



Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

Efecto de los fungicidas en la descontaminación y supervivencia de explantes de Coffea Arabica L.
Cultivos in vitro

Efecto de los fungicidas en la descontaminación y supervivencia de Coffea Arabica L. cultivada in vitro.
Explantes

Wilian De Oliveira Rocha – Centro Universitario de Várzea Grande (UNIVAG) wilian@univag.edu.br

Amanda De Lima Nonato – Centro Universitario de Várzea Grande (UNIVAG)
amanda_nonato28@gmail.com

Eduarda Da Silva Jaboniski – Centro Universitario de Várzea Grande (UNIVAG)
eduardajaboiniskiduda@gmail.com

Max Fernando De Pinho – Centro Universitario de Várzea Grande (UNIVAG)
maxferpinho@gmail.com

Resumen

El café destaca como uno de los principales productos agrícolas de Brasil, siendo la especie Coffea arabica L. es de gran importancia económica. La micropropagación in vitro es una herramienta esencial para la producción de plántulas uniformes y sanas; sin embargo, la contaminación microbiana sigue siendo el principal obstáculo en el establecimiento de cultivos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes fungicidas y concentraciones en la desinfección superficial y la supervivencia de explantes de *C. arabica* cultivados in vitro. Los explantes de hojas y meristemas se sometieron a un protocolo de asepsia superficial y se inocularon en medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM), bajo ocho tratamientos que contenían los fungicidas tebuconazol y azoxistrobina, solos o en combinación, con cuatro réplicas cada uno. Las variaciones probadas incluyeron contaminación fúngica y bacteriana y supervivencia durante 28 días. Los datos se sometieron a Modelos Lineales Generalizados (GLM) con distribución binomial y comparaciones pareadas utilizando la prueba exacta de Fisher con corrección de Holm. Los resultados indicaron un efecto significativo ($p < 0,05$) de los tratamientos para todas las variables. Aunque las comparaciones pareadas no mostraron diferencias aisladas tras la corrección por comparaciones múltiples, se observó una superioridad biológica en el tratamiento con azoxistrobina ($1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$), que presentó una ausencia total de contaminantes y una supervivencia del 100 %. Estos hallazgos sugieren que las estrobilurinas favorecen el equilibrio entre el control sanitario y la integridad fisiológica del explante.

Se concluye que el uso estratégico de fungicidas en el medio de cultivo es prometedor para mejorar el establecimiento in vitro de las plantas de café, y se recomienda un tamaño de muestra mayor para validar las dosis ideales y mitigar los efectos de la fitotoxicidad oxidativa.

Palabras clave: Asepsia vegetal, contaminación endofítica, cultivo de tejidos.

Abstracto

El café se destaca como uno de los principales productos agrícolas de Brasil, siendo Coffea arabica L. la especie de mayor importancia económica. La micropropagación in vitro es una herramienta esencial para producir plántulas uniformes y sanas; sin embargo, la contaminación microbiana sigue siendo el principal obstáculo para el establecimiento del cultivo. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes fungicidas y concentraciones en la desinfección superficial y la supervivencia de explantes de C. arabica cultivados in vitro. Explantes de hojas y meristemas fueron sometidos a un protocolo de asepsia superficial e inoculados en medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM), bajo ocho tratamientos que contenían los fungicidas tebuconazol y azoxistrobina, solos o en combinación, con cuatro réplicas cada uno. Las variaciones probadas incluyeron contaminación fúngica y bacteriana y supervivencia durante 28 días. Los datos fueron sometidos a Modelos Lineales Generalizados (GLM) con distribución binomial y comparaciones pareadas utilizando la prueba exacta de Fisher con corrección de Holm. Los resultados indicaron un efecto significativo ($p < 0,05$) de los tratamientos para todas las variables. Aunque las comparaciones por pares no mostraron diferencias aisladas después de la corrección de pruebas múltiples,



Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

Se observó superioridad biológica en el tratamiento con azoxistrobina ($1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$), que mostró ausencia total de contaminantes y una supervivencia del 100%. Estos hallazgos sugieren que las estrobilurinas favorecen el equilibrio entre el control sanitario y la integridad fisiológica del explante. Se concluye que el uso estratégico de fungicidas en el medio de cultivo es prometedor para mejorar el establecimiento in vitro de plantas de café, y se recomienda un tamaño de muestra mayor para validar las dosis ideales y mitigar los efectos de la fitotoxicidad oxidativa.

