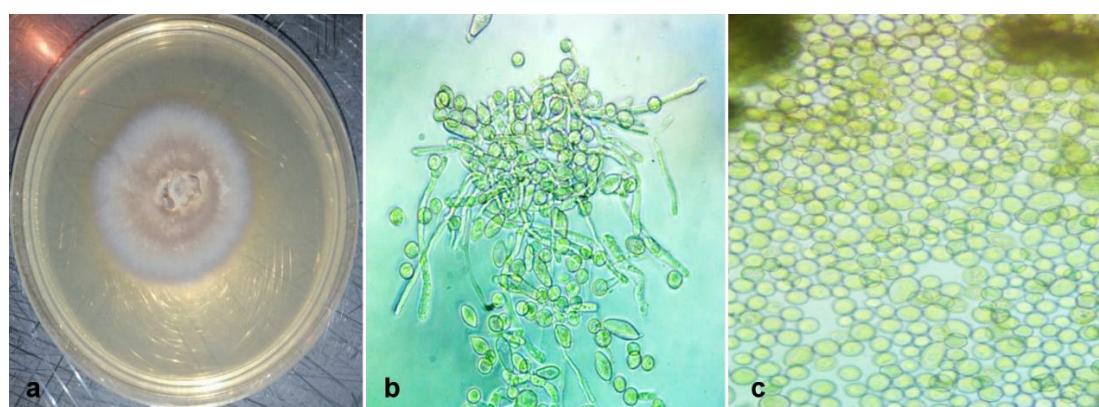


Figura 3. (a) Crecimiento de *M. roreri* en caja Petri con medio de cultivo PDA. (b) Micelio y esporas del hongo (c) conidios.

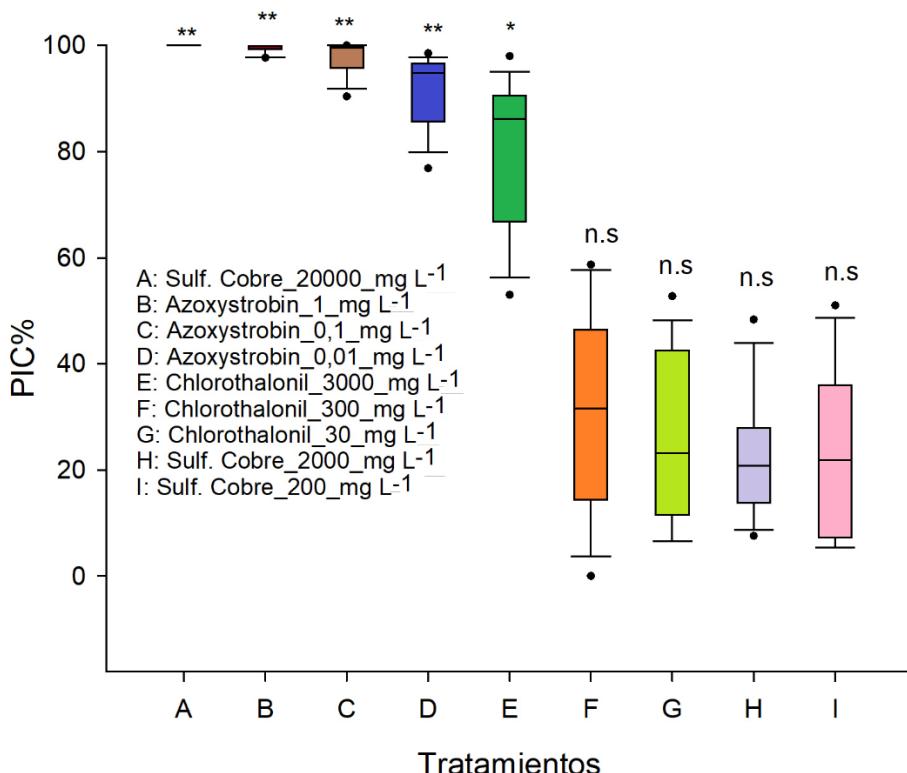


Figura 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento de fungicidas según las dosis para la inhibición de *M. roreri* a nivel *in vitro*. Siglas con letras A, B, C, D, E, F, G, H, I: indican los tratamientos evaluados. En las barras, ** alta significancia p < 0,01 * significativo p < 0,05; ns: no significativo según ANDEVA no paramétrica y comparación de medias de Dunn.

