



Evaluación del efecto antifúngico del sulfato de cobre (II) pentahidratado en *Moniliophthora roreri*

T. Paulina Carrasco-de la Cruz¹, Zendy Evelyn Olivo-Vidal², José Angel Sánchez-Peregrino¹, Patricia Mendoza-Lorenzo^{1,*}

¹División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa KM. 1, Col. La Esmeralda CP. 86690, Cunduacán, Tabasco, México.

²El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Villahermosa, Carretera Villahermosa-Reforma Km 15.5, Ranchería el Guineo, Sección II. CP. 86280, Villahermosa, Tabasco, México.

*patricia.mendoza@ujat.mx

Resumen

El sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) es un compuesto común en la industria agrícola, usado para tratar la enfermedad del cacao denominada "moniliasis" ocasionada por la infección del fitopatógeno fúngico *Moniliophthora roreri* (*M. roreri*) en *Theobroma cacao* (*T. cacao*). El objetivo de este proyecto fue evaluar *in vitro* el efecto antifúngico del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en *M. roreri* aislado de frutos de cacao infectados. Inicialmente, se aislaron los hongos endófitos de frutos de cacao sanos (*T. cacao*) en medios ADP y AV8, ambos identificados morfológicamente con azul de lactofenol. Posteriormente, *M. roreri* fue aislado de frutos de cacao infectados (*T. cacao*) e identificado morfológicamente con azul de lactofenol. El efecto fungicida del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sobre *M. roreri* se evaluó por infusión en agares ADP y AV8 en concentraciones de 0.0625-1 mM y de 0.625-10 μM . De acuerdo con los resultados obtenidos, *Lasiodiplodia spp* fue el hongo endófito más frecuente en los frutos de cacao sanos analizados, mientras que la concentración mínima efectiva de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sobre *M. roreri* fue 10 μM a 7 días de incubación.

Palabras claves: sulfato de cobre, *Moniliophthora roreri*, *Theobroma cacao*.

Abstract

Copper (II) sulfate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) is a common compound in the agricultural industry, used to treat the cocoa disease called "moniliasis" caused by the infection of the fungal phytopathogen *Moniliophthora roreri* (*M. roreri*) on *Theobroma cacao*. The objective of this project was to evaluate *in vitro* the antifungal effect of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ on *M. roreri* isolated from infected cocoa fruits. Initially, endophytic fungi were isolated from healthy cocoa fruits (*T. cacao*) on ADP and AV8 media, both morphologically identified with lactophenol blue. Subsequently, *M. roreri* was isolated from infected cocoa fruits (*T. cacao*) and morphologically identified with lactophenol blue. The fungicidal effect of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ on *M. roreri* was evaluated by infusion in ADP and AV8 agars at concentrations of 0.0625-1 mM and 0.625-10 μM . According to the results obtained, *Lasiodiplodia spp* was the most frequent endophytic fungus in the healthy cocoa fruits analyzed, while the minimum effective concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ on *M. roreri* was 10 μM at 7 days of incubation.

Keywords: copper sulfate, *Moniliophthora roreri*, *Theobroma cacao*.

Recibido: 13 de febrero de 2023. Aceptado: 21 de abril de 2023. Publicado: 30 de agosto 2023.



1 Introducción

El cacao (*Theobroma cacao*), es uno de los principales productos agrícolas del estado de Tabasco, donde se produce el 68.65% del cacao a nivel nacional [1]; siendo la región de la Chontalpa la principal zona cacaotera con alrededor de 35,000 productores a pequeña escala [2]. En los últimos años el rendimiento de la cosecha de cacao se ha visto disminuida principalmente por factores como la antigüedad de los sembradíos, plagas y enfermedades fúngicas que afectan los cultivos, entre las que destaca la producida por el hongo *Moniliophthora roreri* (*M. roreri*) denominada “monilia” o “moniliasis del cacao”, también conocida como “mancha negra” o “pudrición del cacao”, que puede llegar a generar una pérdida entre el 50 y el 70 % de la producción del cacao [2]–[4].

A fin de disminuir la merma en la producción de cacao por la moniliasis, se ha implementado el uso de sales inorgánicas a base de cobre como el hidróxido de cobre y el sulfato de cobre; este último es empleado comúnmente en una mezcla conocida como “caldo bordelés” compuesta por sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), cal u óxido de calcio (CaO) y agua (entre otros aditivos), la cual es ampliamente utilizada en los cultivos de cacao sin existir normas o leyes que regulen su aplicación [4]–[7].