Palabras clave: asepsia vegetal; contaminación endofítica; cultivo de tejidos vegetales.

1. Introducción

Brasil es el mayor productor y exportador de café del mundo, y presenta altos... relevancia económica en el panorama agrícola mundial. En 2024, el país exportó aproximadamente 50,5 Millones de sacos de 60 kg del producto, comenzando el año 2025 con resultados positivos en el mercado internacionalmente (CONAB, 2025). Entre las especies cultivadas, *Coffea arabica* L. destaca por la calidad de sus granos y su importante participación en las exportaciones brasileñas (CECAFÉ, 2026).

Sin embargo, la producción de café puede verse comprometida por varios factores bióticos y factores abióticos, entre los que destacan las enfermedades fúngicas. Entre ellas, la mancha foliar por *Phoma*, causada por las especies de *Phoma* se encuentran prácticamente en todas las regiones productoras del país, provocando síntomas como deformidades en las hojas, necrosis, muerte regresiva de las ramas y aborto de frutos jóvenes, que pueden reducir significativamente la productividad de los cultivos (CAIXETA et al., 2024).

En este contexto, la biotecnología vegetal se ha consolidado como una herramienta importante... Una herramienta para producir plántulas libres de patógenos. Entre las técnicas disponibles, la micropropagación permite la multiplicación rápida y controlada de plantas mediante el uso de explantes cultivados en condiciones asépticas, lo que garantiza una mayor uniformidad genética y fitosanitaria. (VIEIRA; KOBAYASHI, 2002).

Sin embargo, durante el cultivo in vitro, la contaminación por hongos y bacterias es uno de los problemas más desafiantes para el establecimiento y mantenimiento de cultivos. Por lo tanto, el uso de agentes antimicrobianos combinados con protocolos asépticos adecuados se vuelven esenciales para la obtención de explantes viables libres de contaminantes. Además, el uso de reguladores de crecimiento vegetal (fitohormonas) desempeñan un papel fundamental en la inducción de procesos morfogénicos, como la formación de callos, la brotación y el enraizamiento, son esenciales para el éxito de la micropropagación (ALMEIDA, 2023).

Según Mamata et al. (2022), programas eficientes de manejo de enfermedades de café a menudo combinan métodos químicos con otras estrategias de control. En el contexto de cultivo de tejidos vegetales, la evaluación de diferentes compuestos antifúngicos y sus concentraciones puede contribuir al desarrollo de protocolos de descontaminación más eficientes y al establecimiento de cultivos.

Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

Dado esto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes fungicidas y sus concentraciones en la asepsia, supervivencia y desarrollo temprano de explantes de *Coffea arabica* L. cultivada in vitro.

2. Materiales y métodos

El experimento de micropropagación y cultivo in vitro se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Centro Universitario de Várzea Grande – UNIVAG, basada en la recolección de limbo. Análisis de hojas y meristemas realizado en un ejemplar de *Coffea arabica* L. procedente de un cultivo de campo. Programa experimental en la UNIVAG.

Se utilizaron explantes de hojas y meristemas de *Coffea arabica* L. , obtenidos de plantas madre con antecedentes de mala salud fitosanitaria y ocurrencia de contaminación Infección fúngica asociada con el género *Phoma* spp. Se recolectaron explantes de plantas cultivadas en condiciones de campo y posteriormente transferidas al laboratorio para el establecimiento del cultivo in vitro.