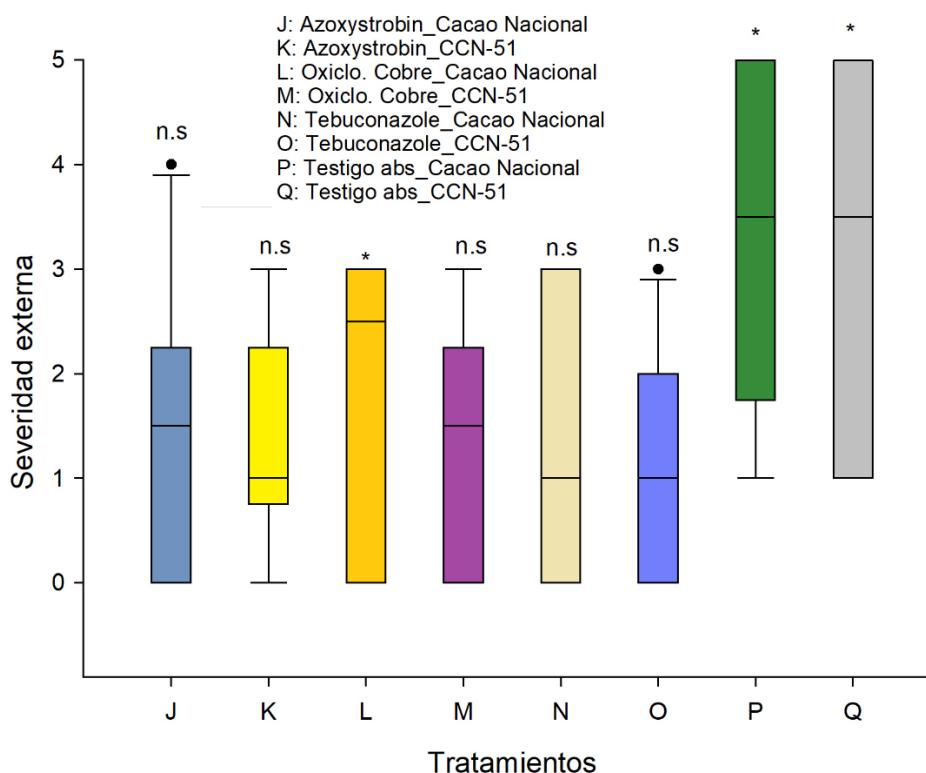


Figura 5. Severidad externa de *M. roreri* en frutos sueltos de cacao durante 7 días de evaluación. Las letras J, K, L, M, N, O, P, Q señalan los tratamientos evaluados. En las barras, * significativo p < 0,05; ns: no significativo p > 0,05 según el ANDEVA no paramétrico y comparación de medias de Dunn.

Es necesario indicar que en frutos sueltos de cacao no fue posible definir el daño de *M. roreri* en estos debido a la capacidad y rapidez de crecimientos de hongos como *Lasiodiplodia* sp que cubrieron el fruto durante cinco días de evaluación (Figura 6).

En base a los hallazgos de este trabajo, la caracterización del patógeno mediante ensayo de sensibilidad de *M. roreri* a fungicidas a nivel *in vitro*, fue adecuado para estimar el efecto de las dosis antifúngicas. Sin embargo, la inoculación del patógeno en frutos sueltos de cacao juntamente con fungicida no permitió inferir acerca de los alcances de este para el manejo de *M. roreri*, ya que en el tratamiento control, no se pudo demostrar la colonización del patógeno. Esto se debe al crecimiento de hongos como *Lasiodiplodia* spp. que cubrieron a los frutos durante cinco días de incubación en cámara húmeda.

Ensayo en campo

El experimento realizado *in situ*, evidenció que el manejo preventivo de enfermedades con el uso de azoxystrobin+difenconazole, oxicloruro de cobre, Triadimefón+tebuconazole y Clorotalonil disminuyen la incidencia (menor a 10%) y severidad (menor a 4%) de *M. roreri* en frutos de cacao, y fue diferente estadísticamente ($p < 0,05$) respecto al testigo absoluto (incidencia de 84% y 3,5% de severidad externa). En base al efecto causado en el testigo absoluto se sugiere el uso de fungicidas combinados en campo (Tabla 2).

Incidencia de *M. roreri* en Ecuador

Hasta el año 2020 se reportó que *M. roreri* tuvo incidencia en nueve provincias del Ecuador.

Producto del aislamiento *in vitro* del patógeno a partir de frutos de cacao con síntomas de la enfermedad se han obtenido 241 aislados, en el mapa se muestra la distribución de 76 aislados que registraron coordenada geográfica (Figura 7).