Aunque en 2019 se publicó el “Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo”, por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) [8] que integra los instrumentos jurídicos, recomendaciones, protocolos y buenas prácticas para el uso eficiente e integral, disposición y almacenamiento de plaguicidas, la divulgación de esta información entre los productores es prácticamente inexistente, un factor que favorece la aplicación de conocimientos por “usos” y “costumbres” en la región lo que no siempre resulta ser lo más adecuado para los cultivos [4]–[7].

1.1 *Moniliophthora roreri* y la Moniliasis

El *M. roreri* es un hongo que tiende a presentarse en zonas a nivel del mar y en condiciones de humedad [9]. Su morfología se compone de hifas hialinas, septadas con doliporo, pudiendo tener una pared delgada o gruesa; sus esporas se suelen encontrar de forma globosa, subglobosa y elípticas que tienden a medir entre 5 a 15 μm [10].

El ciclo biológico del *M. roreri* (Figura 1) ocurre cuando los frutos infectados generan millones de esporas que, con ayuda de la lluvia y el viento, son esparcidas a través del aire depositándose en la superficie de los frutos del cacao, una vez allí, el hongo penetra el fruto y se desarrolla colonizando las células induciendo la producción de proteínas que propician la necrosis [11]–[13]. Este proceso de incubación suele ser el más tardado de todo el ciclo, el crecimiento del fitopatógeno finaliza después de varios meses de la inoculación y puede ser observado en la corteza del fruto por lo que provoca la muerte del tejido interno y posteriormente del externo [10], [14].

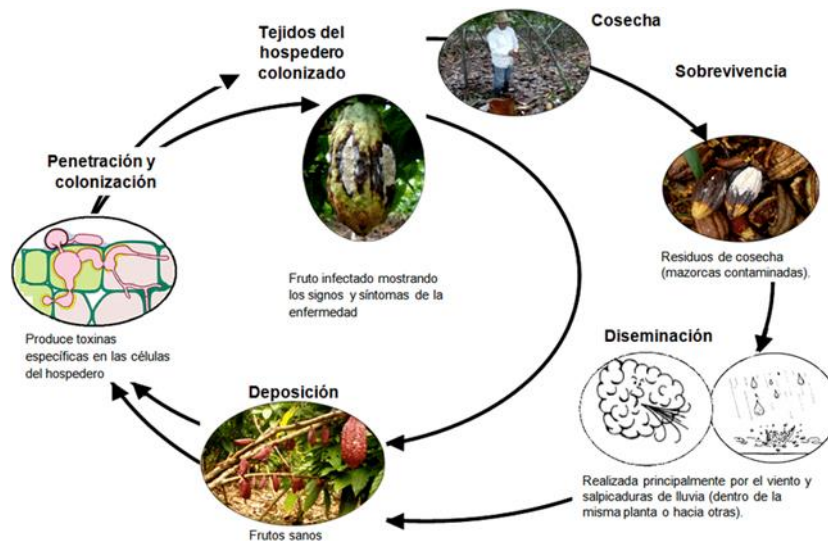


Figura 1. Ciclo biológico del *M. roleri*, extraído de Sánchez Mora et al [12].

En un inicio, Ecuador fue considerado como el centro de origen de la moniliasis, sin embargo, debido a los trabajos del fitopatólogo J. B. Rorer quien recolectó muestras desde Trinidad hasta Ecuador y las envió a R. E. Smith, en la Universidad de California, fue posible determinar que la enfermedad era causada por el patógeno *Monilia sp*, cuyos estudios genéticos señalan a Colombia como la región de origen de la enfermedad [9], [11], [15].

La moniliasis infecta únicamente al fruto desde la superficie y en cualquier fase del desarrollo vegetativo, pero la susceptibilidad más alta se observa en los primeros estados de desarrollo del fruto. Los síntomas de la moniliasis pueden ser externos e internos [12]. Externamente los síntomas se caracterizan por la deformación de los frutos cuando la infección ocurre en una etapa temprana de su desarrollo; el cambio de coloración con la aparición de manchas cafés; la necrosis aparece cuando la enfermedad se encuentra avanzada en donde la superficie del fruto se recubre con un filamento blanco y algodonoso que luego se torna en un polvo grisáceo [9], [12], [15]. Los síntomas internos se presentan cuando los tejidos se descomponen formando una sustancia acuosa y marrón con lo que la mazorca de cacao se vuelve inservible [9], [11].