Los explantes fueron sometidos a un proceso aséptico en una campana de flujo laminar. Siguiendo estos pasos:

1. Inmersión en alcohol etílico al 70% durante 3 minutos;
2. Inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 3 minutos;
3. Tres lavados consecutivos con agua destilada y esterilizada;
4. Inmersión en una solución que contiene los productos correspondientes a cada tratamiento experimental durante 1 hora.

Tras el procedimiento de desinfección, los explantes se inocularon en matraces. que contiene medio de cultivo WPM (Woody Plant Medium) , frecuentemente utilizado para especies leñoso.

Se evaluaron dos fungicidas sistémicos ampliamente utilizados en el control de plagas. Producto fitosanitario: Tebuconazol y Azoxistrobina, aplicados a la composición del medio de cultivo considerando las concentraciones de los productos comerciales. Estos productos se probaron individualmente y en combinación. combinación, en diferentes concentraciones, como se muestra en la Tabla 1. Cada tratamiento fue que consta de cuatro réplicas, cada réplica consta de un vial que contiene tres explantes meristemáticos.

Tabla 1. Diseño experimental de tratamientos compuestos por productos comerciales y sus respectivas dosis, utilizados para controlar contaminantes en explantes de *C. arabica* L.

Tratamiento	Tebuconazol (mL·L ⁻¹)	Azoxistrobina (mL·L ⁻¹)
w	0	0

T1	0,5	0
T2	1	0
T3	1.5	0
T4	0	0,5
T5	0	1
T6	0	1.5
T7	0,5	0,5

Los matraces se mantuvieron en una cámara de cultivo bajo las siguientes condiciones:

Temperatura de 25 ± 2 °C; fotoperiodo de 16 horas; intensidad lumínica aproximada de 40 μmol .

$\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Las evaluaciones se realizaron semanalmente durante 28 días, registrando lo siguiente...

Variables: contaminación fúngica, contaminación bacteriana, supervivencia del explante, formación de

Callos o brotes, oxidación del tejido, variaciones morfológicas observables. Cada variable fue

Registrado en una escala binaria, donde: 0 = ausencia de la característica; 1 = presencia de la característica.

Los datos obtenidos se organizaron en una hoja de cálculo y posteriormente se analizaron.

estadísticamente. Para cada tratamiento, se calcularon los siguientes: frecuencia absoluta de ocurrencia (k),

número total de observaciones (n) y proporción observada (k/n). Las proporciones se utilizaron para

Comparación entre tratamientos e interpretación de los resultados biológicos del experimento.

Para cada variable evaluada, se estimaron intervalos de confianza del 95%.

proporciones, utilizando el método de Wilson, consideradas más adecuadas para experimentos con

Tamaño de muestra pequeño. Este enfoque permite estimaciones más sólidas de la incertidumbre asociada.

a las proporciones observadas.

Se utilizó un modelo para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables analizadas.

Modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial y función de enlace logit.

El modelo utilizado fue:

$Y \sim \text{Tratamiento}$

dónde:

Y = variable de respuesta (supervivencia o contaminación);

Tratamiento = factor categórico con ocho niveles (C, T1–T7).

La significancia del efecto del tratamiento se evaluó mediante la prueba de razón.

Probabilidad (Prueba de razón de verosimilitud – LRT).

Para evaluar las diferencias específicas entre los tratamientos, se realizaron comparaciones.

emparejados mediante la prueba exacta de Fisher, apropiada para datos binarios con un número pequeño de

observaciones. Respecto al control del error de tipo I asociado con comparaciones múltiples, se aplicó lo siguiente.

Ajuste de Holm a los valores p.

Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

Debido al reducido número de repeticiones por tratamiento ($n = 4$), un

Estimación de potencia estadística mediante simulación, con el objetivo de evaluar la probabilidad de El experimento detectó diferencias entre los tratamientos. La estimación se realizó mediante simulaciones. basado en las proporciones observadas en el experimento, considerando pruebas de independencia global. entre el tratamiento y la respuesta variable.