A continuación, se muestra el análisis documental de aislamientos *in vitro* de *M. roreri* reportados. Se evidencia que en Ecuador estos corresponden a trece provincias, es decir la incidencia es del 59,09% considerando 22 provincias dedicadas a la producción de cacao y un total 242 aislados. Nueve de las provincias más destacadas en la producción están dentro de las trece provincias mencionadas en la tabla 2. Algunos de los aislamientos han sido sometidos a marcadores genéticos y fenotípicos, en lo cual, no se evidencia estructura poblacional del patógeno, los aislados muestran alta sensibilidad a fungicida, baja variabilidad genética, variación en color, aislados que son estimulados a crecer si se usan bajas dosis antifúngicas y entre regiones del Ecuador, no hay variación importante en la población del patógeno (Tabla 3).

Tabla 2

Incidencia y severidad de enfermedades fúngicas en frutos de cacao durante tres meses de evaluación en campo

Fungicidas	Incidencia%	Severidad%
Azoxystrobin+difenconazole	2,57 a	0,27 a
Oxicloruro de cobre	3,17 a	0,47 a
Triadimefón+tebuconazole	4,67 a	0,60 a
Clorotalonil	8,61 a	0,93 b
Testigo absoluto	84,06 b	3,53 c
Coef. Variación %	18,54	34,83
p-valor	<0,0001	0,0004

Letras iguales en las medias indican alta significancia estadística ($p < 0,01$) según prueba de medias Dunn.

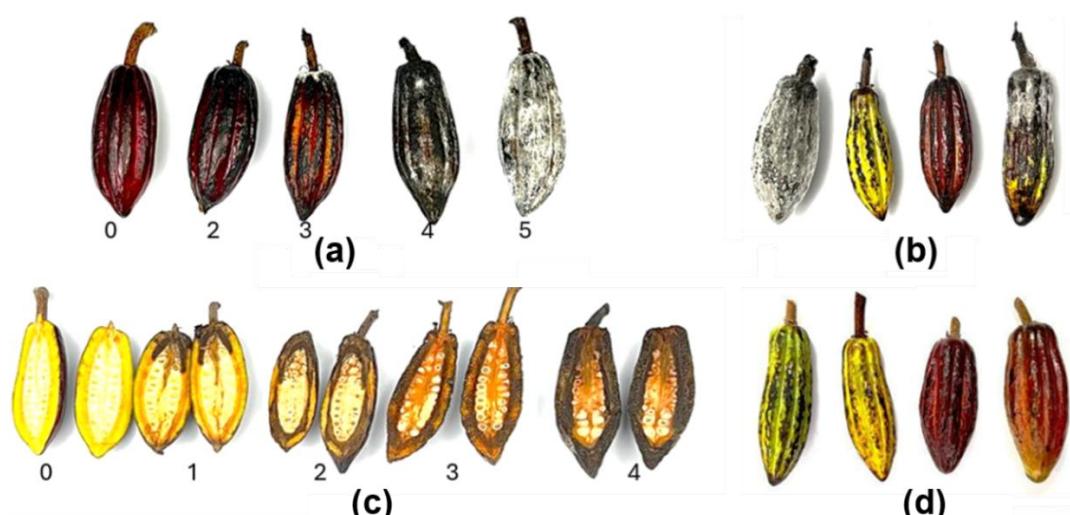


Figura 6. (a) Indica la severidad externa durante cinco días de evaluación grado 0, 2, 3, 5, y 5 de izquierda a derecha (b) En el centro se muestra dos frutos sin síntomas de cacao Nacional y CCN-51 respectivamente, en los extremos frutos sin antifúngico muestran signo de hongos oportunistas o endófitos. (c) Severidad interna de hongos en fruto con grado de daño de 0 a grado 4. (d) Frutos protegidos con antifúngico grado de daño 1 y 2.