Al ser la esporulación la última etapa del ciclo, el tratamiento primordial para evitar una infestación recae en la prevención, existen sustancias que pueden impedir la propagación de la enfermedad y evitar el brote del hongo en frutos sanos. Es en esta etapa que el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ suele ser el principal ingrediente activo que utilizan los agricultores para llevar a cabo la función inhibitoria de las esporas [3], [6].

1.2 Sulfato de cobre (II) pentahidratado y su uso en la industria cacaotera

El $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ es una sal inorgánica utilizada como antifúngico contra *M. roleri*, el cual tiene una función protectante, es decir, inhibe la generación de las esporas del hongo evitando que estas se esparzan e infecten a frutos sanos por lo que su uso es preventivo a la aparición de la enfermedad



[15]. Se recomienda su aplicación en cultivos con densidades altas, fumigando de manera semanal durante tres meses, iniciando en las primeras etapas de la floración en una concentración de 2 kg/ha [12], [15].

Las propiedades del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ como antifúngico para el tratamiento de la *moniliasis* oniliasson reconocidas desde hace muchos años, sobre todo de manera empírica, sin embargo, la aplicación de esta sal aún requiere de estandarización y homogenización de sus métodos, debido a que una deficiencia en las concentraciones o una mezcla inadecuada con otros compuestos, puede llegar a provocar una reducción en la eficacia del ingrediente activo, en este caso el cobre, dando como resultado una respuesta disminuida de la función antifúngica [14]-[16] [14]-[16]. Por el contrario, el uso desmedido o excesivo por parte de los productores con el objetivo de eliminar al hongo (que regularmente suelen sobrepasar las concentraciones recomendadas), contribuye a la acumulación de químicos en las mezclas que utilizan las cuales resultan ser perjudiciales para el medio ambiente y para las personas que están expuestas de forma directa (personal de fumigación) o indirecta (personas expuestas a suelos, agua contaminada, etc.) durante periodos de exposición muy prolongados [18]-[20].

En este contexto, el objetivo de este proyecto es evaluar el efecto antifúngico del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en el hongo *M. roreri*, principal agente causal de la moniliasis del cacao mediante estudios *in vitro*, así como identificar a los hongos endófitos de los los frutos de cacao (*T. cacao*) de la zona de muestreo.

2. Metodología

2.1 Zona de estudio y criterios de selección de las muestras

La recolección del fruto del cacao (*T. cacao*) se llevó a cabo en la región noroeste del estado de Tabasco, en la Ranchería Miguel Hidalgo del municipio de Comalcalco con coordenadas 18°16'06.2"N 93°21'09.5". Para la identificación de los hongos endófitos presentes en *T. cacao* se escogieron frutos aparentemente sanos, sin manchas, ni señales visibles de alguna enfermedad. Para el aislamiento del *M. roreri* se recolectaron frutos evidentemente infectados, en diferentes estados de la enfermedad, desde frutos con la presencia de deformaciones e inicios de la aparición de la mancha café (característica de la etapa pre-infectiva del hongo), hasta frutos cubiertos de esporas en el 100 % de su superficie. Todos los frutos fueron transportados a temperatura ambiente en bolsas de plástico y procesados al llegar a laboratorio, aproximadamente a 1 h del muestreo.

2.2 Identificación de los hongos endófitos del *T. cacao*

El protocolo de desinfección y aislamiento de hongos endófitos en *T. cacao* se realizó según lo indicado por Contreras et al (2006) y Murillo et al 2022 [21], [22]. Los frutos sanos se desinfectaron frotando el exterior con alcohol al 40% y posteriormente con hipoclorito de sodio al 2 %. Se seccionó la corteza del fruto tomando trozos de aproximadamente 0.5 cm² los cuales se sumergieron en alcohol al 40 % durante 5 minutos y en hipoclorito de sodio al 2 % por otros 5 min y se dejaron secar. Posteriormente, fueron sembrados en placas Petri estériles, desechables, con división y con medio



de cultivo Agar Dextrosa Papa (ADP) y Agar V8 (AV8) preparados en campana de bioseguridad Labconco™ Purifier™ Cell Logic+™ e incubados a 30 °C (± 2), durante 7 días. Los hongos obtenidos se aislaron tomando una muestra de cada colonia por separado, sembrando e incubando en las mismas condiciones ya descritas.