Además de las pruebas estadísticas inferenciales, se realizó un análisis exploratorio sobre Se estableció una relación entre la supervivencia del explante y la incidencia de contaminación. Una representación gráfica del diagrama de dispersión entre la supervivencia y la contaminación total, lo que permite visualizar patrones biológicos entre los tratamientos e identificar posibles relaciones de compensación entre ellos. supervivencia y contaminación.

Los análisis estadísticos y las visualizaciones gráficas se realizaron utilizando Python, con con la ayuda de las siguientes bibliotecas: Pandas (organización de datos), Statsmodels (modelos estadísticos), SciPy (pruebas estadísticas) y Matplotlib (visualización gráfica).

3. Resultados y discusión

El análisis temporal demostró que la desinfección estándar de superficies (alcohol e hipoclorito) fue Eficaz únicamente en la fase inicial, ya que no se observaron signos de contaminación durante la primera semana. Sin embargo, la aparición de hongos y bacterias a partir de la segunda y tercera semana, especialmente Los resultados de los tratamientos T1, T3 y T4 sugieren que los microorganismos se ubicaban en nichos endofíticos. o en estado latente. En especies leñosas como *C. arabica*, la persistencia de contaminantes Las infecciones internas son un problema recurrente, como las causadas por *Phoma* spp., ya que el tejido vascular puede albergar patógenos. que escapan a los desinfectantes de contacto (VIEIRA; KOBAYASHI, 2002).

El modelo lineal generalizado (GLM) reveló que los tratamientos ejercieron influencia. impacto significativo en la contaminación por hongos ($p = 0,039$), contaminación bacteriana ($p = 0,0016$) y supervivencia ($p = 0,009$). Aunque la prueba exacta de Fisher, después de la corrección de Holm, no aisló las diferencias Al estar emparejados debido al tamaño de la muestra ($n = 4$), las tendencias biológicas observadas sugieren diferencias. entre tratamientos.

Por lo tanto, la distribución de las proporciones de contaminación fúngica entre los tratamientos puede ser como se observa en la Figura 1, y a continuación se muestra la distribución de la contaminación bacteriana entre los tratamientos. Se muestra en la Figura 2.

Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

Figura 1. Proporción de contaminación fúngica observada en explantes de *Coffea arabica* L. cultivados in vitro bajo diferentes tratamientos con fungicidas. Las barras representan las proporciones observadas y los intervalos de confianza del 95 %.