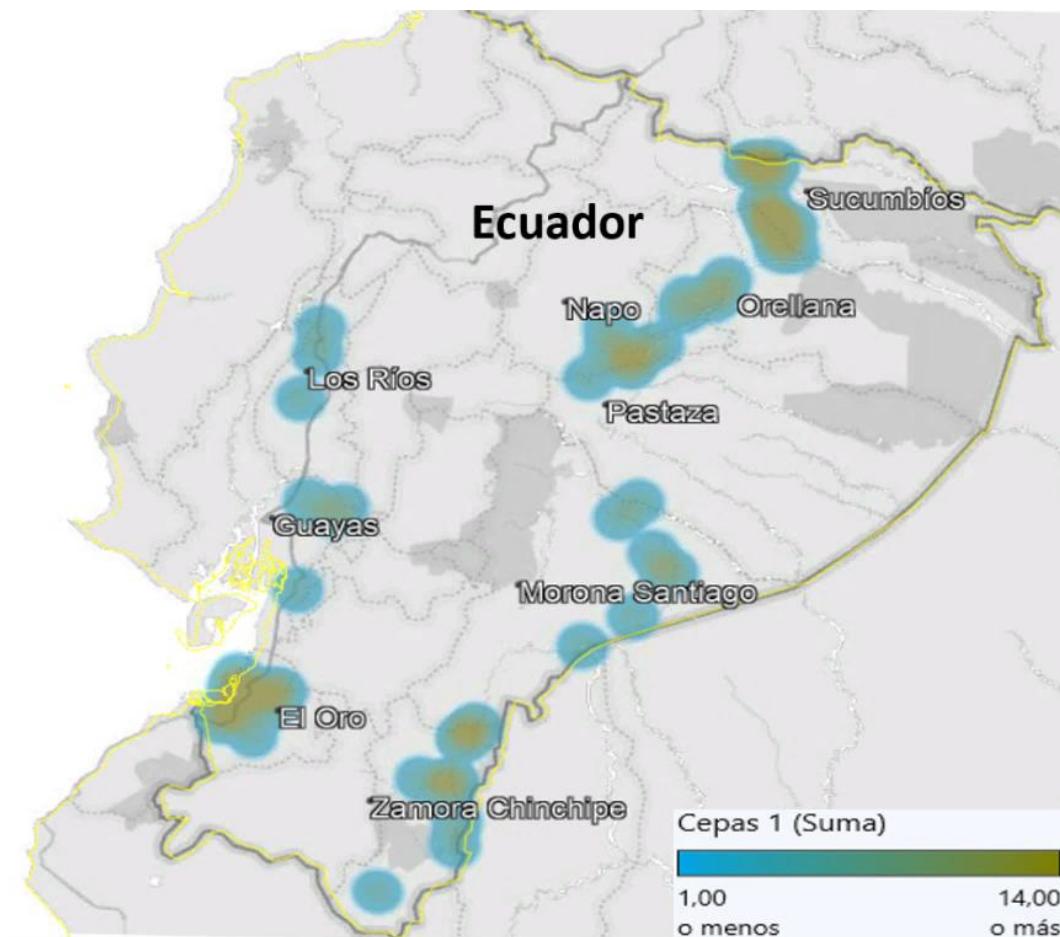
Figura 7. Distribución de *M. roreri* en Ecuador (Amaya Márquez & Pérez Martínez, 2020).

Tabla 3
Aislamiento *in vitro* de *M. roreri* en Ecuador y frontera

Año	Provincias estudiadas	# total de aislados	Tipo de Caracterización	Resultado	Fuente
2025	Bolívar	1	Genética y sensibilidad fúngica <i>in vitro</i> y campo	Alta sensibilidad azoxystrobin, efectividad de fungicidas combinados en campo	Este estudio
2020	Costa y Amazonía: Sucumbíos El Oro (14), Guayas (3) Los ríos (5) Morona Santiago (7) Napo (5) Orellana (9) Pastaza (4) Zamora Chinchipe (16)	76	Genética SSR y sensibilidad fúngica	Alta sensibilidad a flutolanil y azoxystrobin, estimulación a bajas dosis de fungicida	(Amaya-Márquez et al., 2022)
2019	Los Ríos (15), Manabí (15), Santo Domingo (15), cinco fincas de cada provincia	75	Molecular	Poca variabilidad de nucleótido, no se define estructura poblacional, la máxima variabilidad fue dentro de una finca local.	(Aguirre Cobos, 2019)
2016	Provincias de la Costa: Los ríos, El oro, Guayas, Manabí, Esmeraldas	90	Morfológica y fisiológica	Poca variación de los rasgos morfológicos, sólo en color de colonias.	(Maridueña-Zavala et al., 2016)
2015	Valle Alto del Magdalena de Colombia	172	88 marcadores de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)	20 genotipos aislados geográficamente, centro de origen Colombia y reproducción clonal	(Ali et al., 2015)
2013	Norte de Santander, Colombia	17	Biocontrol	<i>Paecilomyces</i> sp y <i>Bacillus brevis</i> , antagonistas	(Suárez Contreras & Rangel Riaño, 2013)