Para la identificación fúngica, las colonias resultantes se observaron macro y microscópicamente. La observación macroscópica de las colonias se realizó en un microscopio estereoscópico marca Velab. La observación microscópica se realizó mediante el análisis de frotis elaborados a partir del método de la cinta adhesiva transparente tomando una leve porción del micelio del hongo con la cara adhesiva de la cinta; esta muestra se colocó sobre un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol o Lugol y se observó con un microscopio óptico marca Motic serie B3. Las características morfológicas de los hongos se cotejaron con artículos originales previamente publicados que contenían evidencias fotográficas de diversos hongos relacionados al *T. cacao*.

2.3 Evaluación del efecto antifúngico del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Para el aislamiento del *M. roreri* se realizó el procedimiento descrito por Contreras et al (2006) y Murillo et al (2022) con leves modificaciones dependiendo del estadio de la moniliasis. Brevemente, se escogieron mazorcas en fase temprana de la enfermedad sin esporulación externa, los trozos de la corteza se obtuvieron del área afectada. También se escogieron frutos con esporulación evidente, en este caso se obtuvieron las esporas raspando suavemente la superficie del cacao cubierta con ellas, sin pasar por un protocolo de desinfección, se obtuvieron trozos de la corteza previamente raspada. El sembrado se llevó a cabo por duplicado en los agares ADP y AV8 para cada tipo de muestra, divididas en tres categorías: muestra de corteza de fruto con moniliasis desinfectado, esporas y corteza del fruto sin esporas y sin desinfección. El aislamiento y la identificación del hongo se realizó bajo las mismas condiciones anteriormente descritas para los hongos endófitos.

La evaluación del efecto fungicida se llevó a cabo por el método de infusión en agar, colocando 5 concentraciones de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en el medio: 1 mM, 0.5 mM, 0.25 mM, 0.125 mM, 0.0625 mM, seguido del sembrado del hongo a partir del micelio del *M. roreri* aislado, cada una se hizo por duplicado tanto en agar ADP como en agar AV8, incubadas a 30 °C (± 2) durante 7 días (pH=5). Posteriormente se hizo una segunda ronda de concentraciones, esta vez a 10 μM , 2.5 μM y 0.625 μM incubadas durante 3 días bajo las mismas condiciones iniciales. Una vez visible el micelio del hongo se identificó morfológicamente de la manera previamente descrita.

3. Resultados

Se procesaron en total 13 frutos sanos de los cuales se identificaron morfológicamente 4 hongos: *Lasiodiplodia spp*, *Mucor spp*, *Aspergillus spp*, *Curvularia spp*. Los resultados se pueden observar en la Tabla 1; en la primera columna se enlistan los hongos endófitos identificados; en la segunda columna se la primera coluenlistan los hongos endófitos identifi en la segunda columna se muestran evidencias fotográficas de las colonias obtenidas en los medios de las colonias obtenidas en los

medios, en ellas es posible visualizar su morfología macroscópica su morfología macroscópica; la tercera columna muestra evidencias fotográficas de la morfología microscópica de cada hongo que fue obtenido, teñidos con azul de lactofenol; en la columna 4 se colocaron los artículos originales que sirvieron como referencia para la identificación morfológica de cada crecimiento fúngico.

La frecuencia de la aparición de cada hongo se muestra en la Figura 2 siendo los más recurrentes el *Lasiodiplodia spp* presente en casi el 80% de las muestras y el *Aspergillus spp* observado en más del 50 % de los frutos examinados. La presencia de estos hongos no parece tener un efecto patológico sobre los frutos, en especial la *Lasiodiplodia spp*, siendo un organismo saprófito, no suele ser sintomático en los frutos que infecta, sin embargo, se le considera un fitopatógeno latente que puede causar afectaciones cuando la homeostasis de la planta se ve alterada [23], [24].




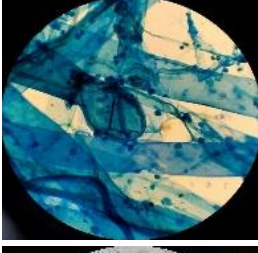



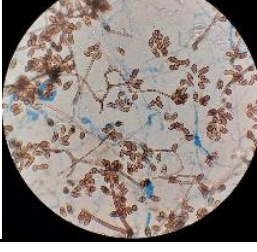
Género	Macroscópica	Microscópica	Referencia
<i>Lasiodiplodia spp</i>			[23], [25]
<i>Mucor spp</i>			[26], [27]
<i>Aspergillus spp</i>			[28]–[30]
<i>Curvularia spp</i>			[31], [32]

Tabla 1. Morfología de hongos endófitos en frutos de cacao sanos (*T. cacao*).