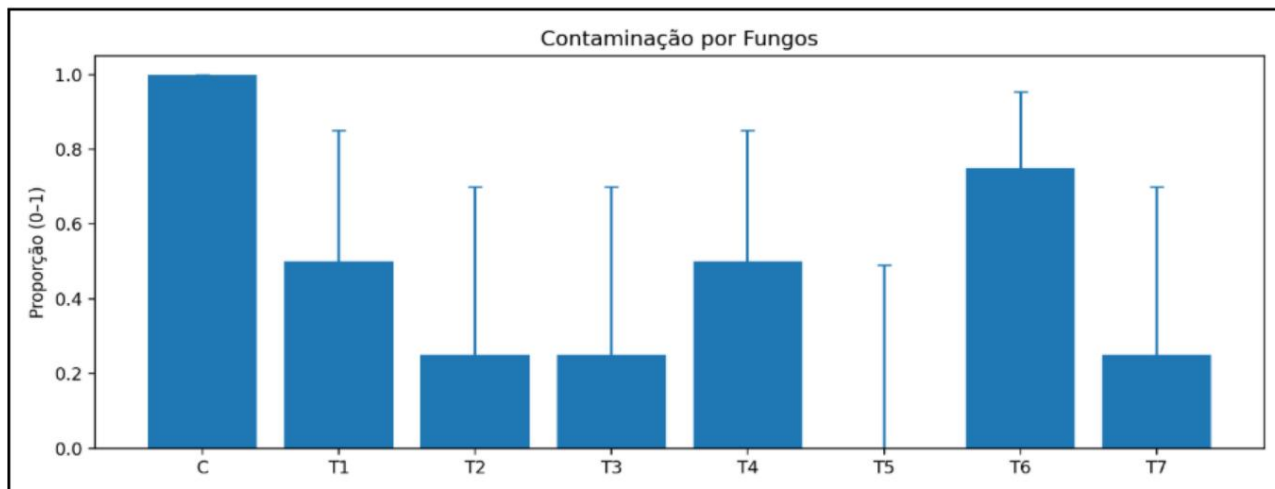
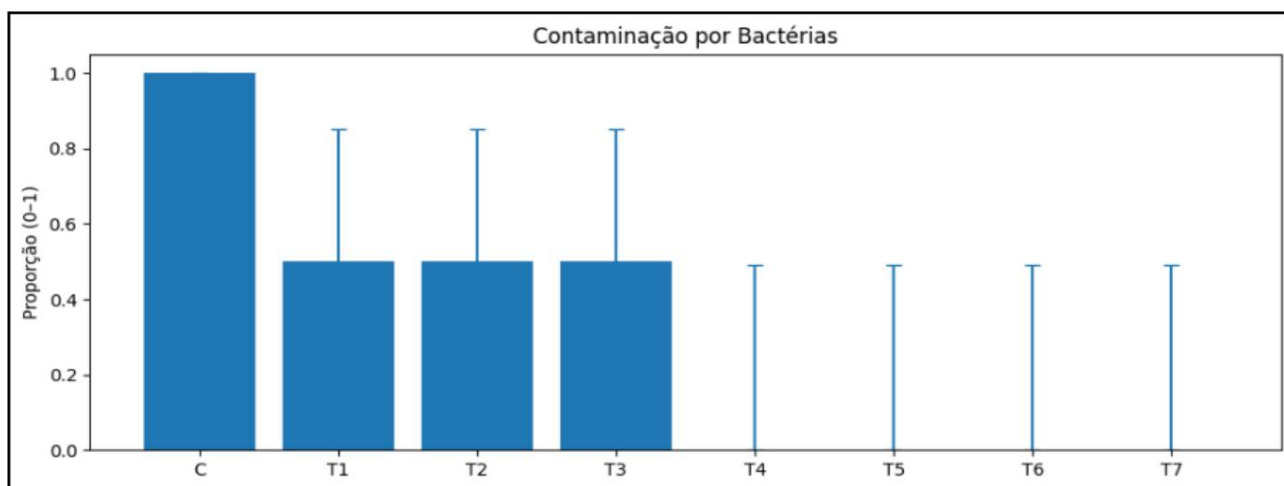


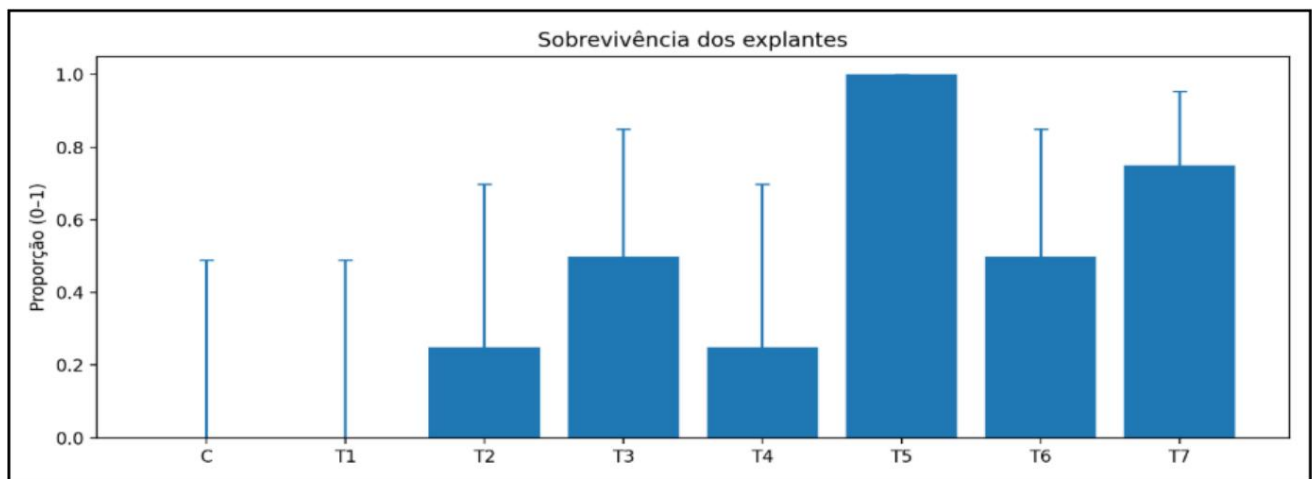
Figura 2. Proporción de contaminación bacteriana encontrada en explantes de *Coffea arabica* L. cultivados in vitro bajo diferentes tratamientos con fungicidas.