La incidencia de *M. roreri* en el Ecuador se ha reportado desde tiempos antiguos, causando devastaciones en las plantaciones de cacao, y es evidente la presencia de la enfermedad en las regiones del país (Rorer & Pachano, 1918); sin embargo, el reporte de aislamiento *in vitro* del patógeno a partir de frutos afectados, permite fundamentar la presencia local de la enfermedad. En este sentido, este estudio señala los aislamientos exitosos reportados del patógeno mediante técnicas de laboratorio a partir de muestras de fincas pertenecientes al Ecuador (Espinoza-Lozano et al., 2022). En este contexto, se ha reportado un total de 50 aislados de 5 provincias de la costa, con caracterización morfológica-fisiológica de color y crecimiento entre las cepas (Maridueña-Zavala et al., 2016). En 2019 se reportó variabilidad de 78% únicamente entre aislados de una misma localidad correspondiente a fincas según la caracterización genética utilizando marcadores moleculares ITS (Aguirre Cobos, 2019). Mientras que, en 2020 se aislaron 76 aislados de la costa y amazonía, estas fueron caracterizadas mediante sensibilidad a fungicidas y marcadores SSR. Los hallazgos indicaron que *M. roreri* es altamente sensible a flutolani y azoxystrobin con dosis IC_{50} menor a 1 mg L^{-1} , atribuyendo que la población es homogénea a nivel de fenotipo, curiosamente 17 ($0,01\text{ mg L}^{-1}$) y 36 ($0,001\text{ mg L}^{-1}$) aislados fueron estimulados según el crecimiento micelial a bajas dosis de flutolani y uno por azoxystrobin (Amaya-Márquez et al., 2022; Espinoza-Lozano et al., 2022). El presente estudio coincide en que *M. roreri* es muy sensible al azoxystrobin (Edgington, 1971), esto se debe a que el fungicida inhibe la respiración celular del patógeno causando la muerte celular (Laflamme et al., 2025b). Si bien es cierto que clorotolani es un fungicida prohibido para uso agrícola debido al nivel de toxicidad e impacto en el ambiente (Acquaroni et al., 2021), este estudio mostró que no es muy efectivo. Se requiere al menos 3000 mg L^{-1} para inhibir aproximadamente el 81% del crecimiento micelial *in vitro*. Este resultado conlleva a que se debe disminuir y hasta evitar la aplicación de este fungicida en los programas fitosanitarios. El uso de sulfato de cobre pentahidratado muestra capacidad PIC 100% a 20000 mg L^{-1} , mientras que a 2000 no alcanza el 40% de inhibición bajo condiciones *in vitro*. En base a este trabajo y el análisis de la situación fitosanitaria del cacao, la moniliosis puede ser controlada usando químicos como el azoxystrobin; sin embargo, es necesario profundizar las causas principales que favorecen la resistencia genética de la enfermedad, para poder tomar medidas preventivas. Según un reporte en

Méjico se requirió hasta y más de 500 mg L^{-1} para inhibir conidios de *M. roreri* a nivel *in vitro* (Torres de la Cruz et al., 2013; Torres-de-la-Cruz et al., 2019).

Al utilizar fungicidas combinados se puede apreciar cómo las formulaciones de azoxystrobin con difenoconazole muestran un mejor mecanismo de acción contra *M. roreri* en condiciones de campo. Se logró disminuir la incidencia en 5,0% durante los primeros 30 días de evaluación y hasta los 60 días se mostraron mazorcas sanas. Azoxystrobin con Difenoconazole, muestran menos de 10% de incidencia y severidad menor al 3%. La combinación de los fungicidas Triadimefon y tebuconazole evidenció efectos antagónicos del patógeno hasta los 60 días, esto obedece a la actividad más prolongada de estos fungicidas combinados.

4. Conclusiones

El sulfato de cobre y el azoxystrobin son inhibidores del crecimiento micelial de *M. roreri* con PIC 90-100% seguido de la dosis más alta de clorotolonal PIC 80% a nivel *in vitro*. Los fungicidas utilizados combinados Azoxystrobin+difenoconazole, Oxicloruro de cobre, Triadimefón+tebuconazole y Clorotolonal disminuyen las afectaciones que ocasiona *M. roreri* patógeno del cacao según la incidencia y severidad del experimento realizado en condiciones de campo. De acuerdo con el análisis de aislados en el Ecuador, no se muestra estructura que permita discriminar entre cepas de *M. roreri* a nivel poblacional. Los frutos sueltos de cacao en laboratorio no son adecuados para estudiar virulencia y capacidad antifúngica contra moniliosis. En estudios futuros se debe realizar réplicas del presente trabajo e incluir otros patógenos del cacao en el experimento, con el fin de estimar el alcance de las moléculas antifúngicas. Se sugiere evaluar la combinación de fungicidas sintéticos y microorganismos biocontroladores en diferentes frecuencias de aplicación para el manejo de patógenos del cacao.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Contribución de los autores