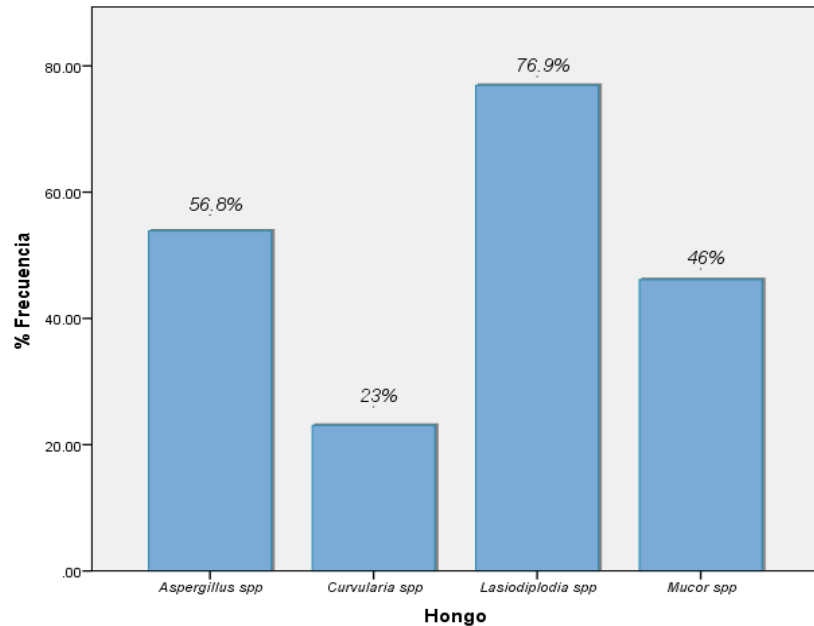


Figura 2. Frecuencia de hongos endófitos en frutos de cacao sanos (*T. cacao*).

El hongo *M. roreri* se identificó según la morfología mostrada por Cuervo-Parra et al 2011 [33], Bailey et al 2018 [11] y Gómez Murillo et al 2022 [22]. Su estructura se puede observar en la Figura 3 reportándose el fruto del cacao infectado con esporulación externa, colonias aisladas de *M. roreri* de coloración blanquesina - amarillo tenue, filamentosas y con apariencia algodonosa y finalmente, las características hifas septadas y esporas elípticas y globosas.

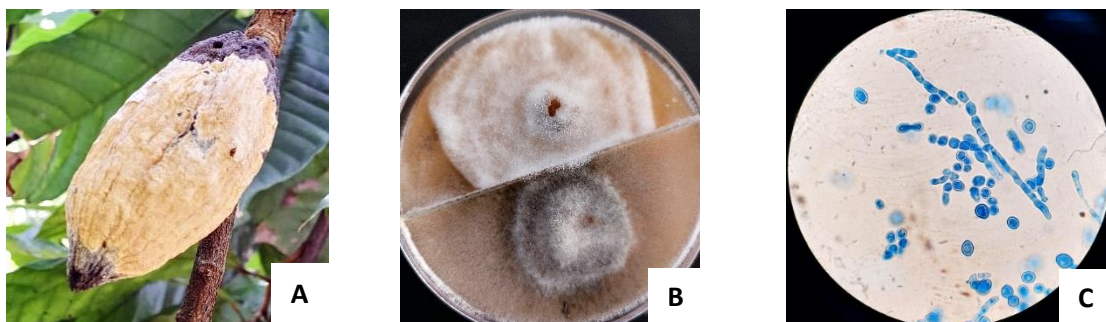


Figura 3. Identificación microscópica del *M. roreri*. A) Mazorca de cacao con monilias avanzada (esporulación externa). B) Colonias aisladas de *M. roreri*. C) Vista microscópica de *M. roreri* 1000X, esporas elípticas y globosas teñidas con azul de lactofenol.