El tratamiento T5 (Azoxistrobina 1 mL L⁻¹) destacó por la ausencia total de contaminantes.

(Figuras 1 y 2) y una tasa de supervivencia del 100% (Figura 3). La efectividad de la azoxistrobina se debe a su función como inhibidor del transporte de electrones en el complejo bc1 de las mitocondrias fúngicas (SANTOS et al., 2023). Además del control sanitario, el vigor observado en los explantes puede explicarse por el fenómeno del "efecto verde" de las estrobilurinas. Según Klaic et al. (2021), estos compuestos retrasan la senescencia de las hojas reduce la síntesis de etileno y modula la actividad de enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) mitigan el daño a las membranas celulares durante la fase crítica de la adaptación in vitro.

Figura 3. Tasa de supervivencia de explantes de *Coffea arabica* L. cultivados in vitro bajo diferentes tratamientos con fungicidas.



Por el contrario, los tratamientos que contienen tebuconazol (T1, T2 y T3) y las combinaciones (T7)

Esto provocó altas tasas de oxidación y una menor supervivencia. El tebuconazol actúa inhibiendo estos procesos.

de la enzima 14 α -desmetilasa, esencial en la síntesis de ergosterol en hongos. Sin embargo, en los tejidos

En las plantas, los triazoles pueden presentar efectos secundarios fitotóxicos al interferir con la vía metabólica.

de giberelinas (NARTVARANANT et al., 2024). Esta interferencia hormonal frecuentemente conduce

debido a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que desencadenan la peroxidación lipídica.

La oxidación observada, manifestada por el oscurecimiento de los tejidos, resulta de la polimerización de

quinonas tóxicas formadas por la acción de la polifenol oxidasa sobre compuestos fenólicos liberados bajo

estrés (ALMEIDA, 2023; RODRIGUES et al., 2022).

Un aspecto relevante fue la reducción de la contaminación bacteriana en los tratamientos con fungicidas (T5).

(T7). Aunque la azoxistrobina y el tebuconazol no poseen propiedades bactericidas directas, los estudios

Los estudios indican que la supresión de la microbiota fúngica altera el microambiente químico del explante, lo que puede

para ejercer exclusión competitiva (MAMATA et al., 2022). Además, autores como Chen y

et al. (2023) sugieren que ciertos fungicidas sistémicos pueden activar vías de señalización de defensa, como

la vía del ácido salicílico, aumentando la resistencia basal del tejido contra patógenos oportunistas.