D.A.M y Y.G.O: Conceptualización y análisis formal; A.B.M. y K.C.R: Investigación y recursos; Y.G.O, D.A.M y S.F.A: Redacción del borrador original; Y.G.O, D.A.M y S.F.A: Curación de datos; A.P.M, D.A.P, y S.F.A: Revisión y edición de la redacción, visualización y supervisión. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Fuente de financiamiento

Este trabajo ha sido financiado a través de investigaciones realizadas por la Universidad Agraria del Ecuador.

Aspectos éticos / legales

Los autores declaran no haber violado u omitido normas éticas o legales al realizar la investigación.

ORCID

- D. Amaya-Márquez  <https://orcid.org/0000-0003-4961-0283>
 A. Barreto-Macías  <https://orcid.org/0000-0002-0089-1419>
 S. Ezequiel Farah Asang  <https://orcid.org/0000-0003-3245-2936>
 Y. García Ortega  <https://orcid.org/0000-0002-2839-3956>
 A. L. Peñaherrera-Morales  <https://orcid.org/0009-0004-8631-914X>
 D. Avilés Párraga  <https://orcid.org/0000-0001-7829-3075>
 K. Calle Romero  <https://orcid.org/0000-0003-0489-2408>

Referencias bibliográficas

- Acquaroni, M., Svartz, G., & Pérez Coll, C. (2021). Developmental Toxicity Assessment of a Chlorothalonil-Based Fungicide in a Native Amphibian Species. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(4), 680-690. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00734-x>
- Aguirre Cobos, G. X. (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* [master Thesis, Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/7780>
- Ali, S. S., Shao, J., Strem, M. D., Phillips-Mora, W., Zhang, D., Meinhardt, L. W., & Bailey, B. A. (2015). Combination of RNAseq and SNP nanofluidic array reveals the center of genetic diversity of cacao pathogen *Moniliophthora roreri* in the upper Magdalena Valley of Colombia and its clonality. *Frontiers in Microbiology*, 6, 850. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00850>
- Al-Shuaib, M. B. S., & Hashim, H. O. (2023). Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 27(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00587-6>
- Alvarado, J., Restrepo-Arias, J. F., Velásquez, D., Maiza, M., Alvarado, J., Restrepo-Arias, J. F., Velásquez, D., & Maiza, M. (2025). Disease Detection on Cocoa Crops Based on Computer-Vision Techniques: A Systematic Literature Review. *Agriculture*, 15(10). <https://doi.org/10.3390/agriculture15101032>
- Alves da Silva, N. J., Menezes Reis, S. P., Diorato, V. S., Rocha, J. S. A., Barbosa, C. S., Ciampi-Guillardi, M., Patrocínio, N. G. R. B., Niella, G. R., Solis, K., Peñaherrera, S., Manco, M. J. da S., Teixeira, G. A., Arévalo-Gardini, E., & Gramacho, K. P. (2022). A molecular diagnostic for *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao, that differentiates it from its sister taxon *Moniliophthora roreri*. *Crop Protection*, 158, 106003. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106003>
- Amaya Márquez, D. J., & Pérez Martínez, S. (2020). Análisis de la estructura poblacional de *Moniliophthora roreri* mediante marcadores genéticos SSR y fenotípicos de sensibilidad a fungicidas y agresividad en *Theobroma cacao* L [Thesis, ESPOL]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/55249>
- Amaya-Márquez, D. J., Espinoza-Lozano, F., Villavicencio-Vásquez, M. E., Castillo, D. S. del, & Pérez-Martínez, S. (2022). Inhibición y estimulación del crecimiento micelial de *Moniliophthora roreri* por flutolanol en poblaciones de Ecuador. *Acta Agronómica*, 70(3), Article 3. <https://doi.org/10.15446/acag.v70n3.88905>