En la primera prueba de actividad antifúngica del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, no se observó crecimiento micelial en ninguna de las concentraciones evaluadas (0.0625-1 mM) a los 7 días de incubación. Debido a

esta condición se realizó una segunda prueba donde las concentraciones del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ fueron reducidas ($0.625\text{-}10 \mu\text{M}$). En esta segunda prueba se observó crecimiento micelial a partir de $2.5 \mu\text{M}$ a los tres días de incubación, las características morfológicas del hongo obtenido en esta prueba fueron concordantes con las observadas en la bibliografía anteriormente descrita (Figura 4). Durante esta última prueba, en ensayos por duplicado y evaluadas en agares ADP y AV8, fue posible establecer la concentración mínima efectiva para el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en $10 \mu\text{M}$ (Tabla 2).

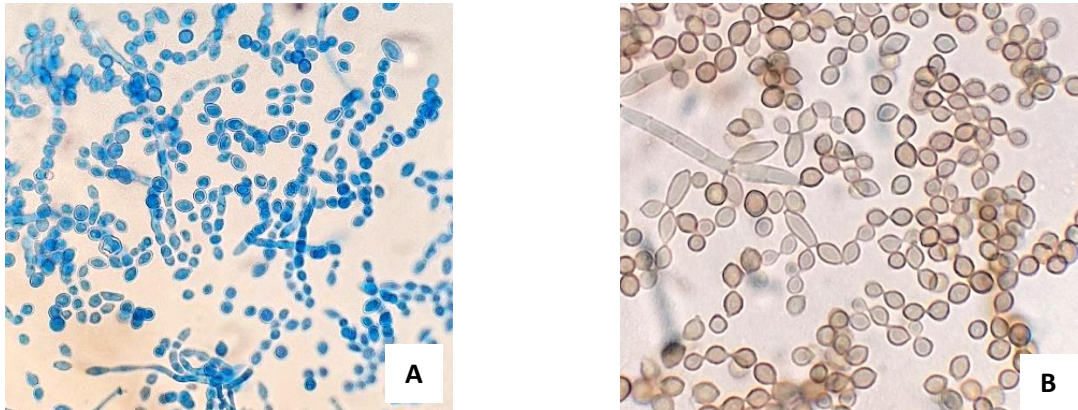


Figura 4. Morfología microscópica de *M. royeri* a $2.5 \mu\text{M}$. A) Tinción con azul de lactofenol. B) Tinción con Lugol.

[μM]	Crecimiento
1000-625	-
10	-
2.5	+
0.625	+
Control sin <i>M. royeri</i>	-
Control <i>M. royeri</i> , sin $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	+

(-) ausencia; (+) presencia

Tabla 2. Actividad antifúngica del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sobre *M. royeri*.

4. Conclusiones

Los resultados de este trabajo nos brindan un primer acercamiento a los tipos de hongos endófitos presentes en los frutos del cacao que son cultivados en el estado de Tabasco y de las proporciones de su prevalencia. Aun cuando los hongos endófitos ya han sido descritos previamente en otras zonas, la relación fitopatológica de *M. royeri* y los frutos del cacao requiere de especial atención para minimizar los daños a los cultivos y su impacto sobre los procesos de comercialización que afectan principalmente a los agricultores y a la economía local de muchas regiones de Tabasco. Se identificó



un efecto antifúngico efectivo del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a $10 \mu\text{M}$, sin embargo, es necesario realizar estudios donde se amplie la escala de concentraciones y se evalúen otras condiciones de incubación, temperatura, humedad y luminosidad, así como la posibilidad de incluir otros controles positivos como el azoxystrobin. Si bien, estos resultados son preliminares, nos permiten dar un primer acercamiento a las concentraciones adecuadas para el uso del $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en cultivos de cacao ya que la información actual no es muy precisa, ni se encuentra actualizada.

5. Agradecimientos

Al CONACYT por la beca proporcionada para estudios de Posgrado a nivel Maestría; al M. en C. Quirino Torres Sauret, al C. Efrén Mendoza Martínez y a los Sres. Manrique López Jiménez y Andrés López Jiménez por todo el apoyo recibido durante las diferentes etapas del proyecto.