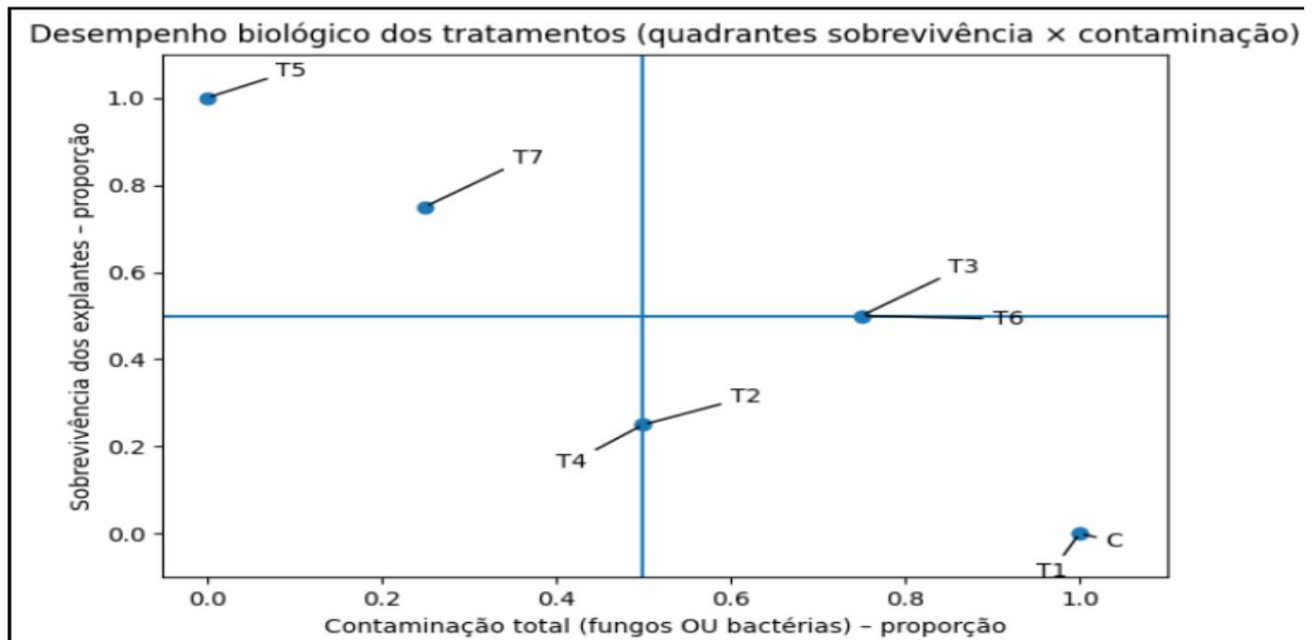
Además del análisis estadístico inferencial, se realizó un análisis exploratorio de tendencias.

biológicas (relaciones entre contaminación y supervivencia del explante), en las que las proporciones

Las observaciones revelaron un patrón de compensaciones biológicas (Figura 4).

Figura 4. Relación entre la contaminación total y la supervivencia de explantes de *Coffea arabica* L.

cultivadas in vitro bajo diferentes tratamientos con fungicidas.



El análisis de compensación (Figura 4) confirmó que la supervivencia está intrínsecamente ligada a vinculado al equilibrio entre la eficacia del control de plagas y la integridad fisiológica del tejido. Si bien El control (C) sucumbió a la competencia microbiana; los tratamientos combinados pueden haber superando el umbral de tolerancia química de la planta de café. Por lo tanto, el uso de Azoxistrobina en Las concentraciones intermedias son una estrategia superior porque equilibran la presión. fungistático con el mantenimiento del estado antioxidante de la planta (FERREIRA; SOUZA, 2024).

Mientras tanto, se recomienda aumentar el número de repeticiones experimentales. El número de repeticiones experimentales permite realizar análisis estadísticos más detallados y obtener una mayor solidez. en la comparación entre concentraciones de fungicidas, aunque no se detectó ninguna evidencia Diferencias en comparaciones por pares después de la corrección para pruebas múltiples; los resultados indican Se observa una tendencia constante a la mejora del rendimiento en ciertos tratamientos, lo que sugiere un potencial prometedor. para optimizar los protocolos de cultivo in vitro .

Consideraciones finales

Los resultados de este estudio confirman que la inclusión de fungicidas sistémicos en El proceso de establecimiento in vitro de *Coffea arabica* L. ejerce una influencia significativa en el control. de carga microbiana y viabilidad del explante. El uso de un modelo lineal generalizado Nos permitió identificar que, si bien la asepsia de superficie clásica es insuficiente para mitigar En caso de presencia de patógenos latentes, la intervención química estratégica modifica el perfil de supervivencia de los cultivos.

Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026

El tratamiento que contenía azoxistrobina a una concentración de 1 mL·L⁻¹ (T5) resultó ser el protocolo más prometedor, que muestra una ausencia total de contaminación observada y una tasa máxima supervivencia. Este desempeño sugiere que este compuesto actúa selectivamente, controlando contaminantes sin inducir los niveles críticos de oxidación tisular observados en los tratamientos con tebuconazol o en combinaciones de ingredientes activos.

Aunque el reducido número de repeticiones limitó la detección de diferencias estadísticas pareadas después de la corrección para pruebas múltiples, tendencias biológicas y el efecto general de los modelos indican que la azoxistrobina tiene el potencial de optimizar la micropropagación de las plantas de café con un historial fitosanitario comprometido. Para trabajos futuros, se recomienda ampliar el diseño experimental e investigación de los efectos residuales de estos fungicidas en el desarrollo organogénico posterior de los explantes.

Referencias

- ALMEIDA, JG. Uso de hipoclorito en la descontaminación de explantes y efecto de fitohormonas en la propagación in vitro de vainilla (*Vanilla bahiana* Hoehne). 2023. Tesis de licenciatura (Agronomía) – Pontificia Universidad Católica de Goiás, Goiânia, 2023.
- CAIXETA, E. et al. Manejo integrado de plagas y enfermedades del café Arábica. Brasília, DF: Embrapa, 2024. (Circular Técnica).
- CHEN, L. et al. Activación de las respuestas de defensa de las plantas mediante fungicidas sistémicos: un enfoque molecular. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, vol. 71, n.º 5, págs. 1102-1115, 2023.
- Empresa Nacional de Abastecimiento (CONAB). Ministerio de Desarrollo Agrario y Agricultura Familiar. Brasília: CONAB, 2025.
- Consejo Brasileño de Exportadores de Café (CECAFÉ). Informe mensual de exportaciones – enero de 2026. São Paulo: Cecafé, 2026. Disponible en: <https://www.cecafe.com.br/publicacoes/relatorio-de-exportacoes/>. Consultado el 23 de febrero de 2026.
- FERREIRA, MA; SOUZA, RT Fisiología del estrés en plantas leñosas cultivadas in vitro. *Revista Brasileña de Botánica Aplicada*, vol. 15, n.º 1, págs. 45-60, 2024.
- KLAIC, M. et al. Efectos fisiológicos de las estrobilurinas en el crecimiento y el rendimiento de las plantas: una revisión. *Ciencia Agrícola*, vol. 12, núm. 4, págs. 245-258, 2021.
- MAMATA, SG et al. Evaluación de la eficacia de fungicidas y agentes de biocontrol potenciales para el manejo eficiente de *Phoma* sp., causante de la mancha foliar del guandú. *Biological Forum – An International Journal*, India, págs. 1321-1327, 2022.
- NARTVARANANT, P. et al. Efectos de los compuestos de triazol en el crecimiento y desarrollo de las plantas en



Año VI, vol. 1 2026 | Envío: 15/03/2026 | Aceptado: 17/03/2026 | Publicación: 19/03/2026
especies leñosas. Revista de Regulación del Crecimiento Vegetal, vol. 43, págs. 112-125, 2024.

RODRIGUES, PS et al. Fenología y metabolismo oxidativo en Coffea arabica bajo estrés abiótico. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 57, e02845, 2022.

SANTOS, RL et al. Mecanismos de acción de fungicidas sistémicos en el control de patógenos endófitos. Revista Brasileña de Fitopatología, vol. 48, n.º 2, 2023.

VIEIRA, LGE; KOBAYASHI, AK. Micropropagación de plantas de café. En: SIMPOSIO SOBRE INVESTIGACIONES DEL CAFÉ EN BRASIL, Poços de Caldas, MG. Conferencias. Brasília: Embrapa Café, 2002. p. 147-167.