- 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://doi.org/10.1111/mpp.12648>
- Bamisile, B. S., Dash, C. K., Akutse, K. S., Keppanan, R., Afolabi, O. G., Hussain, M., Qasim, M., & Wang, L. (2018). Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: An insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants. *Microbiological Research*, 217, 34-50. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.016>
- Bateman, R. p., Hidalgo, E., García, J., Arroyo, C., Ten Hoopen, G. m., Adonijah, V., & Krauss, U. (2005). Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rica cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 147(2), 129-138. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.00012.x>
- Bryceson, S. R., Morgan, J. W., McMahon, P. J., & Keane, P. J. (2023). A sudden and widespread change in symptoms and incidence of vascular streak dieback of cocoa (*Theobroma cacao*) linked to environmental change in Sulawesi, Indonesia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 350, 108466. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108466>
- Ceccarelli, V., Fremout, T., Chavez, E., Argüello, D., Loor Solórzano, R. G., Sotomayor Cantos, I. A., & Thomas, E. (2024). *Vulnerability to climate change of cultivated and wild cacao in Ecuador*. <https://doi.org/10.1007/s10584-024-03756-9>
- Correa Álvarez, J., Castro Martínez, S., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agronómica*, 63(4), 388-399. <https://doi.org/10.15446/acag.v63n4.42747>
- da Costa, G. A., Lira, J. B., Freitas-Lopes, R. do L., & Lopes, U. P. (2019). Tank mix application of copper hydroxide either with cyproconazole or pyraclostrobin fungicides reduced the control of coffee leaf rust. *Crop Protection*, 124, 104856. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104856>
- Delgado-Bogotá, N. V., Patiño-Ladino, O. J., Prieto-Rodríguez, J. A., Delgado-Bogotá, N. V., Patiño-Ladino, O. J., & Prieto-Rodríguez, J. A. (2025). Antifungal Potential of Piper-Derived Essential Oils and Key Constituents on *Moniliophthora roreri*, the Causal Agent of Moniliasis in Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Plants*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/plants14162514>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2020). InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Edginton, L. V. (1971). Fungitoxic Spectrum of Benzimidazole Compounds. *Phytopathology*, 61(1), 42. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-42>
- Espinosa-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), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051119>
- Evans, H. C., Stalpers, J. A., Samon, 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>
- Ezziyani, M., Sánchez, C. P., Requena, M. E., Rubio, L., & Castillo, M. E. C. (2004). Biocontrol por *Streptomyces roche - ziyanī-*, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Analés de Biología*, 26, Article 26.
- Gómez-Vázquez, E. G., Roque, Y. S., Ibáñez-Duharte, G. R., Canseco-Pérez, M. A., Zenteno-Carballo, A. G., Berrones-Hernández, R., & Pérez-Luna, Y. C. (2024). Molecular identification and lipolytic potential of filamentous fungi isolated from residual cooking oil. *Biodiversity Data Journal*, 12, e113698. <https://doi.org/10.3897/BDJ.12.e113698>
- Guevara-Viejó, F., Valenzuela-Cobos, J. D., Noriega-Verdugo, D., Garcés-Moncayo, M. F., Quilligana, R. B., Guevara-Viejó, F., Valenzuela-Cobos, J. D., Noriega-Verdugo, D., Garcés-Moncayo, M. F., & Quilligana, R. B. (2024). Application of biplot techniques to evaluate the potential of *Trichoderma*