6. Referencias

- [1] A. López, L. Martínez Bolaños, G. Gil, M. Martínez, C. H. Avendaño-Arrazate, y E. Meneses, «Bioaceites esenciales inhiben a *Moniliophthora roreri*», oct. 2020, doi: 10.30973/aap/2020.6.0061016.
- [2] E. D. L. Cruz-Landero, V. Córdova-Avalos, E. García-López, A. Bucio-Galindo, y J. L. Jaramillo-Villanueva, «Manejo Agronómico Y Caracterización Socioeconómica Del Cacao En Comalcalco, Tabasco», *Foresta Veracruzana*, vol. 17, n.º 1, pp. 33-40, 2015.
- [3] M. Torres-de-la-Cruz, I. Quevedo-Damián, C. F. Ortiz-García, L. del C. Lagúnez-Espinoza, D. Nieto-Angel, y M. P. la Cruz, «Control químico de *Moniliophthora roreri* en México», *Biotecnia*, vol. 21, n.º 2, Art. n.º 2, abr. 2019, doi: 10.18633/biotecnia.v21i2.906.
- [4] A. J. Moo Muñoz, E. P. Azorin Vega, N. Ramirez Duran, y M. P. A. Moreno Pérez, «Estado de la producción y consumo de plaguicidas en México», *State of the production and consumption of pesticides in Mexico*, jun. 2020, Accedido: 1 de noviembre de 2021. [En línea]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/109820>
- [5] I. C. Anaya Zamora, M. Mier y Terán Giménez Cacho, J. Urdapilleta Carrasco, y B. Ferguson, «Retos y estrategias para la reducción del uso de plaguicidas en Chiapas, México, desde la perspectiva de las organizaciones de la sociedad civil», *ASYD*, vol. 17, n.º 1, pp. 91-119, jun. 2020, doi: 10.22231/asyd.v17i1.1324.
- [6] D. Almenares, S. Córdova-Sánchez, M. de los Á. P. Villar, I. G. D. los Santos-Ramos, y D. K. Trujillo-Acosta, «Prácticas de uso de plaguicidas en agricultores de la Sub-Región Chontalpa», *Agro Productividad*, vol. 13, n.º 2, Art. n.º 2, feb. 2020, doi: 10.32854/agrop.vi.1594.
- [7] C. García-Gutiérrez y G. D. Rodríguez-Meza, «Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa», *Ra Ximhai*, pp. 1-10, dic. 2012, doi: 10.35197/rx.08.03.e2.2012.01.cg.
- [8] «MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf», Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), 2019. Accedido: 20 de marzo de 2022. [En línea]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf



- [9] E. Hernández-Gómez, «Las moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif & Par) del Cacao: búsqueda de estrategias del manejo», *Agro Productividad*, vol. 5, n.º 6, 2012, Accedido: 1 de febrero de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/416>
- [10] M. Villavicencio y M. Jiménez, «Caracterización morfológica, fisiológica y patogénica de *Moniliophthora roreri* aislados de cinco provincias de la Costa Ecuatoriana», *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA*, 2010.
- [11] B. A. Bailey, H. C. Evans, W. Phillips-Mora, S. S. Ali, y L. W. Meinhardt, «*Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot», *Mol Plant Pathol*, vol. 19, n.º 7, pp. 1580-1594, feb. 2018, doi: 10.1111/mpp.12648.
- [12] F. Sánchez Mora y F. R. Garcés Fiallos, «*Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et al. en el cultivo de cacao», *Scientia Agropecuaria*, vol. 3, pp. 249-258, ago. 2012, doi: 10.17268/sci.agropecu.2012.03.06.
- [13] Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria - Corpoica, Y. Jaimes, y F. Aranzazu, *Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*)*. Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria - Corpoica, 2010. doi: 10.21930/978-958-740-034-2.
- [14] J. Herrera, M. Guillermo, y J. Cámara-Córdova, *INNOVACION TECNOLOGICA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA*. 2016.
- [15] J. Correa Alvarez, S. Castro Martínez, y J. Coy, «Estado de la Moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia», *Acta agron.*, vol. 63, n.º 4, pp. 388-399, ago. 2014, doi: 10.15446/acag.v63n4.42747.
- [16] J. L. S. Bonilla, A. Z. Colmenero, V. P. Quintero, E. G. Ramírez, y H. Gómez, «Evaluación agronómica de híbridos de cacao (*Theobroma cacao* L.) para selección de alto rendimiento y resistencia en campo a moniliasis* Agronomic evaluation of cocoa hybrids (*Theobroma cacao* L.) for high-yield selection and field resistance to moniliasis», 2015.
- [17] M. Torres de la Cruz, «Efecto del Azoxystrobin Sobre *Moniliophthora roreri*, Agente Causal de la Moniliasis del Cacao (*Theobroma cacao*)», *Rev. Mex. Fitopatología*, vol. 31, n.º 1, 2013, Accedido: 1 de febrero de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v31n1/v31n1a7.pdf>
- [18] P. Addo-Fordjour, H. Gyamfi, B. Fei-Baffoe, y A. Y. Akrofi, «Impact of copper-based fungicide application on copper contamination of cocoa plants and soils in the Ahafo Ano North District, Ashanti region, Ghana», *Ecology, Environment and Conservation*, vol. 19, pp. 303-310, ene. 2013.
- [19] P. Aikpokpodion, «Impactos del fungicida a base de cobre en la distribución de residuos de cobre y elementos minerales en granos y vainas de cacao», p. 7, 2013.
- [20] M. Arena *et al.*, «Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture», *EFSA J*, vol. 16, n.º 1, p. e05152, ene. 2018, doi: 10.2903/j.efsa.2018.5152.



- [21] L. Y. S. Contreras, «Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*», *Acta Agronómica*, p. 9, 2013.
- [22] I. S. G. López, J. J. G. Murillo, K. A. R. Mejía, y N. E. M. Gaitán, «Aislamiento y caracterización del hongo *Moniliophthora roreri* (Cif) H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny. (1978). de frutos de *Theobroma cacao* L.», *Revista Torreón Universitario*, vol. 11, n.º 32, Art. n.º 32, oct. 2022, doi: 10.5377/rtu.v11i32.14980.
- [23] A. R. Huda-Shakirah, N. M. I. Mohamed Nor, L. Zakaria, Y.-H. Leong, y M. H. Mohd, «*Lasiodiplodia theobromae* as a causal pathogen of leaf blight, stem canker, and pod rot of *Theobroma cacao* in Malaysia», *Sci Rep*, vol. 12, n.º 1, p. 8966, dic. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13057-9.
- [24] P. A. Picos-Muñoz *et al.*, «*Lasiodiplodia theobromae* en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control», *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 33, n.º 1, pp. 54-74, 2015.
- [25] J. A. R. Solis, «*LASIODIPLODIA THEOBROMAE* Y *FUSARIUM PROLIFERATUM* EN PLANTAS JÓVENES DE *TECTONA GRANDIS* (L.F)», p. 37.
- [26] S. Iglesias-Osores y H. Rodríguez-Perla, «Características Microbiológicas de *Mucor* sp.: Microbiological characteristics of *Mucor* sp.», *Rev.exp.med.*, vol. 6, n.º 1, mar. 2020, doi: 10.37065/rem.v6i1.403.
- [27] I. Cruz-Lachica, I. Márquez-Zequera, R. S. García-Estrada, J. A. Carrillo-Fasio, J. León-Félix, y R. Allende-Molar, «Identificación de hongos mucorales causantes de la pudrición blanda en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) en México», *RMF*, vol. 35, n.º 3, ago. 2017, doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1611-3.
- [28] M. L. Abarca, «Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial».
- [29] M. Homa *et al.*, «Characterization of *Aspergillus tamaris* Strains From Human Keratomycoses: Molecular Identification, Antifungal Susceptibility Patterns and Cyclopiazonic Acid Producing Abilities», *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, 2019, Accedido: 30 de enero de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02249>
- [30] J. Makhlof *et al.*, «Morphologic, molecular and metabolic characterization of *Aspergillus* section *Flavi* in spices marketed in Lebanon», *Sci Rep*, vol. 9, n.º 1, Art. n.º 1, mar. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-41704-1.
- [31] N. Kiss *et al.*, «New Species of the Genus *Curvularia*: *C. tamilnaduensis* and *C. coimbatorensis* from Fungal Keratitis Cases in South India», *Pathogens*, vol. 9, p. 9, dic. 2019, doi: 10.3390/pathogens9010009.
- [32] Y. Marin-Felix, M. Hernández-Restrepo, y P. W. Crous, «Multi-locus phylogeny of the genus *Curvularia* and description of ten new species», *Mycol Progress*, vol. 19, n.º 6, pp. 559-588, jun. 2020, doi: 10.1007/s11557-020-01576-6.
- [33] J. A. Cuervo-Parra, V. Sanchez-Lopez, M. Ramirez-Suero, y M. Ramirez-Lepe, «Morphological and Molecular Characterization of *Moniliophthora roreri* Causal Agent of Frosty Pod Rot of Cocoa Tree in Tabasco, Mexico», *Plant Pathology Journal*, vol. 10, n.º 3, pp. 122-127, nov. 2011, doi: 10.3923/ppj.2011.122.127.