- spp. as a biological control of moniliosis in Ecuadorian cacao. *Applied Sciences*, 14(13). <https://doi.org/10.3390/app14135481>
- Jiang, C., Zhou, L., Wang, M., Shen, S., Cheng, W., Zhao, Q., Cui, K., & He, L. (2025). Sensitivity determination and resistance mechanism of *Sclerotium rolfsii* to difenoconazole. *Pest Management Science*, 81(6), 2734-2741. <https://doi.org/10.1002/ps.8624>
- Laflamme, B., Blackman, C., Loranger, M., Trilles, R., Doychinova-Weil, K., Scully, S. S., Blackburn, J. M., Kanegesku, A. L. G., Roizen, J. L., Bengtson, S., Brown, L. E., Porco, J. A., Yoshioka, K., Whitesell, L., Subramaniam, R., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2025a). A cationic amphiphilic drug synergizes with strobilurin fungicides to control fungal-borne plant diseases. *Cell Chemical Biology*, 32(6), 872-884.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2025.05.008>
- Laflamme, B., Blackman, C., Loranger, M., Trilles, R., Doychinova-Weil, K., Scully, S. S., Blackburn, J. M., Kanegesku, A. L. G., Roizen, J. L., Bengtson, S., Brown, L. E., Porco, J. A., Yoshioka, K., Whitesell, L., Subramaniam, R., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2025b). A cationic amphiphilic drug synergizes with strobilurin fungicides to control fungal-borne plant diseases. *Cell Chemical Biology*, 32(6), 872-884.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2025.05.008>
- Love, J., Selker, R., Marsman, M., Jamil, T., Dropmann, D., Verhagen, J., Ly, A., Gronau, Q. F., Šmíra, M., Epskamp, S., Matzke, D., Wild, A., Knight, P., Rouder, J. N., Morey, R. D., & Wagenmakers, E.-J. (2019). JASP: Graphical Statistical Software for Common Statistical Designs. *Journal of Statistical Software*, 88, 1-17. <https://doi.org/10.18637/jss.v088.i02>
- Maridueña-Zavala, M. G., Villavicencio-Vásquez, M. E., Cevallos-Cevallos, J. M., & Peralta, E. L. (2016). Molecular and morphological characterization of *Moniliophthora roreri* isolates from cacao in Ecuador. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(4), 460-469. <https://doi.org/10.1080/07060661.2016.1261372>
- Márquez, D. A., Vásquez, A. L., Thompson, J. M., Párraga, D. A., Murillo, A. Á., Romero, K. C., & Asang, S. F. (2024). Efectividad fitosanitaria de la remoción de frutos enfermos con embolse para la disminución de *Moniliophthora roreri* en cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Pro Sciencias: Revista de Producción, Ciencias e Investigación*, 8(54), 1-11. <https://doi.org/10.29018/issn.2588-1000vol8iss54.2024pp1-11>
- Mendoza, D., García, O., Velasco, J. L. R., & Jadán, K. (2024). Exportaciones de cacao ecuatoriano y su incidencia en la producción durante el período 2008-2023. *Religación*, 9(42), e2401278-e2401278. <https://doi.org/10.46652/rgn.v9i42.1278>
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K., & Cammue, B. P. A. (2020). Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control. *Microorganisms*, 8(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121930>
- Özdemir, Ö. E., Bretzel, T., Gfüllner, L., Gorjian, S., Katircioglu, Y., Dur, B., & Trommsdorff, M. (2025). Design, simulation, and experimental evaluation of an agrivoltaic greenhouse in Turkey. *Results in Engineering*, 26, 105278. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2025.105278>
- 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>
- Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez, E., & Wilkinson, M. J. (2005). Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology*, 54(4), 483-490. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x>
- Quiroga Pérez, M. (2022). *Intraspecific variability of the Moniliophthora roreri populations in Colombia and its association with colony morphology and growth rate*. <http://hdl.handle.net/10784/31618>
- Rorer, J. B., & Pachano, A. (1918). *Enfermedades del cacao en el Ecuador y métodos modernos apropiados a su cultivo: Informe presentado al Presidente y miembros de la Asociación de Agricultores del Ecuador*. Imprenta de Diario Ilustrado.
- Rudgard, S. A., Pettitt, T. R., & Hadley, P. (1990). Tenacity, biological activity and redistribution of copper fungicides on cocoa in controlled environments. *Crop Protection*, 9(4), 281-288. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(90\)90106-H](https://doi.org/10.1016/0261-2194(90)90106-H)
- Sánchez-Hernández, E., de la Cruz-Lázaro, E., & Sánchez-Hernández, R. (2014). Comportamiento de la moniliosis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) en Tapachula, Chiapas, México. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 1(1), 7-15.
- Suárez Contreras, L. Y. (2016). Identificación molecular de aislamientos de *Moniliophthora roreri* en huertos de cacao de Norte de Santander, Colombia. *Acta Agronómica*, 65(1), 51-57. <https://doi.org/10.15446/actag.v65n1.47994>
- Suárez Contreras, L. Y., & Rangel Riño, A. L. (2013). Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*. *Acta Agronómica*, 62(4), 370-378.
- 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 Moniliosis del Cacao (*Theobroma cacao*). *Revista mexicana de fitopatología*, 31(1), 65-69.
- Torres-de-la-Cruz, M., Quevedo-Damián, I., Ortiz-García, C. F., Lagúnez-Espinoza, L. D. C., 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>
- Vela-Alvarez, E. L., Pérez-Gonzales, T. M., & Sánchez, L. A. O. (2025). Manejo preventivo de moniliosis, mediante el uso de agua y aceite ozonizados. *Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas*, 4(2), e859-e859. <https://doi.org/10.51252/reacae.v4i2.859>
- Vélez Balderrama, E. T., Almeida Vera, D. A., & Vélez Zambrano, S. M. (2023). Efecto de fungicidas sistémicos y protectores en el control de moniliosis y escoba de bruja en cacao. <https://agsr.fao.org/search/en/providers/124692/records/669e7a4c00eb85b7d72b8a68>